

MEMOIRE
DU DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES
DE PHARMACIE HOSPITALIERE ET COLLECTIVITES

Soutenu devant le jury interrégional

Le 29 octobre 2008

Par Anne-Laure Schmid-Deniau

Conformément aux dispositions de l'arrêté

Du 6 mai 1987 tient lieu de :

THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

SITUATION DU LENALIDOMIDE DANS LA CLASSE DES ANTIANGIOGENIQUES ANTITUMORAUX
--

Président :

M. Jean-Yves PETIT, Professeur de Pharmacologie – Nantes

Membres du jury :

Mme Gwenola BURGOT, Praticien Hospitalier, Professeur de pharmacie analytique - Rennes

M. Jaques-Philippe MOULINOX, Praticien Hospitalier, Professeur de biologie cellulaire - Rennes

M. Alain B. LEGRAND, Professeur de pharmacologie- Rennes

M. Loïc JAVAUDIN, Praticien Hospitalier – Pharmacien - Rennes

ABBREVIATIONS

TAF : tumor angiogenesis factor (Facteur d'angiogenèse tumorale)

bFGF : basic fibroblast growth factor

VEGF: vascular endothelial growth factor

SMC : smooth muscle cell (cellule de musculaire lisse)

HIF :hypoxia-inducible factors (Facteur induits par l'hypoxie)

SCLC : Cancer du poumon à petites cellules

NSCLC :Cancer du poumon non à petites cellules

MMP : matrix metalloprotéinase

MM : myélome multiple

NHL: Lymphome Non Hodgkinnien

GIST : tumeur du stroma gastro-intestinal

EPC: endothelial progenitor cell

TNF- α : Tumor necrosis factor

FGF: fibroblast growth factor

CH : cellules hématopoïétiques

IMiDs: Immunomodulateurs

ATC : Anatomic and Therapeutic classification

NO: Monoxyde d'azote

FDA: Food and Drug administration

EMA: European Medicines Agency

HAS: Haute Autorité de Santé

TNF- α : Tumor Necrosis Factor

IFM : intergroupe français du myélome

SOMMAIRE

<i>Chapitre I : Introduction à L'angiogenèse</i>	5
1-LA FORMATION DES VAISSEAUX ET LEUR DEVELOPPEMENT	5
2- L'ANGIOGENESE PHYSIOLOGIQUE DANS UN ORGANISME ADULTE :	8
3- HISTORIQUE DE L'ANGIOGENESE ET DE L'ANGIOGENESE TUMORALE	9
4- L'ANGIOGENESE PATHOLOGIQUE ET LES PATHOLOGIES DEPENDANTES DE L'ANGIOGENESE	13
<i>Chapitre II : L'angiogénèse tumorale</i>	17
1- BREF HISTORIQUE DE L'ANGIOGENESE TUMORALE	18
2- LES ETAPES DE L'ANGIOGENESE TUMORALE	19
3- CARACTÉRISTIQUES DES VAISSEAUX TUMORAUX	25
4-INDUCTEURS ET INHIBITEURS DE L'ANGIOGENESE TUMORALE	26
<i>Chapitre III : Le Lénalidomide (Revlimid®)</i>	33
1-PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES ET PHARMACEUTIQUES :	33
2- PHARMACOLOGIE DU LENALIDOMIDE	34
3-INDICATIONS DU LENALIDOMIDE	38
4-PRESCRIPTION ET DELIVRANCE DU LENALIDOMIDE	38
5-EFFETS INDESIRABLES ET TOLERANCE	39
<i>Chapitre IV - Essais Cliniques</i>	41
1- LE MYELOME MULTIPLE	41
2- DANS LE SYNDROME MYELODYSPLASIQUE	48
3- DANS LA LEUCEMIE LYMPHOCYTAIRE CHRONIQUE	49
<i>Chapitre V : Situation du Lénalidomide parmi les antiangiogéniques antitumoraux</i>	53
1-EFFICACITE DES ANTIANGIOGENIQUES ANTITUMORAUX, INDICATIONS ET RECOMMANDATIONS	54
2- PLACE DU LENALIDOMIDE PARMI LES AUTRES ANTIANGIOGENIQUES EN HEMATOLOGIE	55
3-EFFETS INDESIRABLES ET TOLERANCE DES MOLECULES ANTIANGIOGENIQUES	62
4- OPTIMISATION DE LA THERAPIE ANTIANGIOGENIQUE ET PERSPECTIVES THERAPEUTIQUES	66
<i>Conclusion Générale</i>	70

Chapitre I :

Introduction à L'angiogenèse

Chapitre I : Introduction à L'angiogenèse

Définitions

L'angiogenèse (ou néovascularisation) est la formation de nouveaux capillaires sanguins à partir de vaisseaux sanguins préexistants sous la régulation de facteurs de croissances angiogéniques et d'inhibiteurs de l'angiogenèse (Carmeliet, 2003).

1-La formation des vaisseaux et leur développement

Il existe au moins 3 mécanismes distincts dans la croissance des vaisseaux sanguins :

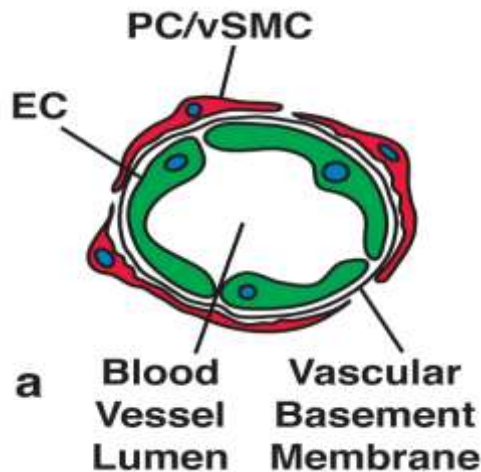
- la vasculogénèse, qui se réfère à la formation de nouveaux vaisseaux sanguins par différenciation de précurseurs des cellules endothéliales venant de différentes régions chez l'embryon ou de la moelle osseuse chez l'adulte
- L'angiogenèse, qui se réfère au développement de ces vaisseaux
- l'artériogénèse, qui correspond à la phase de stabilisation de ces néovaisseaux par des cellules dites murales (Carmeliet, 2005).

a) La vasculogénèse

Au cours du développement embryonnaire, dans la troisième semaine de l'embryogenèse, les précurseurs des cellules endothéliales (hémangioblastes) commencent à proliférer, à migrer vers des zones avasculaires puis à s'aggréger pour former un réseau primitif. Cette formation *de novo* d'un plexus vasculaire primaire est appelé vasculogénèse. Pendant que le plexus vasculaire émerge des modifications se produisent. Des vaisseaux fusionnent pour former des vaisseaux plus larges ou se divisent pour former des vaisseaux plus petits. Ces changements remodelent le plexus vasculaire primitif en un réseau secondaire plus complexe et différencié. Ce réseau vasculaire est ensuite étendu à partir des vaisseaux existants grâce au processus d'angiogenèse (Carmeliet, 2005). La vasculogénèse peut se produire chez l'adulte avec des cellules souches endothéliales venant de la moelle osseuse.

b) L'angiogenèse et le développement des vaisseaux

Les capillaires bourgeonnent à partir de ce réseau primitif différencié (Risau, 1997; Carmeliet & Jain, 2000). Les capillaires ou petits vaisseaux sont formés de cellules endothéliales, tandis que les vaisseaux plus larges sont entourés de cellules dites murales formant une paroi. Les cellules endothéliales de vaisseaux de taille moyenne sont entourées de péricytes et les vaisseaux de plus grande taille sont entourés de cellules musculaires lisses (figure 1).

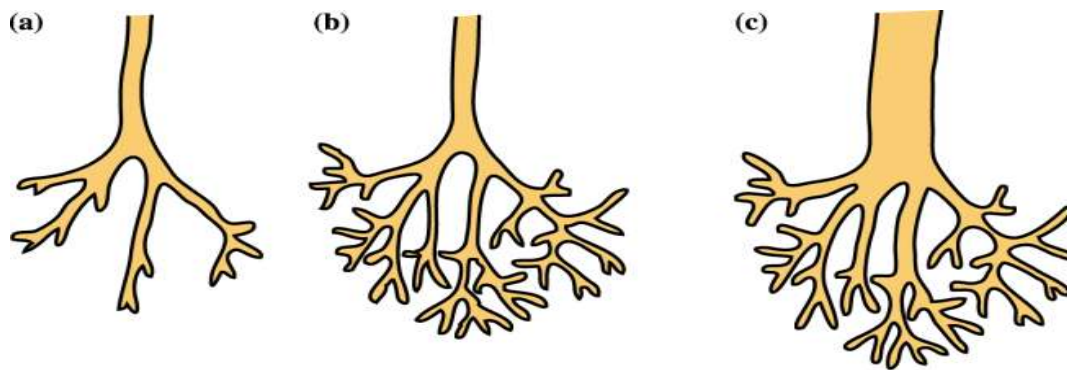


(Bergers *et al.*, 1999)

Figure 1 : structure des vaisseaux sanguins. EC : cellules endothéliales, PC : péricytes, vSMS : (vascular smooth muscular cell) cellule musculaire lisse qui existe dans les gros vaisseaux.

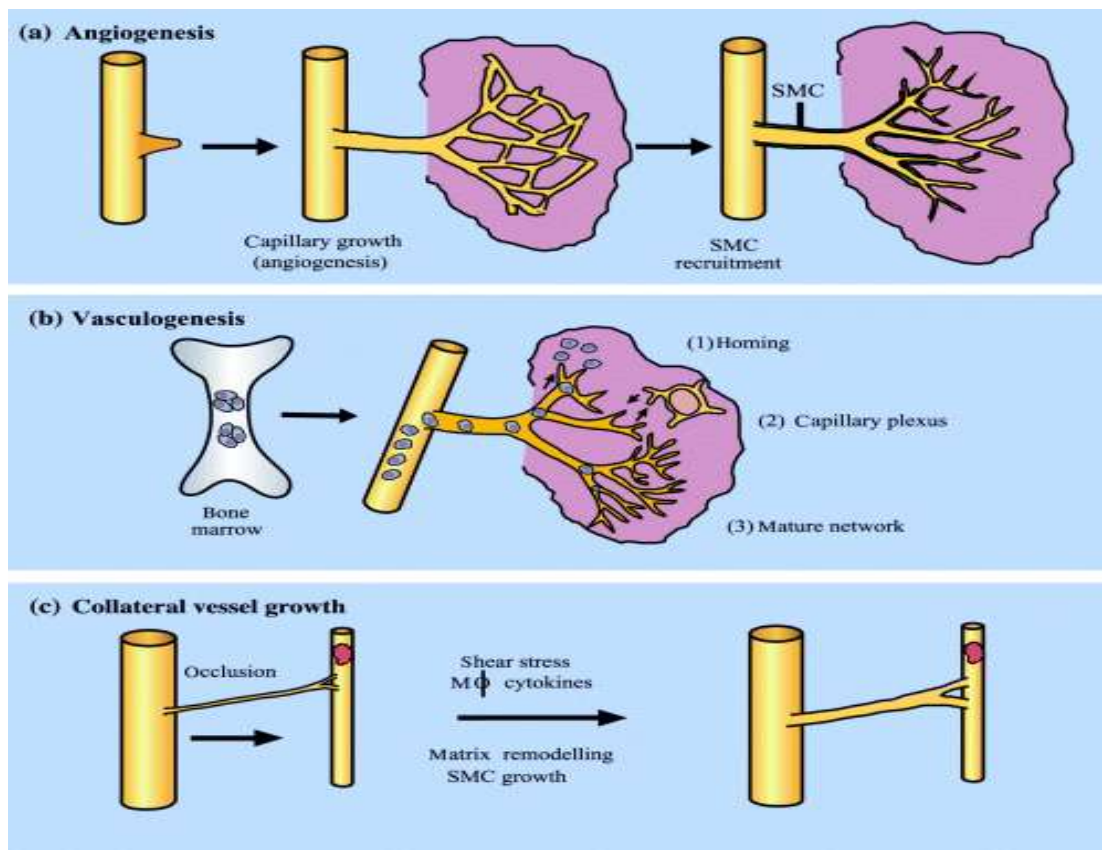
c) L'artériogénèse et la stabilisation des vaisseaux

L'artériogénèse consiste en la stabilisation des vaisseaux par des cellules murales, qui sont les péricytes ou les cellules musculaires lisses. Sur une coupe transversale de l'extérieur vers l'intérieur du vaisseau on trouve : les cellules dites murales, la membrane basale, les cellules endothéliales et la lumière du vaisseau. L'angiogenèse et l'artériogénèse conduisent ainsi au développement puis à la stabilisation des vaisseaux par des cellules qui forment une paroi. L'augmentation du nombre de collatérales entre les réseaux artériels est un marqueur de développement vasculaire et de remodelage des vaisseaux préexistants. Il en résulte une augmentation de la perfusion tissulaire. Ainsi après leur développement, les vaisseaux proximaux et leurs collatérales se dilatent, tandis que les vaisseaux distaux plus petits, doivent s'étendre pour distribuer le flux sanguin aux cellules du tissu perfusé (figure 2) (Carmeliet, 2004). La figure 3 illustre ces étapes.



(Carmeliet, 2004)

Figure 2 : Mécanisme de la vascularisation pour augmenter la perfusion tissulaire. (a) : Le vaisseau avant son développement. (b) Pour augmenter la perfusion tissulaire et cellulaire aux cellules du tissu perfusé, les petits vaisseaux distaux doivent se développer pour augmenter l'apport du flux sanguin aux cellules du tissu perfusé. C'est le processus d'angiogenèse. (c) Les vaisseaux proximaux comme les collatérales s'élargissent pour augmenter le flux sanguin arrivant au tissu perfusé.



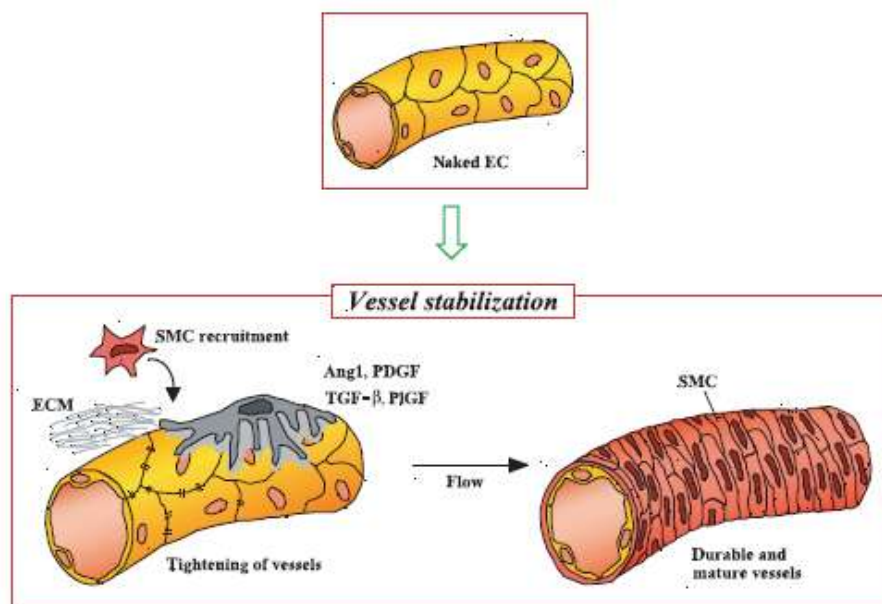
(Carmeliet, 2004)

Figure 3: Vasculogénèse, angiogenèse et artériogénèse. Formation du réseau vasculaire : (a) : l'angiogenèse : formation de néo-vaisseaux pour augmenter la perfusion tissulaire puis consolidation des vaisseaux en recrutant des cellules dites murales comme des péricytes ou des cellules de muscle lisse pour les plus gros vaisseaux. (b) vasculogénèse : les précurseurs des cellules endothéliales venant de la moelle osseuse s'assemblent pour créer un plexus vasculaire primitif au sein du tissu à perfuser. Le plexus vasculaire se différencie en artères et veines puis se stabilise. (c) : Extension des collatérales : lors de l'occlusion d'un vaisseau par un thrombus celui ci émet un signal de stress ce qui provoque l'émission de facteurs de croissance angiogéniques.

Ces vaisseaux nouvellement formés peuvent rester fonctionnels pendant quelques années mais dès la réception d'un signal angiogénique ils sont capables d'émettre des bourgeonnements d'une façon coordonnée et directionnelle. Ceci est possible grâce à la communication intercellulaire à l'intérieur comme à l'extérieur de la lumière du vaisseau.

2- L'angiogenèse physiologique dans un organisme adulte :

Dans un organisme en croissance, l'angiogenèse est un élément essentiel pour la formation de nouveaux tissus. Chez l'adulte on rencontre une angiogenèse physiologique pour réparer une plaie, chez la femme lors des cycles menstruels de reproduction et durant la grossesse (régénération de l'utérus, formation du corps jaune ou du placenta). En dehors de ces exceptions, la plupart des tissus ne présentent pas ou peu d'angiogenèse. L'angiogenèse est finement régulée par des facteurs endogènes pro et anti angiogéniques qui chez un adulte sain s'équilibrent. Lorsque la balance entre ces facteurs est déséquilibrée dans le sens pro-angiogénique, les cellules endothéliales acquièrent (« switch ») le phénotype angiogénique, prolifèrent, migrent et s'assemblent entre elles pour former des tubes vasculaires. Leur maturation en vaisseau nécessite un mélange de facteurs angiogéniques et artériogéniques pendant une durée suffisante. Lorsque la balance est déséquilibrée en faveur d'une inhibition de l'angiogénèse, sous l'influence d'inhibiteurs les vaisseaux naissants ou canaux formés par des cellules endothéliales deviennent fragiles, se rompent facilement et saignent. Ces conditions tendent à réduire le flux sanguin ce qui les fragilise et favorise leur régression (figure 4).



(Carmeliet, 2003)

Figure 4: Maturation des vaisseaux et stabilisation. Les vaisseaux naissants forment des tubules avec une lumière. Ils se stabilisent ensuite en recrutant des cellules musculaires lisses et des péricytes : c'est le processus d'artériogénèse. Le flux sanguin permet le maintien de ces nouveaux vaisseaux.

3- Historique de l'angiogénèse et de l'angiogénèse tumorale

Le terme d'angiogénèse a été employé la première fois au 18^{ème} siècle pour décrire la croissance de vaisseaux sanguins dans le bois du rennes (<http://www.cancer.gov>). Des chercheurs, Algire et Chalkley publient des travaux en 1945 sur les réactions vasculaires différentes entre des tissus normaux et des tissus cancéreux (Algire *et al.*, 1945). Dans la fin des années 60, des chercheurs constatent une augmentation des apports sanguins vers la tumeur. Le terme d'angiogénèse tumorale est employé pour la première fois en 1968 par Greenblatt et Shubi (Greenblatt & Shubi, 1968). L'angiogénèse reste néanmoins très peu étudiée jusqu'en 1971. C'est à partir de cette date que l'histoire de l'angiogénèse commence réellement. En effet un chercheur et médecin, le Docteur Judah Folkman travaillant sur le cancer émet une hypothèse publiée dans le « New England Journal of Medicine » : la croissance tumorale est angiogénèse-dépendante et une thérapie antiangiogénique peut être utilisée pour traiter un cancer (Folkman, 1971). Les points fondamentaux des hypothèses visionnaires de Judah Folkman peuvent être résumés dans les 4 points suivants :

- 1) La plupart des tumeurs solides primaires sont initialement avasculaires pendant un temps assez long qui s'apparente à un état dormant et leur croissance ne peut excéder 1-2 mm de diamètre. Jusqu'à cette taille, les cellules tumorales obtiennent l'oxygène nécessaire et les nutriments, par diffusion simple.
- 2) Ces masses tumorales microscopiques peuvent entraîner les cellules endothéliales vers le « switch » angiogénique en recrutant des vaisseaux sanguins voisins pour développer de nouveaux capillaires sanguins qui s'étendent vers la tumeur et infiltrent éventuellement la masse tumorale, ce qui permet alors l'expansion de la masse tumorale et la dissémination des métastases.
- 3) Le « switch » angiogénique est déclenché par un facteur d'angiogénèse tumoral : le TAF (tumor angiogenesis factor).
- 4) Il devrait être possible de s'attaquer à la tumeur en inhibant l'angiogénèse tumorale, car l'angiogénèse et la croissance tumorale sont liées (Kerbel, 2000).

Cette dernière hypothèse va soulever le scepticisme et la critique de nombreux chercheurs. Le Docteur Judah Folkman va alors continuer ses recherches pour tester son hypothèse et en 1975 un premier inhibiteur de l'angiogénèse est découvert. A partir de ce moment d'autres équipes de recherche étudient l'angiogénèse. Dans le milieu des années 1980 le Dr Folkman disait : "we began to convert our critics into competitors" : Nous commençons à convertir nos critiques en concurrents. C'est 21 ans après l'hypothèse du Dr Folkman que le premier antiangiogénique antitumoral fait l'objet d'un essai clinique. La Saga de l'angiogénèse a commencé pour ne plus s'arrêter.



(Folkman, 2007)

Figure 5: Le docteur Judah Folkman en 2003. Il exerçait à l'hôpital des enfants de Boston et au laboratoire de chirurgie et de biologie vasculaire à l'école de médecine de Harvard. Il est décédé le 14 janvier 2008.

Pour illustrer l'histoire de l'angiogénèse voici son déroulement chronologique à travers des dates marquantes :

Dates marquantes de l'histoire de l'angiogénèse (The Angiogenesis Foundation, 2008):

1787 – Un chirurgien Britannique Dr. John Hunter le premier utilise le premier le terme « angiogenesis » pour décrire la croissance de vaisseaux sanguins dans le bois du renne.

1935 – Un pathologiste de Boston, le Dr. Arthur Tremain Hertig décrit l'angiogénèse dans le placenta de singes femelles gestantes.

1971 – Le Dr. Judah Folkman a posé l'hypothèse que la croissance tumorale est dépendante de l'angiogénèse. Cette théorie est publiée dans le New England Journal of Medicine et a été alors considéré comme une hérésie par les médecins et les scientifiques.

1975 – Le premier inhibiteur de l'angiogénèse est découvert dans le cartilage par les docteurs Henry Brem et Dr. Judah Folkman.

1984 – Le premier facteur angiogénique (basic fibroblast growth factor, bFGF) est purifié (par Yuen Shing et Michael Klagsbrun à l'école médicale d'Harvard).

1989 – Un des plus importants facteurs angiogéniques, le facteur de croissance vasculaire endothélial ou vascular endothelial growth factor (VEGF), est découvert. Il est identique à une molécule appelée facteur de perméabilité vasculaire (Vascular Permeability Factor, VPF) découvert en 1983.

1989 – Premier traitement réussi d'une tumeur bénigne angiogénèse-dépendante (hémangiome pulmonaire) en utilisant de l'interféron alfa2a par une pédiatre radiologue de Denver.

1992 – Premier essai clinique d'un médicament antiangiogénique (TNP-470) chez des patients atteints de cancer.

1994 – La fondation « Angiogenèse » améliore les efforts en facilitant le développement et l'application des thérapeutiques basées sur l'angiogenèse.

1997 – Le premier médicament stimulant l'angiogenèse (Becaplermin, Regranex®) est approuvé par la FDA (Federal Drug administration) pour le traitement des ulcères des pieds des diabétiques.

1997 – Le Dr. Michael O'Reilly publie dans le journal « Nature » ses recherches montrant une régression complète d'une tumeur cancéreuse après des cycles répétés d'une thérapie utilisant 2 inhibiteurs de l'angiogenèse : l'Angiostatine et l'Endostatine.

1999 – Vague massive de médicaments angiogéniques et antiangiogéniques en essai cliniques :

- 46 molécules antiangiogéniques pour le traitement du cancer ; 5 molécules pour traiter la dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA) ; 1 molécule pour traiter la rétinopathie diabétique ; 4 molécules pour traiter le psoriasis. 5 pour traiter les artères coronaires pathologiques
- 16 molécules stimulant l'angiogenèse

1999 – Le laboratoire de recherche dirigé par le Dr J Folkman et le Dr R Kerbel montrent que des chimiothérapies cytotoxiques traditionnelles inhibent l'angiogenèse tumorale lorsqu'elles sont administrées à faible dose.

2003 – L'anticorps monoclonal anti-VEGF Avastin® (Bevacizumab) devient le premier médicament antiangiogénique ayant montré lors des essais cliniques de phase III une régression de l'angiogenèse tumorale et un gain de survie des patients.

2004 – Un essai de phase III publiée dans le New England Journal of Medicine (NEJM) montre que l'addition du Bevacizumab (Avastin®), à la chimiothérapie améliore significativement la survie des patients ayant un cancer colorectal métastatique. Il est approuvé par la FDA dans le cancer colorectal avancé. Le Pegaptanib (Macugen®), un anti-VEGF devient le premier médicament antiangiogénique approuvé par la FDA dans le traitement de la dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA). Lorsque l'angiogenèse est importante le patient émet dans ses urines des quantités importantes de bFGF. L'Erlotinib (Tarceva®), une molécule inhibitrice du récepteur tyrosine-kinase EGFR (endothelial growth factor receptor), a reçu l'approbation de la FDA pour le traitement du cancer du poumon non à petite cellule.

2005– L'Endostatine (Endostar®), une molécule antimétastatique et antiangiogénique qui diminue les facteurs de croissance pro-angiogéniques est approuvé en Chine pour le traitement du cancer du

poumon à un stade avancé. Le Sorafenib (Nexavar®), un inhibiteur des tyrosines kinases approuvé par la FDA pour le traitement en 2^{ème} ligne du cancer avancé du rein. Le Lénalidomide (Revlimid®), une molécule à la fois immunomodulatrice et antiangiogénique est approuvée par la FDA pour le traitement du syndrome myélodysplasique.

2006 – Sunitinib (Sutent®), un inhibiteur des tyrosine-kinases a reçu l’approbation de la FDA pour le traitement en 1^{ère} ligne du cancer du rein avancé et de la tumeur du stroma gastro-intestinale (GIST). Le Ranibizumab (Lucentis®), un fragment de l’anticorps Bevacizumab est approuvé par la FDA pour le traitement de la DMLA. Le Bevacizumab associé au Paclitaxel et au Carboplatin a augmenté la survie et les taux de réponse aux traitements de patients naïfs ayant un cancer du poumon non à petites cellules à un stade avancé.

2007 – Un essai randomisé de phase III montre que le Sunitinib double la survie de patients précédemment non traités ayant un cancer rénal métastasé. Une autre étude de phase III démontre que le Sorafenib augmente la survie de 44% versus (vs.) placebo chez des patients ayant un cancer avancé du foie. La FDA approuve peu de temps après le Sorafenib dans le traitement du carcinome hépatocellulaire avancé non opérable. Le Sorafenib est le premier agent systémique à démontrer une efficacité dans le cancer avancé du foie.

2008 – Le pionnier de l’angiogénèse, le Dr. Judah Folkman meurt subitement le 14 Janvier pendant un voyage le menant à une conférence. Aujourd’hui on estime à 1,2 millions le nombre de patients qui bénéficient de la thérapie antiangiogénique. Le Dr. Folkman est aujourd’hui très largement reconnu comme une de plus importantes figures de la médecine moderne. Le Bevacizumab (Avastin®) devient le premier agent antiangiogénique approuvé pour traiter le cancer du sein. En effet les résultats d’un essai de phase III montrent que le Bevacizumab associé au Paclitaxel double la survie moyenne vs Paclitaxel seul chez les femmes ayant un cancer du sein récurrent ou métastatique. Actuellement de nombreux antiangiogéniques anti tumoraux sont au stade de développement clinique et préclinique.

4- L'angiogénèse pathologique et les pathologies dépendantes de l'angiogénèse

a) Une angiogénèse excessive:

Elle se produit lorsque la balance est déséquilibrée dans le sens pro-angiogénique. Une angiogénèse persistante et activée est souvent retrouvée comme facteur à l'origine d'une pathologie. L'angiogénèse existe dans l'inflammation, la cicatrisation, les rétinopathies diabétiques, la dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA), l'arthrite rhumatoïde, l'athérosclérose ou le psoriasis (Folkman & Shing, 1992). L'angiogénèse existe dans de nombreux cancers solides et permet la croissance de la tumeur ainsi que sa dissémination métastatique. Elle existe aussi dans des cancers du sang comme les leucémies ou les myélomes (Folkman, 2007). Dans ce cas l'angiogénèse est appelée angiogénèse tumorale. Les vaisseaux sanguins nouvellement formés nourrissent les tissus malades, détruisent les tissus normaux. Dans le cas du cancer, les nouveaux vaisseaux sanguins permettent aux cellules tumorales de se nourrir, de s'échapper dans la circulation sanguine pour se disséminer et atteindre les organes cibles (métastases tumorales) (Dor *et al.*, 2001). L'angiogénèse est un dénominateur commun partagé par de nombreuses maladies pouvant toucher tous les organes (tableau 1).

Récapitulatif des maladies ayant une composante angiogéniques

Organes	pathologies
Organes divers	Cancer Activation d'oncogènes, perte des suppresseurs de tumeurs
	Maladies infectieuses (expression par des pathogène de gènes angiogéniques, induisant un programme angiogénique ou transformant les cellules endothéliales)
	Maladies auto-immunes, activation de mastocytes et d'autres leucocytes
Peau	psoriasis, granulome pyogénique, rosacée, verrue, dermatite allergique, sarcome de Kaposi (patients atteints du VIH)...
Intestin	Ascites, adhésions péritonéales
Système reproducteur	endométriose pré-éclampsie, fausse -couches récurrentes
Os, articulation	Arthrite, synovite, ostéomyélite
oeil	Dégénérescence maculaire liée à l'âge, rétinopathie diabétique, cécité
Pédiatrie	: hémangiome, rétinopathie des prématurés
Os, articulation	Arthrite, synovite, ostéomyélite, formation d'ostéophytes
Poumon	Hypertension pulmonaire primaire
Tissu adipeux	Obésité (angiogénèse induit par les graisses, perte de poids par les inhibiteurs de l'angiogénèse)

Tableau 1: Pathologies ayant une composante angiogénique (Carmeliet, 2003)

b) Une angiogénèse insuffisante:

Elle est à l'origine associée à la pathogénèse de maladies comme l'athérosclérose, l'hypoxie cardiaque post-infarctus, la cicatrisation longue et difficile des plaies. Dans ces conditions, une croissance inadéquate des vaisseaux sanguins entraîne une circulation sanguine qui n'est pas correctement restaurée ce qui aboutit au risque de mort tissulaire. L'angiogénèse thérapeutique a pour objectif de stimuler la croissance de nouveaux vaisseaux sanguins avec des facteurs de croissance développés pour traiter ces conditions (tableau 2).

Récapitulatif des maladies caractérisées par une angiogénèse insuffisante

Organes	pathologies
système nerveux	-Maladie d'Alzheimer (vasoconstriction, dégénérescence micro vasculaire et angiopathie cérébrale due à la toxicité endothéliale de la protéine β amyloïde) -sclérose latérale amyotrophique et neuropathie diabétique (insuffisance de production du VEGF causant une perfusion insuffisante) -accident vasculaire cérébral (due à une artériopathie)
vaisseaux sanguins	-athérosclérose (développement insuffisant des vaisseaux collatéraux) -hypertension (raréfaction des microvaisseaux par une angiogénèse diminuée) -diabète (défaut de croissance des collatérales et angiogénèse insuffisante mais néovascularisation secondaire augmentée au niveau de la rétine) -resténose (ré-endothélialisation défectueuse après une blessure artérielle)
Tractus gastro-intestinale	-Maladie de Crohn (ischémie de la muqueuse) -ulcération orale ou gastrique
peau	-perte de cheveux -purpura, télangiectasie
système reproducteur	Pré-éclampsie (dysfonction des cellules endothéliales provoquant une thrombose, une hypertension causée par la déprivation en VEGF par son récepteur soluble Flt-1) Ménorragie (saignement utérin due à la fragilité des SMC causée par une production insuffisante d'Ang-1)
poumon	-Déresse respiratoire néonatale -fibrose pulmonaire (apoptose des cellules endothéliales alvéolaires) -emphysème (apoptose des cellules endothéliales alvéolaires)
rein	-néphropathie (anomalie de production de TSP-1)
os	-ostéoporose -réparation défectueuse de fracture

Tableau 2: pathologies dues à une angiogénèse insuffisantes (Carmeliet, 2003)

Ces deux tableaux ne constituent pas une liste exhaustive mais illustrent l'importance d'une angiogénèse équilibrée et les répercussions d'un déséquilibre de la balance entre les inhibiteurs et les activateurs de l'angiogénèse. Historiquement l'angiogénèse était réputée être seulement dans le psoriasis, le cancer, l'arthrite. Récemment, il a été démontré que l'angiogénèse anormale, insuffisante ou excessive contribue à la pathogénie de nombreuses maladies (Carmeliet, 2004).

Chapitre II :

L'angiogénèse tumorale

Chapitre II : L'angiogénèse tumorale

Définition

L'angiogénèse tumorale désigne la capacité des cellules tumorales à stimuler l'apparition et le développement de vaisseaux sanguins et à les attirer pour favoriser leur croissance. C'est un processus complexe qui fait intervenir deux types tissulaires : la tumeur et le réseau vasculaire qui interagissent pour aboutir à la formation de néovaisseaux. Le processus est initié par les cellules tumorales. Les cellules endothéliales sont les principaux acteurs du mécanisme, les péricytes ou la matrice extracellulaire (MEC) jouent également un rôle non négligeable (Carmeliet & Jain, 2000).

Interactions entre l'angiogénèse tumorale et la tumeur

La croissance des tumeurs solides est contrôlée à la fois par des mécanismes strictement intra tumoraux et par des interactions entre la tumeur et le tissu environnant. Dans la phase pré-invasive de la tumeur (ou phase de latence), les vaisseaux sanguins sont peu nombreux autour de la tumeur. En revanche lorsque la tumeur est invasive et métastasiante, on constate la présence de nombreux vaisseaux qui irriguent la tumeur et l'angiogénèse est massive. En effet l'angiogénèse est essentielle pour la croissance de la plupart des tumeurs primaires. Les tumeurs peuvent recevoir suffisamment de nutriments et d'oxygène par simple diffusion jusqu'à une taille de 1 à 2 mm, à partir de laquelle une croissance plus importante nécessite l'élaboration d'un réseau vasculaire nourricier. Ce processus implique une angiogénèse à partir des vaisseaux les plus proches dirigée vers la tumeur dans le but de l'infiltrer (Kerbel, 2000). Comme dans l'angiogénèse physiologique, l'angiogénèse tumorale est régulée par des facteurs de croissance présents dans le microenvironnement comme le VEGF très spécifique des cellules endothéliales, le bFGF, les MMPs qui ont un spectre d'action plus large. Les facteurs pro-angiogéniques sont produits par la tumeur, par le tissu dans laquelle la tumeur est présente ou par des macrophages et des fibroblastes (Rosen, 2005). La majorité des facteurs angiogéniques exercent leur action par les récepteurs présents à la surface des cellules endothéliales pour lesquels ils servent de ligands, avec pour conséquence la sécrétion de facteurs angiogéniques supplémentaires. L'hypoxie, l'hypoglycémie et le stress mécanique sont des stimuli à l'apparition de l'angiogénèse.

1- Bref historique de l'angiogénèse tumorale

Au siècle dernier, Golgi et Virchow avaient déjà évoqué une participation du stroma tumoral au développement des cancers. En 1971, Le Docteur Judah Folkman a émis l'hypothèse que la croissance tumorale était dépendante de la néovascularisation et que le passage de la phase latente à la phase agressive était contrôlé directement par la néovascularisation tumorale grâce à des substances diffusibles provenant de la tumeur (Folkman, 1971). Ce passage a été dénommé « *switch* » angiogénique. Cette conclusion était basée sur des expériences sur organe isolé dans lesquels il a été montré que la croissance tumorale était sévèrement diminuée en absence de vascularisation. Ce concept n'était pas accepté par la communauté scientifique à cette époque car on pensait que la présence des vaisseaux était seulement liée à l'inflammation (Kerbel, 2000; Bikfalvi, 2005). La possibilité d'isoler et de cultiver des cellules endothéliales a permis la mise en évidence de la production par les cellules cancéreuses de facteurs diffusibles capables de stimuler la croissance, la migration et la différenciation des cellules endothéliales. Cela a contribué à mettre le concept de l'angiogénèse tumorale sur des bases expérimentales solides. Le premier facteur portant l'activité d'angiogénèse tumoral fut appelé TAF (tumor angiogenesis factor). Le premier TAF identifié dans des extraits cellulaires fut le facteur de croissance des fibroblastes (FGF) déjà connu pour ses propriétés angiogéniques. Par la suite le FGF fut retrouvé au sein de tissus tumoraux et ses facultés à stimuler l'angiogénèse *in vitro* et *in vivo* ont été confirmées (Kerbel, 2000). Enfin un autre facteur angiogénique endogène majeur, le VEGF (vascular endothelial growth factor) a été découvert. Depuis, le monde scientifique s'est passionné pour l'angiogénèse dans l'espoir de découvrir de nouvelles molécules prometteuses dans le traitement du cancer (figure 6).

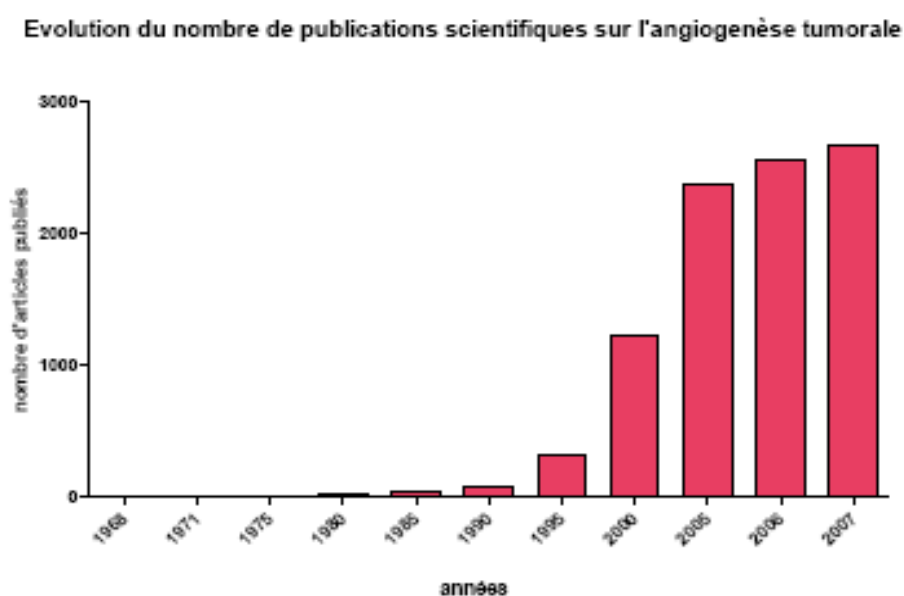


Figure 6: Publications comportant le terme « tumor angiogenesis » dans le titre de 1967 à décembre 2007

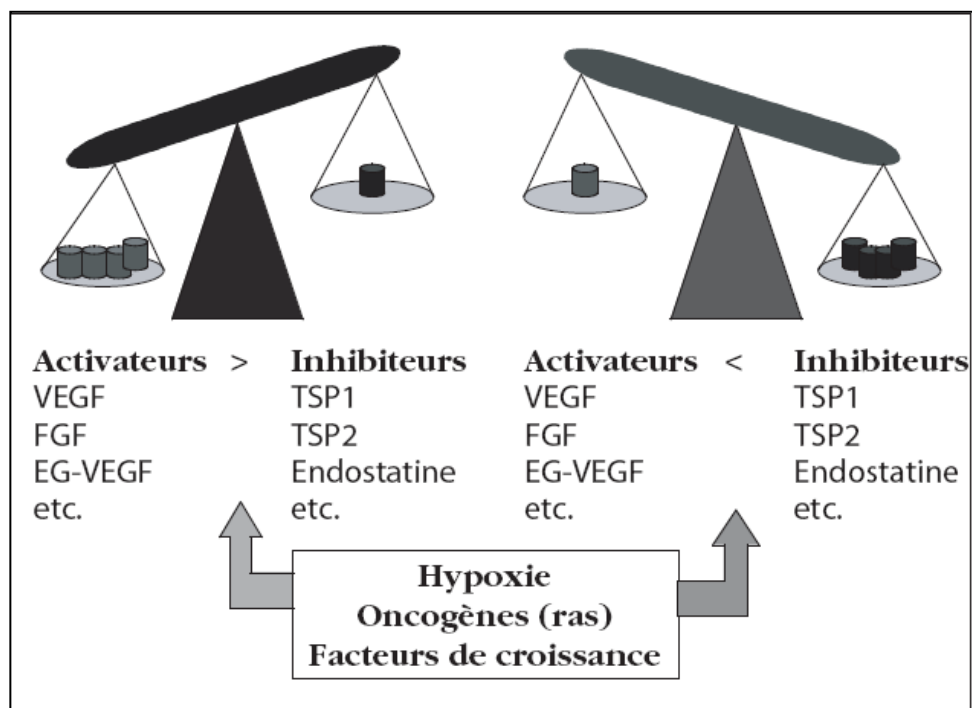
2- Les étapes de l'angiogenèse tumorale

Les étapes qui conduisent une tumeur dormante en tumeur agressive consistent en une série d'évènements ordonnés dont l'étape clef est le « switch » angiogénique des cellules endothéliales des vaisseaux proches de la tumeur.

1) Initiation de l'angiogenèse tumorale et mécanismes intervenant dans le « switch » angiogénique

L'expansion macroscopique des tissus, aussi bien normaux que néoplasiques, nécessite de façon concomitante la croissance, l'infiltration et l'élaboration d'un réseau de support vasculaire pour maintenir l'oxygénation et fournir les nutriments. La clef pour comprendre l'angiogenèse tumorale est d'identifier les mécanismes (Shchors K. Evan G , 2007). Cette étape d'initiation au « switch » angiogénique fait intervenir une balance entre des facteurs pro- et antiangiogéniques (figure 7) (Hagedorn & Bikfalvi, 2000). Un nouveau concept d'angiogenèse tumorale a vu le jour récemment : la néovascularisation des tumeurs par vasculogénèse. En effet des précurseurs des cellules endothéliales circulantes provenant de la moelle osseuse peuvent contribuer significativement (cela est fonction de la tumeur) à la néovascularisation tumorale (Lyden *et al.*, 2001). Mais les étapes moléculaires régies par les régulateurs de l'angiogenèse conduisant au « switch » ne sont pas encore clairement élucidées. On sait cependant que le « switch » est favorisé par le facteur de croissance vasculaire endothelial (vascular endothelial growth factor, VEGF), la métalloprotéase MMP9 (ou matrix métalloprotéinase, MMP) qui permet la translocation du VEGF des cellules tumorales vers l'endothélium. Cette translocation semble être un événement essentiel pour le « switch » angiogénique (Bergers *et al.*, 1999). La conversion du pro-MMP9 en MMP9 est réalisée par la métalloprotéase MMP3. L'activation oncogénique a un rôle dans ce « switch » qui a été démontré avec l'oncogène ras (Rak & Kerbel, 2001). Ainsi, la croissance des tumeurs solides est contrôlée à la fois par des mécanismes strictement intra tumoraux et par des interactions entre la tumeur et le tissu environnant. Dans la phase pré invasive de la tumeur (latence), très peu de néovaisseaux peuvent être décelés. En revanche, l'angiogenèse est massive lors de la phase invasive et métastasiante (Ferrara, 1999) . L'hypoxie est un facteur essentiel de régulation du switch angiogénique. Elle déclenche une grande variété de réponses d'adaptation qui sont coordonnées par la transcription des « hypoxia-inducible factors » HIF-1, HIF-2 et HIF-3, facteurs de transcription hétérodimériques (figure 8) (Pugh & Ratcliffe, 2003). Les HIFs ont différents gènes cibles qui gouvernent différentes fonctions dont l'angiogenèse à travers le VEGF-A, inducteur de la prolifération des cellules endothéliales et du bFGF (Calvani *et al.*, 2006). L'hypoxie induit l'expression du VEGF-A et diminue l'expression de la thrombospondine-2 (TSP-2) dans un grand

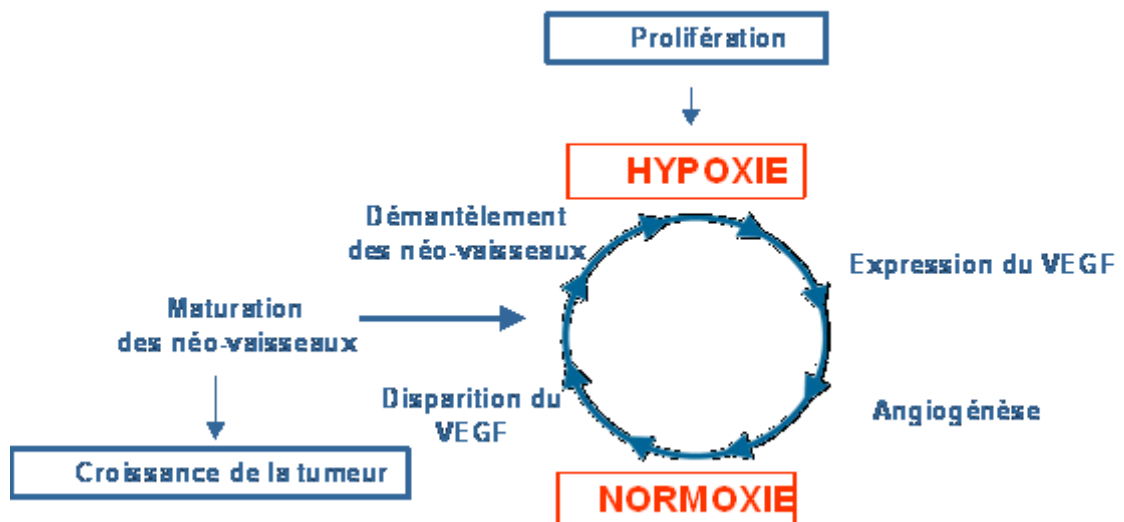
nombre de cellules normales ou transformées. Une enzyme appelée propyl-4-hydroxylase (PHD), lie l'oxygène moléculaire et le fixe sur le HIF-1 alpha. Une autre protéine appelée protéine de Von Hippel-Lindau (VHL) se lie au HIF-1 alpha oxydé et le complexe est ensuite ubiquitinylé et dégradé dans le protéasome. Quand le taux d'oxygène baisse ce processus est ralenti et le taux de HIF-1 alpha augmente. Inversement, lorsque le taux d'oxygène augmente, la dégradation de HIF-1 alpha est accélérée. Ainsi, au début de la prolifération tumorale, la tumeur d'une taille inférieure à 1 ou 2 mm³ est indépendante de l'angiogénèse et l'apport d'oxygène et de nutriments aux cellules est assuré par diffusion simple (Folkman, 1971; Bikfalvi, 2005). Puis, sous l'effet de l'accumulation des altérations génétiques, la prolifération des cellules tumorales devient plus active. La tumeur grossit alors au-delà des limites de diffusion simple de l'oxygène générant un état hypoxique intra tumoral. L'hypoxie déclenche alors le switch angiogénique, c'est-à-dire le passage de la phase de tumeur dormante au déclenchement de la néovascularisation en induisant l'expression de facteurs pro-angiogéniques tels que le VEGF (figure 8 et 9) (Bikfalvi, 2005).



(Bikfalvi, 2003)

VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor, EG-VEG: Endocrine gland-vascular endothelial growth factor; FGF: fibroblast growth factor; TSP1: thrombospondine 1, TSP2: thrombospondine 2

Figure 7 : Le Switch angiogénique. L'hypoxie stimule l'expression des facteurs pro-angiogéniques (activateurs) et inhibe l'expression ou la production de facteurs anti-angiogéniques (inhibiteurs), grâce à la stabilisation de HIF1alpha, l'activation oncogénique ou certaines boucles autocrines ou paracrines de facteurs de croissance. Quand l'oxygène moléculaire augmente ou quand l'effet des oncogènes et des facteurs de croissance est inhibée, la production des inhibiteurs est supérieure à celle des activateurs. Cela entraîne un blocage de l'angiogénèse tumorale et une régression des néovaisseaux.



(Bikfalvi, 2005)

Figure 8: L'hypoxie, induction de l'expression de facteurs pro-angiogéniques.

2) Vasodilatation et perméabilité

La première étape après le « switch » angiogénique est la vasodilatation des vaisseaux pré-existants grâce à l'action du monoxyde d'azote (NO). Le VEGF induit l'activité de la NO-synthase dans les cellules endothéliales. L'augmentation de la concentration en NO dans les cellules endothéliales active la guanylate cyclase qui forme du GMP cyclique (cGMP). La conséquence est un relâchement des muscles lisses. Cette forte perméabilité conduit à la formation d'organelles vesiculo-vacuolaires dans les cellules endothéliales. Ces vacuoles et ces vésicules intercommuniquent entre elles grâce aux fenêtres créées par la perméabilité vasculaire, puis les vésicules se rassemblent entre elles. Le VEGF va alors se lier à son récepteur spécifique VEGF-R2 exprimé sur les cellules endothéliales. Il va induire une vasodilatation qui entraîne l'activation et la migration des cellules endothéliales grâce à l'extravasation de protéines plasmatiques (Couffinhal *et al.*, 2001).

3) Détachement des péricytes et dégradation de la membrane basale

Le VEGF produit par la tumeur augmente la production d'angiopoïétine-2 (Mandriota & Pepper, 1998; Abe & Sato, 2001). L'angiopoïétine-2 est un ligand des récepteurs TIE-2 qui induit après fixation au détachement des péricytes de la paroi vasculaire et la déstabilisation des vaisseaux

(Sato, 2003). Le VEGF stimule les cellules endothéliales des vaisseaux déstabilisés en augmentant la synthèse de plusieurs types d'enzymes. Ces enzymes sont des protéinases produites pour dissoudre le tissu situé devant le vaisseau en bourgeonnement et pour l'aider dans son développement. Ces enzymes sont des activateurs du plasminogène, des matrix métalloprotéinases (MMP). Elles font partie de la famille des héparinases qui influencent l'angiogénèse en dégradant la MEC, en permettant ainsi la libération de facteurs angiogéniques nichés dans la matrice comme le bFGF ou le VEGF. Au fur et à mesure que les vaisseaux s'étendent le tissu est remodelé autour de lui (Stetler-Stevenson, 1999).

4) La Matrice extracellulaire (MEC) et les protéinases:

Les composants de la MEC jouent un rôle important dans la croissance des vaisseaux sanguins en servant de support, en permettant la communication via la signalisation, et comme réservoir de facteur de croissance. Une des premières étapes dans l'angiogénèse est la dégradation de la MEC et de la membrane basale subendothéliale. Ceci met en jeu des protéinases. Quelques familles de protéinases sont impliquées dans la dégradation et le remodelage de la MEC. Les activateurs du plasminogène (uPA) initient la cascade protéolytique après activation par la Plasmine. Les uPA activent des MMP (matrix métalloprotéinases) qui attaquent la MEC. La régulation de la dégradation de la matrice se fait par les inhibiteurs des uPA (PAI-1). De même après activation, les MMPs sont inhibées par les inhibiteurs des métalloprotéinases tissu-dépendants (TIMP). La dégradation de la matrice va permettre la migration des cellules endothéliales. La dégradation de la MEC par les protéinases peuvent libérer des activateurs angiogéniques fixés à la matrice et activer par protéolyse des cytokines angiogéniques comme par exemple l'Interleukine 1 (IL-1 β) et peuvent libérer des inhibiteurs angiogéniques. Une excessive dégradation de la MEC enlève un support pour la migration des cellules endothéliales.

5) Prolifération et migration des cellules endothéliales

La MEC étant dégradée, les cellules endothéliales vont proliférer et migrer vers le tissu en hypoxie. Dans le cas de l'angiogénèse tumorale ces cellules sont attirées vers le stimulus angiogénique que représente la tumeur. Les principaux facteurs de croissance impliqués dans cette prolifération et la migration sont le bFGF, libéré lors de la destruction de la MEC, et le VEGF et ses récepteurs. L'angiopoïétine-1 semble également impliquée dans le chimiotactisme des cellules endothéliales en potentialisant le VEGF (Ferrara, 1999). La migration est facilitée par la formation d'une matrice provisoire et l'expression par les cellules endothéliales de protéines transmembranaires comme les

intégrines permettent l'adhésion à des composants de la MEC. La progression des cellules endothéliales vers la tumeur est ainsi facilitée (Brooks *et al.*, 1994). Le bourgeonnement angiogénique est contrôlé par l'équilibre entre activateurs et inhibiteurs de l'angiogénèse. En effet, il existe des inhibiteurs endogènes qui suppriment la prolifération et la migration des cellules endothéliales (angiostatine, endostatine, PF-4)(Sato, 2003).

6) Formation de la lumière par les cellules endothéliales

Les cellules endothéliales s'assemblent en tubes pleins qui acquièrent par la suite une lumière. Le VEGF en association avec l'angiopoïétine-1 participe à la formation et l'augmentation du diamètre luminal (Suri *et al.*, 1998). Les intégrines participent également à la formation de cette lumière. Par contre la thrombospondine-1 est un inhibiteur endogène de la formation de la lumière. Arrivés à proximité du stimulus les cellules endothéliales se réorganisent en structure tubulaire formant des nouveaux vaisseaux immatures mais fonctionnels. Les tubes vasculaires individuels se connectent pour former des boucles dans lesquels le sang peut circuler.

7) Stabilisation des vaisseaux

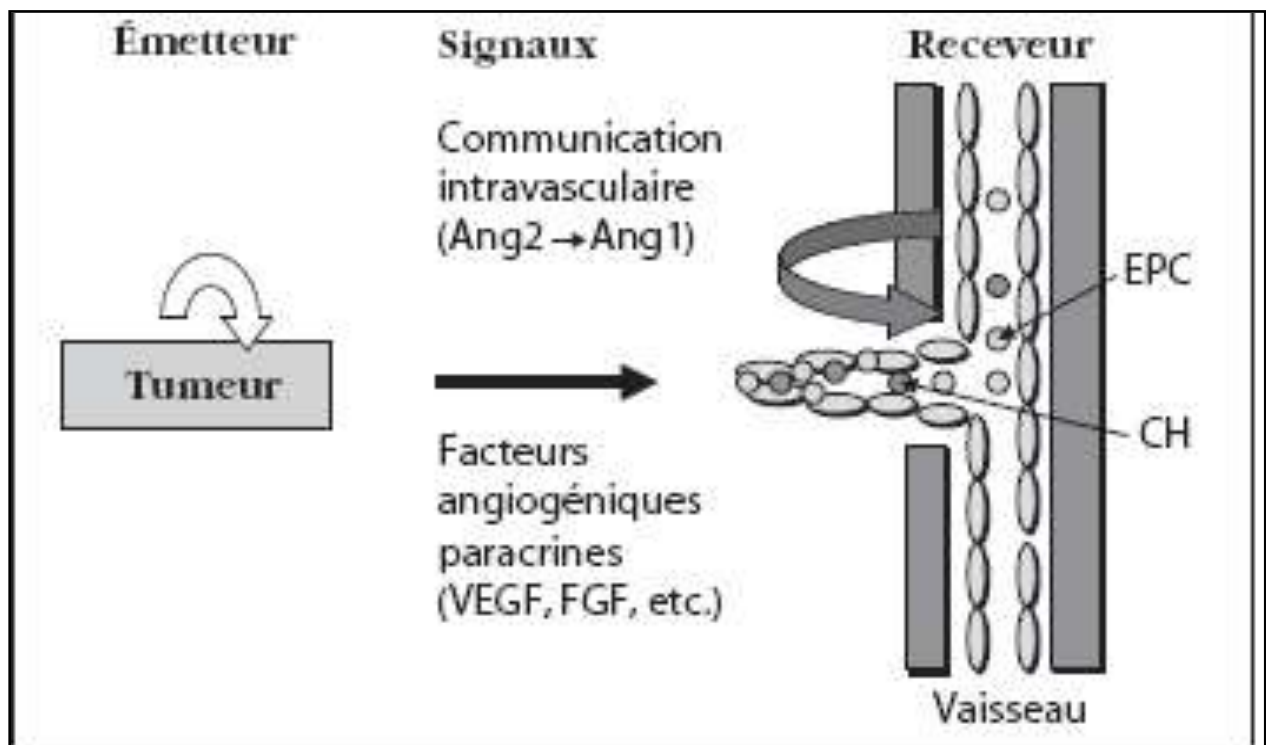
Finalement les tubes vasculaires sont stabilisés par des cellules murales qui fournissent un support structurel. Les cellules endothéliales des nouveaux vaisseaux produisent du PDGF (platelet derived growth factor) qui attire les péricytes à ces nouveaux vaisseaux (Sato, 2003). Les péricytes produisent l'angiopoïétine-1 qui va alors donner l'angiopoïétine-2, puis vont s'attacher aux cellules endothéliales et stabiliser les néovaisseaux. Le TGF β est ainsi activé et entraîne la maturation des néovaisseaux. Le flux sanguin peut s'installer et joue alors un rôle primordial en permettant le maintien de ces vaisseaux (Sundberg *et al.*, 2002).

8) Importance du flux sanguin

Le flux sanguin est un élément critique déterminant du maintien des vaisseaux et de leur durabilité. Un changement de flux sanguin interagit de façon dynamique avec le cytosquelette interne, avec la matrice extracellulaire, avec les cellules de la lumière du vaisseau. Une diminution du flux sanguin dans les vaisseaux va provoquer leur régression et leur fragilisation (Bikfalvi, 2005).

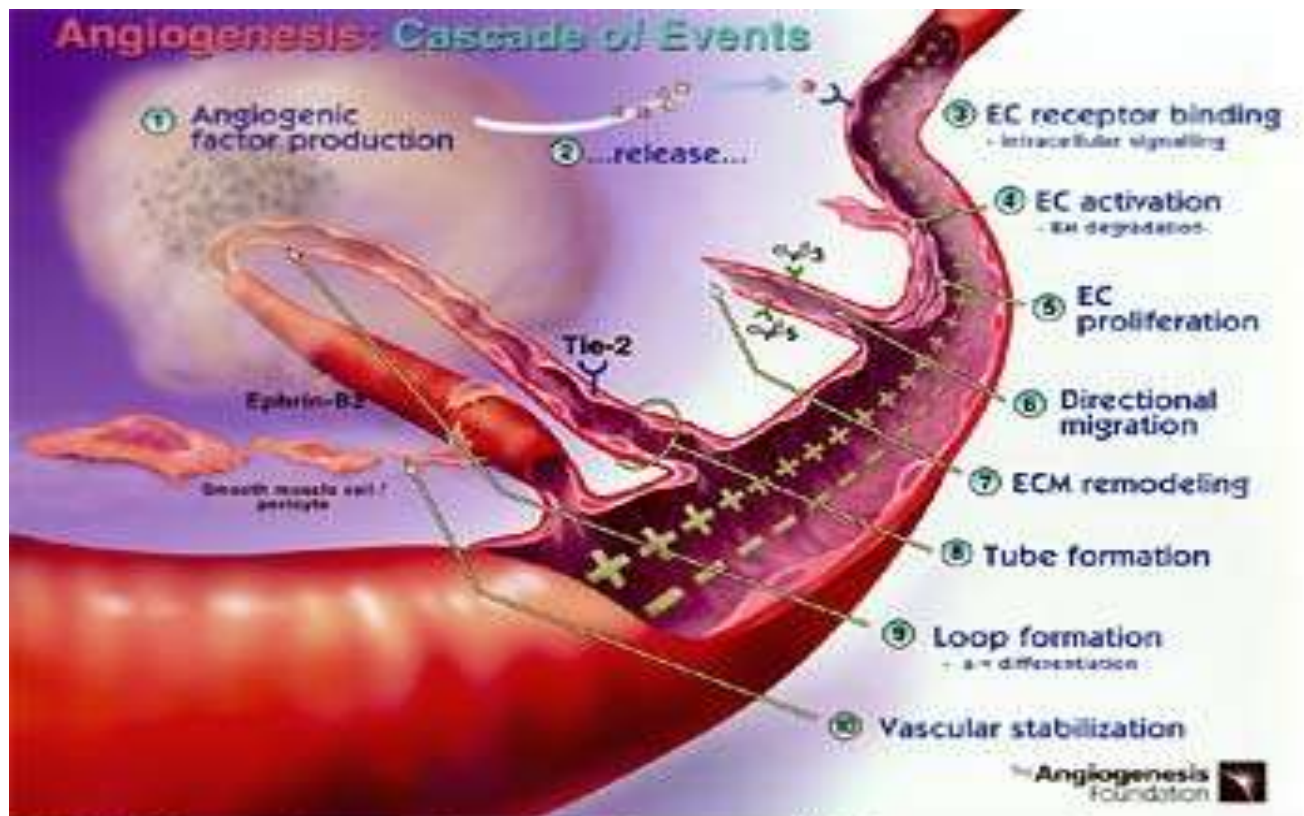
9) Intervention des cellules hématopoïétiques lors d'une stimulation angiogénique prolongée

La stimulation sur une période prolongée de l'angiogénèse par des facteurs angiogéniques conduit au recrutement des progéniteurs endothéliaux (EPC). Par ailleurs, des cellules hématopoïétiques (CH) sont aussi recrutées grâce à la stimulation du VEGFR1 qui est exprimé à la surface des cellules. La communication intra vasculaire entre cellules endothéliales et péricytes est également perturbée à cause d'une augmentation de l'angiopoïétine 2 (Ang2) par rapport à l'angiopoïétine 1 (Ang1), ce qui conduit à une couverture péricytaire défectueuse et incomplète (Bikfalvi, 2005).



(Bikfalvi, 2003)

Figure 9: Angiogenèse tumorale. Après le switch angiogénique, la tumeur produit plus de facteurs pro-angiogéniques que de facteurs anti-angiogéniques, ce qui induit la formation de néovaisseaux.



© 2000 The Angiogenesis Foundation, Inc. All rights reserved.

(Pandya *et al.*, 2006)

Figure 10: l'angiogenèse tumorale décrite en 10 étapes de la production des facteurs angiogéniques par la tumeur à la stabilisation des néovaisseaux. (1) la tumeur produit et libère des facteurs de croissance angiogéniques qui diffusent dans les tissus (2) les facteurs de croissance angiogéniques se fixent sur leurs récepteurs spécifiques situés sur les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins à proximité (3) après fixation des facteurs de croissance sur leurs récepteurs les cellules endothéliales sont activées. Les signaux sont envoyés de la surface cellulaire vers le noyau. La machinerie des cellules endothéliales commencent à produire de nouvelles molécules comprenant des enzymes. (4) Les enzymes dissolvent la gaine entourant les vaisseaux sanguins à proximité en créant une petite ouverture (5) Les cellules endothéliales commencent à se diviser, à proliférer et à migrer à travers les petites ouvertures des vaisseaux sanguins vers la tumeur (6) Des molécules d'adhésion ou des intégrines servent à l'ancrage pour l'élaboration d'un nouveau vaisseau. (7) Des matrix métalloprotéinases sont alors produites pour dissoudre les tissus devant le vaisseau naissant (8) Les cellules endothéliales qui ont migré s'assemblent pour former un tube vasculaire. (9) Les tubes vasculaires sanguins se connectent pour former un circuit dans lequel peut circuler le sang. (10) Les tubes vasculaires nouvellement formés sont stabilisés par des cellules spécialisées comme des péricytes ou des cellules musculaires lisses qui fournissent un support structurel. Le flux sanguin peut alors s'établir.

3- Caractéristiques des vaisseaux tumoraux

Contrairement aux vaisseaux sanguins normaux, les vaisseaux tumoraux sont dilatés, tortueux, irréguliers, fragiles formant un réseau chaotique (figure 11) (Sato, 2003). Cette architecture anormale peut être la conséquence d'une interaction cellules endothéliales / péricytes particulière. Pour s'adapter à la rapide croissance tumorale et aux besoins en O₂ et nutriments sans cesse grandissant de la tumeur, la vascularisation tumorale est soumise à une restructuration constante. Ce

remodelage entraîne la constitution d'un réseau fragilisé formé de vaisseaux, de diamètre irrégulier, du en partie à la compression des parois par les cellules tumorales en prolifération. La paroi vasculaire est anormale, perméable, les péricytes, moins abondants ou moins associés, ne forment pas un tapis complet autour des cellules endothéliales ce qui explique la fragilité de ces vaisseaux tumoraux (Morikawa *et al.*, 2002). Il a également été rapporté que les vaisseaux tumoraux auraient des cellules tumorales intégrées dans leurs parois (Folberg *et al.*, 2000; McDonald *et al.*, 2000).



(Pinguet, 2003)

Figure 11: Tortuosité et importance des vaisseaux tumoraux issus de l'angiogenèse tumorale

4-Inducteurs et inhibiteurs de l'angiogenèse tumorale

4-1 Des inducteurs endogènes de l'angiogenèse

a) Le vascular endothelial growth factor (VEGF)

Le VEGF est un facteur de croissance dont la cible unique est la cellule endothéliale (Senger *et al.*, 1993). C'est un peptide homodimérique de 46kDa liant l'héparine et existant sous quatre isoformes (121, 165, 189, 206) issues de l'épissage alternatif d'un gène unique (Couffinhal *et al.*, 2001). Il a deux récepteurs spécifiques, essentiellement présents sur les cellules endothéliales, le Flt-1 (VEGFR-1) et le Flt-2 (VEGFR-2) qui sont des récepteurs tyrosines kinases. Le VEGF se fixe sur ces récepteurs et les active. Leur activation provoque une autophosphorylation. L'expression du gène codant pour le VEGF est induit par de nombreux facteurs de croissance et de cytokines mais le stimulus le plus puissant reste l'hypoxie qui induit également l'expression de ses récepteurs (Brogi *et al.*, 1994; Gerber *et al.*, 1997). Ainsi les récepteurs du VEGF peuvent être exprimés par les

cellules endothéliales des vaisseaux tumoraux alors que celles des tissus normaux ne l'expriment pas ou peu. Un grand nombre de tumeurs humaines augmentent la synthèse du VEGF. Les tumeurs qui présentent une nécrose significative favorisent la production du VEGF qui est particulièrement élevée dans les cellules tumorales adjacentes aux zones nécrosées (Shweiki *et al.*, 1995). Il induit, la prolifération et la migration des cellules endothéliales ainsi que la formation des tubes capillaires. Il augmente la perméabilité capillaire, la synthèse de protéases par les cellules endothéliales et a un rôle dans la maturation et la survie des cellules endothéliales (Folkman, 2006). Le VEGF endogène est indispensable au développement des vaisseaux sanguins au cours de l'embryogenèse (Risau, 1998). Son expression est corrélée dans le temps et dans l'espace aux phénomènes d'angiogénèse physiologique comme dans l'appareil reproducteur de la femme mais dans les cellules tumorales elle est corrélée à l'agressivité et au pouvoir métastasiant de la tumeur (Ferrara, 1996). Le VEGF est produit par tous les types tumoraux (Folkman, 2006). Son expression est induite par l'hypoxie, l'hypoglycémie, des facteurs de croissance et des oncogènes et corrélés à la progression tumorale. Les concentrations plasmatiques en VEGF sont souvent élevées chez les patients atteints de cancer et peuvent servir de marqueur pronostique et de suivi thérapeutique. Un homologue du VEGF, le facteur de croissance placentaire (PlGF), active le récepteur R1 du VEGF mais seulement dans les conditions pathologiques. Il contribue aussi au « switch » angiogénique.

b) Le fibroblast growth factor (FGF)

La famille des « fibroblast growth factor » est une grande famille de facteurs de croissance d'au moins neuf polypeptides (Friesel & Maciag, 1995). L'acid growth factor (aFGF ou FGF-1) et le basic growth factor (bFGF ou FGF-2) sont les membres les mieux étudiés de cette famille. Ces deux facteurs sont associés à la matrice extracellulaire ou à des cellules et leur relargage peut avoir lieu par dégradation de la matrice. Les FGF se lient à des récepteurs de surface de haute ou basse affinité (Partanen *et al.*, 1993). Quatre types de récepteurs ont ainsi été mis à jour. La liaison à leur récepteur de haute affinité stimule l'activité tyrosine kinase qui induira une modulation du cycle cellulaire. La liaison au récepteur de basse affinité fournit un site de stockage extracellulaire pour les FGF qui pourront être relargués lors de la dégradation de la MEC. Les aFGF (acid Fibroblast Growth Factor) et bFGF stimulent l'angiogénèse *in vivo* et *in vitro* mais seul le bFGF semble impliqué dans l'angiogénèse tumorale. Ainsi le bFGF est produit par de nombreuses cellules normales, notamment les cellules endothéliales, les cellules musculaires lisses et les cellules myocardiques. Il est également produit par de nombreuses cellules tumorales. Le bFGF peut induire la prolifération et la migration des cellules endothéliales, et il a montré un effet synergique avec le VEGF dans l'induction de l'angiogénèse *in vivo*. Son action sur la prolifération des cellules

endothéliales est deux fois supérieure à celle du VEGF et il régule de manière très fine la production des activateurs du plasminogène. De plus le bFGF stimule fortement l'expression des intégrines bêta 1 (Klein *et al.*, 1993; Klein *et al.*, 1996). Le FGF-3, le FGF-4, le FGF-5 et le FGF-6 ont été identifiés comme des oncogènes qui jouent un rôle important dans le développement embryonnaire et tumoral. Mais seul le FGF-5 a été utilisé pour induire une angiogénèse thérapeutique (Giordano *et al.*, 1996).

c) Le PDGF (Platelet Derived Growth Factor)

Le facteur de croissance dérivé des plaquettes est un facteur angiogénique exprimé avec des taux anormalement élevés chez les patients atteints de cancer. Le PDGF est une enzyme à activité thymidine phosphorylase qui reconnaît les dérivés pyrimidiques ayant une action antitumorale. Ainsi l'inhibition de ce facteur par la thalidomide permet d'inhiber son action angiogénique mais aussi l'inactivation des agents antitumoraux disponibles (Hashimoto, 2002).

d) L'angiopoïétine-1

Son expression est détectée dans l'endocarde et les cellules endothéliales (Mukhopadhyay *et al.*, 1995). Elle a pour récepteur Tie-2 (Olofsson *et al.*, 1996). Les études suggèrent que le couple angiopoïétine-1 / Tie-2 intervient dans le recrutement des péricytes et dans la stabilisation des interactions entre les cellules endothéliales, la matrice extracellulaire et les péricytes lors de l'élaboration de nouveaux vaisseaux sanguins (Joukov *et al.*, 1996).

e) L'angiopoïétine-2

Sa séquence présente 85% d'homologie avec celle de l'angiopoïétine-1. Elle est également un ligand du récepteur Tie-2. Mais elle est un antagoniste naturel de l'angiopoïétine-1 en bloquant l'activation de Tie-2 induite par l'angiopoïétine-1 (Cunningham *et al.*, 1995). L'angiopoïétine-2 est exprimée par les cellules endothéliales ou les péricytes des vaisseaux embryonnaires. Elle semble pouvoir contrôler l'activité de l'angiopoïétine-1 dans certains sites et à certains stades du développement. L'angiopoïétine-2 potentialise le VEGF pour induire l'angiogénèse en empêchant que l'angiopoïétine-1 ne maintienne l'intégrité de l'endothélium (Waltenberger *et al.*, 1994). Il a été montré que l'angiopoïétine-2 était exprimé au niveau du front d'invasion des néovaisseaux dans certaines tumeurs. Les phénomènes de migration et de prolifération cellulaire au cours de la croissance tumorale dépendent des facteurs de croissance mais aussi des molécules d'adhésion

cellulaires comme les intégrines et les CAM (molécules d'adhésion cellulaires)(Waltenberger *et al.*, 1994).

4-2- Les inhibiteurs endogènes de l'angiogénèse

Les inhibiteurs de l'angiogénèse sont une cible prometteuse dans le traitement du cancer. Pendant les quinze dernières années des progrès majeurs ont été réalisés dans le développement de stratégies thérapeutiques basées sur la cible de l'angiogénèse tumorale. De nombreux inhibiteurs sont mis sur le marché pour le traitement de cancers et beaucoup sont en phase III, dernière étape dans le développement du médicament avant sa commercialisation. Il existe des inducteurs et des inhibiteurs endogènes de l'angiogénèse. Dans le cas de l'angiogénèse tumorale on cherche à la diminuer, mais dans les cas d'hypoxie tissulaire comme dans le cas d'un patient en post-infarctus du myocarde on cherche à l'augmenter. La plupart de ces molécules agissent soit:

- indirectement, en abaissant la concentration sanguine des facteurs de croissance angiogéniques, plus précisément en bloquant ou en prévenant les voies de signalisation des récepteurs des facteurs de croissance angiogéniques

- ou directement en agissant sur l'endothélium, affectant la voie de régulation cellulaire indépendamment des cellules tumorales. Il est intéressant de cibler des cellules endothéliales stables génétiquement, en réduisant ainsi le risque de développer une résistance au traitement. Néanmoins le développement de cette classe n'est pas importante possiblement en raison du manque de connaissance du mécanisme d'action de ces molécules. Une meilleure compréhension est nécessaire pour développer des thérapies efficaces avec la meilleure balance bénéfice/risque que possible pour le patient (Kerbel, 2000).

a) L'Angiostatine

C'est une protéine résultant du clivage protéolytique du plasminogène. Ce clivage serait effectué par des protéases activées ou produites par la tumeur. L'angiostatine possède la propriété d'inhiber la prolifération et la migration des cellules endothéliales capillaires. Il a été montré qu'elle supprimait l'angiogénèse tumorale et entraînait une régression des tumeurs primitives. Enfin, les résultats de l'équipe de Folkman sont en faveur d'une action inhibitrice de l'angiostatine sur le développement des métastases latentes (Holmgren *et al.*, 1995).

b) L'Endostatine

L'Endostatine est un inhibiteur de l'angiogénèse identifié dans les cellules endothéliales hémangiomateuses (O'Reilly *et al.*, 1997). C'est une protéine de 20kDa correspondant au fragment C-terminal du collagène XVIII, composant naturel de la MEC des cellules endothéliales des vaisseaux sanguins (Folkman, 2006). L'Endostatine lie l'héparane sulfate endothéliale et l'intégrine $\alpha 5 \beta 1$ qui est exprimée sur les cellules endothéliales prolifératives dans certains nids tumoraux (Blackhall *et al.*, 2003). Cet inhibiteur régule négativement de nombreux signaux qui gouvernent les activités pro-angiogéniques dans l'endothélium microvasculaire humain et en même temps régule positivement de nombreux gènes anti-angiogéniques dans ces cellules (Abdollahi *et al.*, 2004). L'Endostatine inhibe fortement l'angiogénèse *in vitro* et *in vivo*, ainsi que la croissance tumorale. Elle présente aussi une propriété importante : sa libération continue *in vivo* fait régresser complètement la tumeur primaire vers l'état d'îlot microscopique latent. Elle a donc la propriété de maintenir la latence tumorale mais aussi de provoquer la régression de la tumeur (Folkman, 2006).

c) Le facteur plaquettaire-4 (PF-4)

Il a été démontré que le PF-4 inhibait l'angiogénèse et le développement tumoral *in vivo* (Tanaka *et al.*, 1997). Le PF-4 inhibe la prolifération et la migration des cellules endothéliales. Il agit par compétition de l'effet coopératif des héparanes sulfate protéoglycanes sur la liaison des FGF ou des VEGF à leurs récepteurs respectifs. Il agit aussi par interaction directe avec les facteurs de l'angiogénèse. Ainsi le PF-4 pourrait être développé comme agent thérapeutique antitumoral en raison de ses propriétés anti-angiogéniques (Gupta & Singh, 1994; Perollet *et al.*, 1998).

d) La Thrombospondine-1

La Thrombospondine-1 (TSP1), molécule de la MEC, connue pour être un inhibiteur endogène de la formation des capillaires sanguins, serait un inhibiteur de la progression tumorale grâce à son action antiangiogénique. En l'absence de TSP1 on a observé l'augmentation de l'expression concomitante du facteur de croissance VEGF et de son récepteur VEGFR-2, ainsi que la MMP9, une métallo protéinase impliquée dans l'angiogénèse et l'invasion tumorale. Ces résultats indiquent un rôle protecteur endogène de TSP1 vis-à-vis de la croissance tumorale en inhibant la néovascularisation. La TSP1 semblerait impliquée *in vivo* dans la régulation de la MMP9 et du VEGF (Rodriguez-Manzaneque *et al.*, 2001). Elle a de plus une action inhibitrice de la prolifération, de la migration et de la différenciation des cellules endothéliale (Zetter, 1998).

e) Les Interférons

Les interférons peuvent inhiber la migration des cellules endothéliales capillaires et ont montré une activité antiangiogénique *in vivo*. Ils peuvent également bloquer la production ou l'action des facteurs angiogéniques produit par les cellules tumorales. Les hémangiomes sont particulièrement sensibles au traitement par l'interféron- α (Couffinhal *et al.*, 2001).

f) Les Inhibiteurs des Métalloprotéinases (TIMPs)

Les inhibiteurs des métalloprotéinases de la matrice (TIMPs) bloquent la dégradation de la MEC et inhibent ainsi l'angiogénèse et la métastase tumorale. Elles sont présentes au niveau de nombreuses cellules et tissus. *In vivo* elles bloquent la prolifération et la migration des cellules tumorales et endothéliales (Couffinhal *et al.*, 2001).

4-3 Les Inhibiteurs exogènes de l'angiogénèse

Il existe des inhibiteurs exogènes de l'angiogénèse. Ce sont des candidats pour le traitement du cancer ayant une composante angiogénique. Certains d'entre eux sont des médicaments et beaucoup sont encore en développement clinique et préclinique. Les inhibiteurs de l'angiogénèse sont nombreux et présentent une grande diversité de cibles sur les voies de signalisation de l'angiogénèse.

INHIBITEURS	CIBLES
Anticorps anti-VEGF	VEGF
Iressa	Bloque la production de VEGF
Bevacizumab	Neutralise le VEGF
SU-11248	Bloque les récepteurs du VEGF
SU-6668	Récepteurs du PDGF, du VEGF et du FGF
SU-5416	Récepteurs du VEGF
Batimastat	MMP 1, 2, 3, 7, 8, 9

Tableau 3 : inhibiteurs exogènes de l'angiogénèse. Les inhibiteurs de l'angiogénèse sont de plus en plus nombreux et appartiennent à la nouvelle classe thérapeutique des antiangiogéniques. Leur cible d'action est diversifiée et agissent sur les étapes de l'angiogénèse (Sato, 2003)

Conclusion sur l'angiogenèse tumorale

Une néovascularisation est donc essentielle à la croissance tumorale et l'inhibition de l'angiogénèse inhibe l'expansion tumorale. Il y a alors la possibilité dans le futur que des inhibiteurs de l'angiogénèse soient découverts et employés dans les thérapies anticancéreuses. Les cellules endothéliales micro vasculaires recrutées par les tumeurs sont une seconde cible importante dans les thérapies anticancéreuses et ont l'avantage d'être génétiquement stables. C'est pourquoi, traiter à la fois les cellules cancéreuses et les cellules endothéliales dans la tumeur serait plus efficace que traiter les cellules cancéreuses seules (Folkman, 2006). Différents mécanismes généraux inhibiteurs de l'angiogénèse ont aussi pu être mis en évidence, soit en bloquant l'expression tumorale du facteur angiogénique, soit en bloquant le facteur angiogénique après sa sécrétion par la tumeur ou en bloquant les récepteurs endothéliaux (Folkman, 2007). C'est sur cette base que se sont développées les thérapies anti-angiogéniques antitumorales. Ainsi la bonne connaissance des mécanismes de l'angiogénèse offre de nombreuses options thérapeutiques. Le développement de ces thérapies permettrait de ralentir voire d'arrêter la progression tumorale (Folkman, 2007).

Chapitre III : Le Lénalidomide (Revlimid®)

Le Lénalidomide est une substance immunomodulatrice, analogue structural et fonctionnel du thalidomide appartenant à la famille des immunomodulateurs (IMiDs) (IMiDs 3).

1-Propriétés physico-chimiques et pharmaceutiques :

La dénomination commune internationale est le Lenalidomide mais il existe aussi des synonymes : CC-5013, CDC-501, Lenalidomidum

Formules chimiques comparées du Lénalidomide et du Thalidomide:

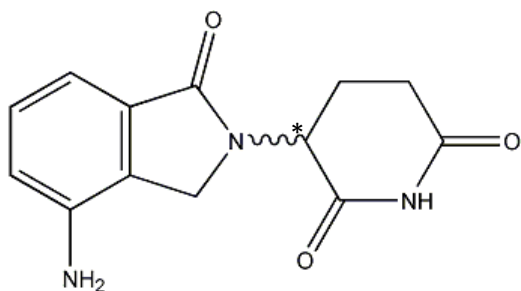


Figure 12: Formule développée du Lenalidomide
Thalidomide

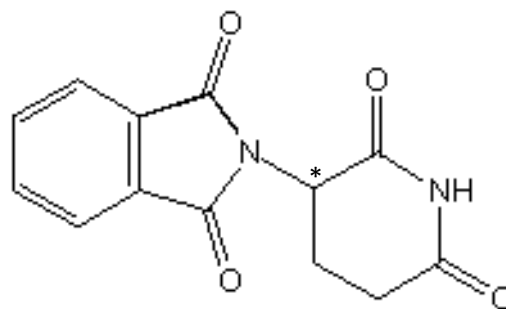


Figure 13: formule développée du
Thalidomide

Le nom chimique est le 3-(4-Amino-1-oxo-1,3-dihydro-2H-isoindol-2-yl)piperidine-2,6-dione.
Son poids moléculaire est de 259.3g/mol.

Sa formule chimique non développée est le $C_{13}H_{13}N_3O_3$

Le Lénalidomide est commercialisé sous le nom de Revlimid® par le laboratoire Celgene. Il est structuellement proche du Thalidomide dont le mécanisme d'action s'appuie sur des propriétés :

- antinéoplasiques
- antiangiogènes
- érythropoïétiques
- immunomodulatrices.

Dans la formule chimique du Lénalidomide on constate la présence d'un groupement amine primaire « NH₂ », favorisant sa solubilité en milieu acide par protonation. Par rapport au Thalidomide un groupement carboxyle a été retiré.

Solubilité

Le Lenalidomide est soluble dans les mélanges de solvants organiques avec de l'eau et les solvants aqueux tamponnés. Il est plus soluble dans les solvants organiques et dans les solutions acides. Il est significativement moins soluble dans les tampons moins acides. Il existe sous forme optiquement active S(-) et R(+). Il est synthétisé sous la forme de mélange racémique (Laboratoire Celgene, 2007).

Conservation et stabilité (Laboratoire Celgene, 2007)

Le Lenalidomide doit être pris avec de l'eau sans ouvrir les gélules. Les gélules doivent être conservées à 25°C.

Pharmacocinétique (Laboratoire Celgene, 2007)

Le Lenalidomide est rapidement absorbé avec un pic de concentration plasmatique allant de 0,6 à 1,5 heures après la prise par voie orale. L'administration concomitante avec le bol alimentaire peut diminuer les concentrations plasmatiques de 36% environ mais ne change pas la quantité absorbée (mesuré par l'aire sous la courbe ou AUC) car l'AUC est inchangée. La prise de Lénalidomide au moment des repas retarde donc seulement l'absorption. La fixation aux protéines plasmatiques est d'environ 30%. Les deux-tiers de la dose est éliminée sous la forme inchangée par voie rénale et sa demi-vie d'élimination est d'environ de 3 heures.

2- Pharmacologie du Lénalidomide

2-1 Mécanismes d'action

Le Lenalidomide est une petite molécule analogue du Thalidomide appartenant à la classe des immunomodulateurs, iMDS (immunomodulatory drugs). Cette classe regroupe trois molécules : le CC-5013 (Lénalidomide, Revlimid®), le CC-4047 (Actimid®) et le Thalidomide. Les immunomodulateurs agissent sur les cytokines et les réponses à médiation cellulaire. Il est maintenant connu que l'activité thérapeutique du Lénalidomide est due à de nombreux mécanismes d'action : immunomodulation, inhibition de la prolifération cellulaire et antiangiogène (figure 14 et figure 15) (Melchert & List, 2007; Armoiry *et al.*, 2008).

- activités d'immunomodulation :

Le Lénalidomide inhibe la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires comme le Tumor Necrosis Factor (TNF- α), l'interleukine (IL)-1, IL-6 et IL-12 in vitro par les monocytes et les macrophages. Cet effet sur le TNF α a une part importante dans les bénéfices cliniques des patients souffrants d'une pathologie comportant une inflammation accompagnée d'une production endogène de TNF α importante (Figure 12). Le Lénalidomide et le CC-4047 sont plus puissants in vitro que le Thalidomide (50 000 fois). Le Lénalidomide inhibe la transcription du facteur nucléaire κ B (NF- κ B) un régulateur clef de la production de TNF α et d'interleukine- 8 (IL-8). Le Lénalidomide augmente la production des cytokines anti-inflammatoires comme l'IL- 2, l'IL-10 et l'interféron et inhibe l'expression de la cyclooxygénase-2 (COX-2) in vitro. Il induit la prolifération des lymphocytes T et augmente la cytotoxicité des cellules Natural Killer (NK) .

- activités anti-néoplasique

Il inhibe la prolifération cellulaire avec une puissance qui dépend du type cellulaire. Dans la lignée des cellules testées, le Lénalidomide inhibe préférentiellement la prolifération des cellules présentant une délétion du chromosome 5q. Ceci a été montré in vitro dans les études précliniques et confirmé ensuite dans les essais cliniques réalisés chez des patients souffrants du syndrome de myélodysplasie. L'effet antiprolifératif passe par l'arrêt dans le cycle des cellules en phase G0/G1. Un effet antinéoplasique s'explique par l'activation des récepteurs de mort avec une potentialisation de l'apoptose médiée par le TNF (TRAIL : TNF- related apoptosis-inducing ligand) et une augmentation de l'activité de la caspase 8. L'effet est concentration-dépendant. Le Lénalidomide exerce des effets directs antiprolifératifs et pro-apoptotiques sur les cellules du myélome multiple in vitro. Cependant le mécanisme d'action du Lénalidomide n'est pas entièrement connu (Hideshima, 2008 ; Melchert, 2007).

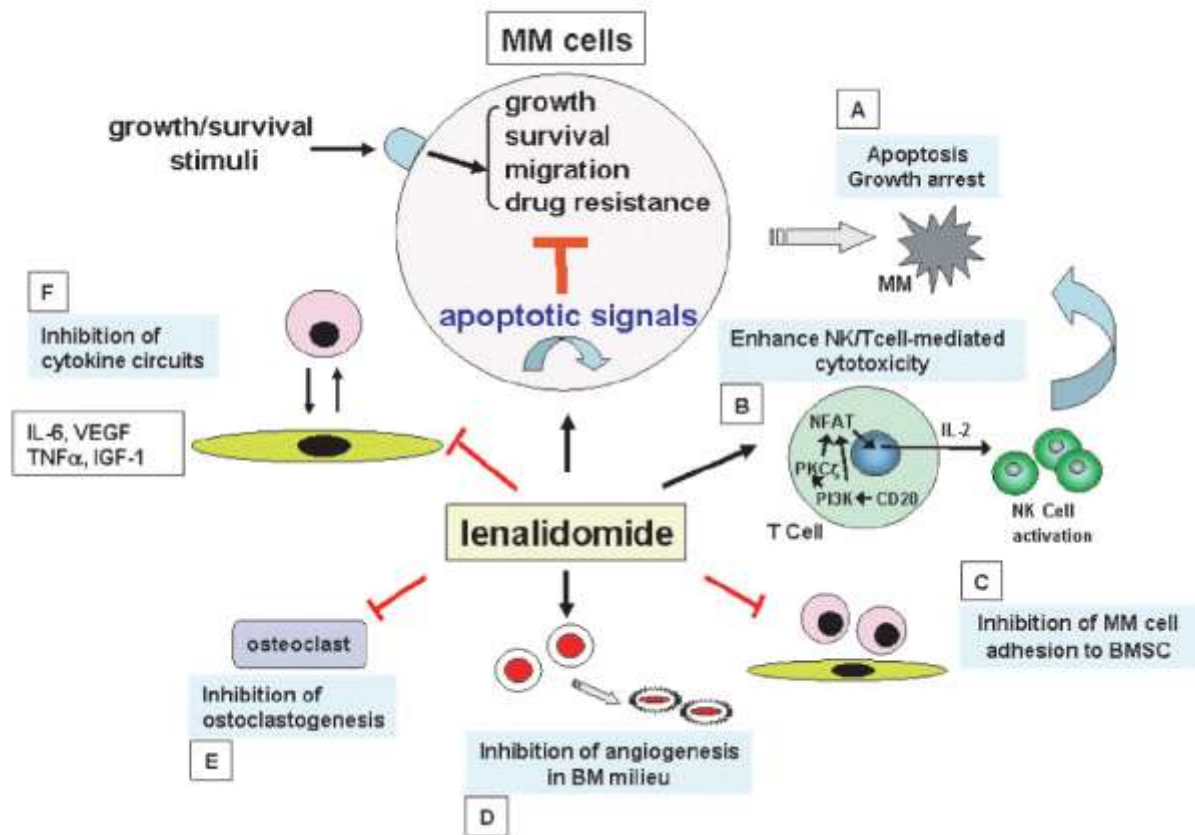
-activités antiangiogéniques

Les effets tératogènes du Thalidomide seraient dûs à son action antiangiogénique. Les sécrétions de VEGF et de bFGF par les cellules tumorales et les cellules du stroma de la moëlle osseuse, sont inhibées par le Lénalidomide. L'effet antiangiogénique semble dose-dépendant (Armoiry *et al.*, 2008).

Conséquences dans le microenvironnement de la moëlle osseuse

Le rôle du microenvironnement de la moëlle osseuse joue un rôle important dans les hémopathies malignes comme le myélome multiple et les anomalies myéloïdes. Le TNF α induit la production d'IL-6 par les cellules du stroma de la moëlle osseuse qui est augmentée par l'adhérence des

cellules du myélome multiples aux cellules du stroma. Ce microenvironnement inflammatoire favorise le développement des hémopathies malignes (Melchert, 2007).

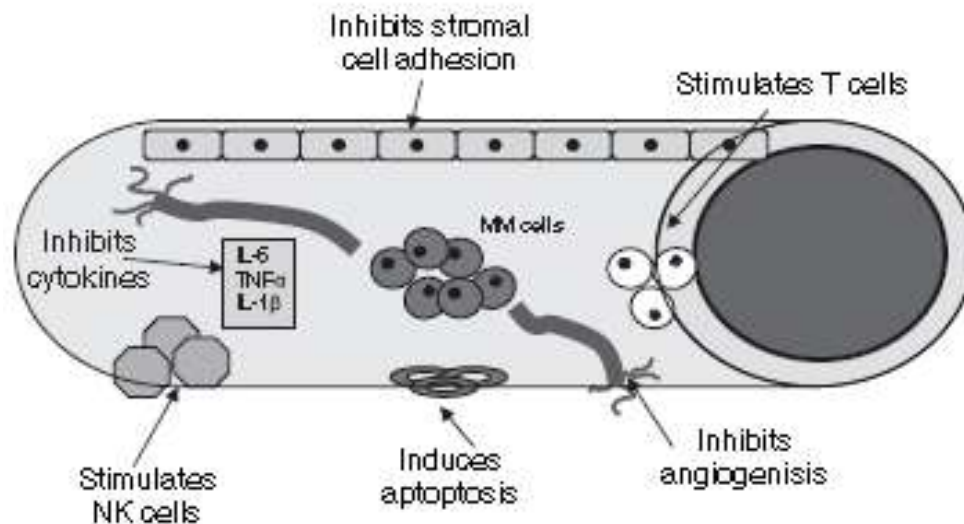


(Hideshima *et al.*, 2008)

Figure 14 Mécanisme potentiel du Lénalidomide. A : Le Lénalidomide a un effet antiprolifératif et apoptotique sur les cellules tumorales B : Activation des cellules Natural Killer qui sont chargées de détruire les cellules tumorales. C : inhibition de l'adhésion des cellules tumorales aux cellules du stroma de la moëlle osseuse (BMSC). D : inhibition de l'angiogénèse notamment dans la moëlle osseuse E : inhibition de l'ostéoclastogénèse F : inhibe la sécrétion des cytokines inflammatoires.

2-2 Pharmacologie du Lénalidomide dans le Myélome Multiple

L'intérêt de cet immunomodulateur est d'avoir des actions nombreuses, ciblant les cellules tumorales dans la moelle osseuse. Il agit sur les cellules du myélome multiple (MM) en stoppant leur prolifération, ce qui est intéressant en cas de résistance au traitement. Il inhibe l'adhérence des cellules du MM aux cellules du stroma de la moëlle osseuse. Ces effets diminuent encore la résistance au traitement. Il inhibe la sécrétion de cytokines inflammatoires par ces cellules cancéreuses et les cellules du stroma de la moelle osseuse ce qui diminue leur survie, leur croissance et leur migration. Enfin le Lénalidomide inhibe l'angiogénèse, qui se trouve augmentée dans le myélome multiple. La figure 15 illustre les mécanismes du Lénalidomide au niveau de la moelle osseuse (Hideshmina, 2008).

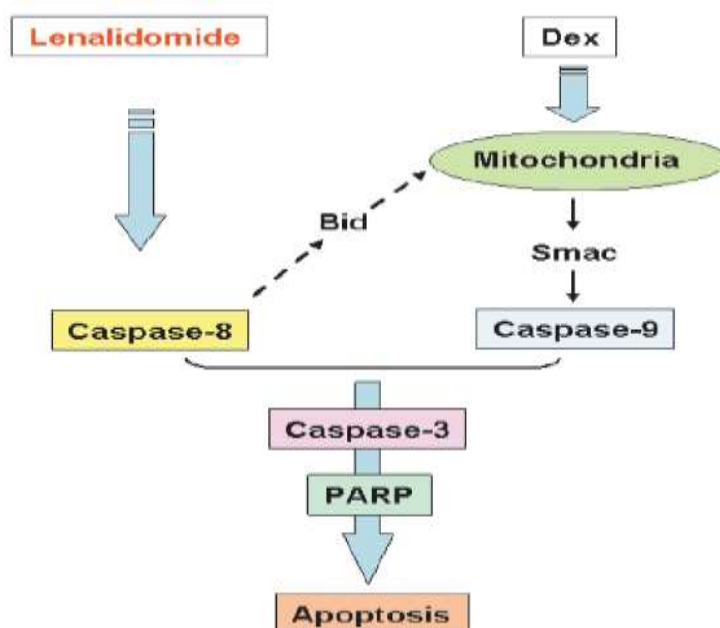


(Armoiry *et al.*, 2008)

Figure 15: Mécanisme d'action du Lénalidomide dans le myélome multiple.

Mécanisme synergique de l'association du Lénalidomide et de la Dexaméthasone

L'association de la Dexaméthasone, un glucocorticoïde et du Lénalidomide dans le MM donne de bons résultats en essais cliniques. Le Lénalidomide induit l'apoptose des cellules tumorales du MM via l'activation de la caspase 8. La Dexaméthasone induit l'activation de la caspase 9 qui conduit à l'apoptose. L'activation de ces deux caspases va augmenter l'activation de la caspase 3 et ainsi augmenter l'apoptose de ces cellules.



(Hidesmnina, 2008)

Figure 16: Mécanisme probable synergique de l'association du Lénalidomide avec la Dexaméthasone dans le traitement du myélome multiple. Les activations de la caspase 8 par le Lénalidomide et de la caspase 9 par la Dexaméthasone augmente l'apoptose des cellules du MM

. 3-Indications du Lénalidomide

a) En Europe (agrée par l'EMA)(HAS, 2007; Martindale, 2008)

Le Lénalidomide (Revlimid®) est indiqué, en association à la Dexaméthasone, pour le traitement du myélome multiple en 2^{ème} intention. La dose initiale recommandée est de 25 mg/j par voie orale en une prise/jour pendant les jours 1 à 21 des cycles récurrents de 28 jours. La dose recommandée de Dexaméthasone est de 40 mg en une prise/jour par voie orale les jours 1 à 4 puis 9 à 12 et 17 à 20 de chaque cycle de 28 jours pour les 4 premiers cycles de traitement, puis de 40 mg en une prise/jour les jours 1-4, tous les 28 jours pour les cycles suivants. La posologie est ensuite maintenue ou modifiée en fonction des résultats des examens cliniques et des analyses biologiques.

b) Indications du Lénalidomide aux Etats-Unis (agrées par la FDA)

Comme en Europe, le Lénalidomide (Revlimid®) est indiqué, en association à la Dexaméthasone, pour le traitement du myélome multiple en 2^{ème} intention. Il est indiqué aussi dans le traitement de l'anémie de risque moyen à faible nécessitant des transfusions associée au syndrome myélodysplasique comportant une délétion 5q.

4-Prscription et délivrance du Lénalidomide

a) en France

Le Lénalidomide (Revlimid®) est disponible en France uniquement sous la forme de gélules dosées à 5 mg, 10 mg, 15 mg et 25 mg en conditionnement de 21 gélules (ce qui correspond à un cycle de traitement). Il est commercialisé en France par le laboratoire Celgene et est inscrit sur la liste I des substances vénéneuses. Il s'agit d'un médicament récemment mis sur le marché car son AMM européenne date du 14 Juin 2007. La prescription est hospitalière et réservée aux spécialistes en oncologie ou en hématologie, ou aux médecins compétents en cancérologie. Il est nécessaire d'effectuer une surveillance particulière pendant le traitement :

- pour tous les patients : la prescription nécessite la signature de l'accord de soins.
- pour les femmes susceptibles de procréer : la prescription est limitée à 1 mois de traitement. Un test de grossesse doit être réalisé tous les mois et dans les 3 jours précédant la prescription et la date et le résultat du test de grossesse doivent être mentionnés dans le carnet du patient. La délivrance doit être effectuée au plus tard 7 jours après la prescription et après avoir vérifié la date et le résultat du test de grossesse.

b) aux Etats-Unis:

Le Lenalidomide est disponible en suivant un programme de délivrance restreint appelé « RevAssist ». Tous les prescripteurs, les pharmaciens amenés à dispenser le Lenalidomide et les patients à qui il est prescrit doivent être enregistrés et avoir donné leur accord pour suivre le programme « RevAssist ». Ceci a pour but d'éviter de possibles effets tératogènes qui se sont produits avec la prise de thalidomide, en raison d'une similarité de structure entre Thalidomide et Lenalidomide. Le Lenalidomide a été agréé par la FDA (Food and Drug administration) aux Etats-Unis en juin 2006 dans le traitement du Myélome multiple en rechute ou réfractaire en combinaison avec la Dexaméthasone.

5-Effets indésirables et tolérance

Le Lenalidomide est associé à une neutropénie et une thrombocytopénie significative chez les patients. Ces effets peuvent nécessiter une diminution de la posologie voir un arrêt du traitement provisoire ou définitif. Des facteurs de croissance hématopoïétiques peuvent alors être utilisés. Un suivi de la NFS (numération de la formule sanguine) doit être instauré et en début de traitement doit avoir lieu toutes les semaines pendant 8 semaines puis espacés à une fois par mois. Il existe aussi un risque de thrombose veineuse profonde avec pour conséquence une embolie pulmonaire. D'autres effets secondaires peuvent se déclarer mais plus mineurs comme des troubles gastro-intestinaux, un prurit, un rash, une fatigue. Il est nécessaire d'effectuer une surveillance particulière des patients souffrants d'une insuffisance rénale en raison de l'élimination rénale du Lénalidomide. En raison d'une similarité de structure avec le Thalidomide, le Lénalidomide est potentiellement tératogène et son utilisation doit être restreinte chez la femme en âge de procréer.

Classement ATC du Lénalidomide

L : ANTINEOPLASIQUES ET IMMUNOMODULATEURS

L04 : IMMUNOMODULATEURS

L01X : AUTRES IMMUNOMODULATEURS

L01XX : AUTRES IMMUNOMODULATEURS

L04AX04 : Lénalidomide

Il existe un seul médicament de même classe pharmaco-thérapeutique : le Thalidomide (THALIDOMIDE LAPHAL 100 mg, gélules). Il est utilisé le cadre d'une Autorisation temporaire d'utilisation de cohorte depuis le 28/02/2002 dans le traitement des myélomes réfractaires et/ou en rechute après au moins une ligne thérapeutique ayant comporté des alkylants.

Chapitre IV :

Essais Cliniques

Dans les 10 dernières années des progrès importants ont été faits dans la compréhension des mécanismes biologiques et moléculaires des cancers. La découverte de l'angiogenèse tumorale et de son mécanisme a conduit au développement de nouvelles options thérapeutiques pour cibler plus spécifiquement la pathogenèse de la maladie. Ainsi de nombreux antiangiogéniques ont vu le jour dont les nouveaux immunomodulateurs comme le Lénalidomide, des inhibiteurs du protéasome comme le Bortézomib. Ces nouvelles molécules sont en plein développement clinique. Le Lénalidomide a été plus étudié dans le myélome multiple grâce auquel il vient d'obtenir en 2007 une autorisation de mise sur le marché.

Evolution du nombre de publications scientifiques sur le Lénalidomide

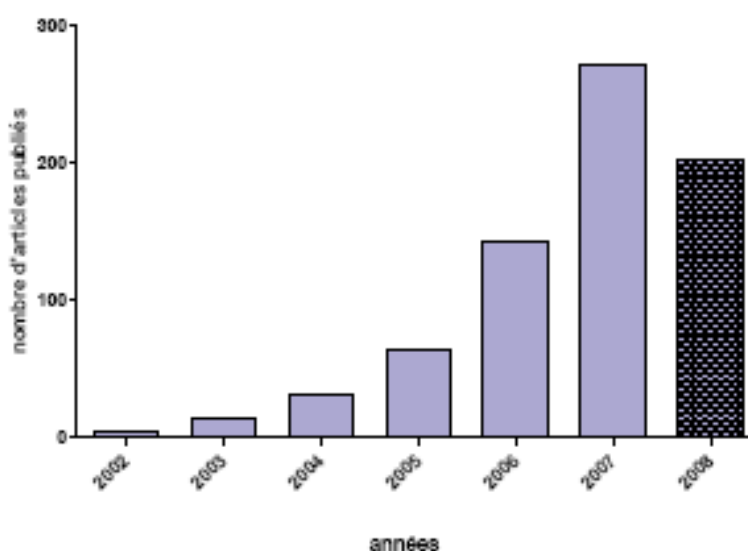


Figure 17: Nombre de publications contenant le mot « Lenalidomide » dans le titre

1- Le Myélome Multiple

a) Introduction

Le Myélome Multiple (MM) ou maladie de Kahler est une hémopathie maligne chronique caractérisée par la prolifération clonale, dans la moelle osseuse, de plasmocytes (lymphocytes B activés produisant des anticorps) tumoraux. Cette prolifération plasmocytaire a pour conséquence une surproduction de protéine monoclonale. Le myélome multiple concerne 1,5% à 2% des décès par cancer et approximativement 20% des hémopathies malignes. L'âge moyen de survenue est de 65 ans. Le pronostic de cette maladie est très souvent fatal (HAS (Haute Autorité de Santé), 2007; HAS, 2007; Palumbo *et al.*, 2008). Depuis de nombreuses années le traitement de référence est

l'association Melphalan-Prédnisone (MP) permettant une survie moyenne de trois ans environ. La fréquence des rémissions, la survie sans maladie et la survie totale ont été augmenté chez les patients de moins de 65 ans avec l'utilisation en première ligne de traitement d'une forte dose de chimiothérapie, suivi par une transplantation de cellules souches autologues. La survie a été augmentée avec cette procédure. Cependant le MM demeure incurable (rechute presque inéluctable de la maladie). Le temps moyen de survie est de 33 mois environ. Une forte dose de Melphalan et une transplantation de cellules souches autologues augmente le taux de rémission complète et le taux de survie chez les patients pouvant recevoir ce traitement. Cependant les taux de rechute sont importants et jusqu'à récemment les traitements de secours étaient peu nombreux. Les nouvelles stratégies thérapeutiques basées sur la biologie des pathologies ciblent spécifiquement les interactions entre les cellules cancéreuses du myélome et le microenvironnement de la moelle osseuse. Les nouvelles molécules utilisées sont le Bortézomib, le Thalidomide, le Lénalidomide maintenant disponibles. Ces interactions sont les clefs pour permettre la croissance et la survie des cellules malignes et se sont révélées être des outils puissants pour surmonter la résistance aux médicaments et prolonger la durée de réponse des patients atteints de MM (Palumbo *et al.*, 2008).

b) Le Myélome Multiple réfractaire aux traitements ou en rechute

-Le Lénalidomide en monothérapie

Deux essais de phase I testant des doses différentes de Lénalidomide par voie orale ont fixé la dose maximale tolérée à 25 mg/jour dans le MM à un stade avancé (Richardson, 2002 ; Palumbo *et al.*, 2008). Une étude de phase II en ouvert randomisée comportant deux bras pour évaluer l'efficacité et la tolérance a été réalisée. Deux doses de Lénalidomide (30 mg/jour versus 15 mg/jour sur 21 jours par cycle de 28 jours) ont été testées. La Dexaméthasone est ajoutée en cas de progression de la maladie ou de non réponse au traitement. 25% des patients ont répondu au Lénalidomide (le critère de réponse est soit une réponse complète, une réponse partielle ou une réponse faible). Dans le groupe des patients n'ayant pas répondu, l'addition du corticoïde Dexaméthasone (40 mg/jour pendant 4 jours tous les 14 jours) donne un taux de réponse de 29%. Certains MM réfractaires ou en rechutes préalablement traités avec du Thalidomide ont répondu au Lénalidomide (Richardson *et al.*, 2006).

- Le Lénalidomide associé à la Dexaméthasone

Récemment l'efficacité et la tolérance du Lénalidomide a été évaluée dans le myélome multiple par deux études de phase III randomisées: MM-009 essai multicentrique (Etats-Unis et Canada) (HAS, 2007; Weber *et al.*, 2007) et MM-010 essai multicentrique (Européen, Israélien et Australien)

(Dimopoulos *et al.*, 2007). Ces deux études ont comparé l'association Lénalidomide-Dexaméthasone à la Dexaméthasone seule chez des patients atteints de myélome multiple en échec ou en rechute à au moins un traitement antérieur. L'âge moyen des patients de l'étude était de 62,7 ans. Le traitement est poursuivi jusqu'à progression de la maladie ou décès lié à la progression de la maladie. Lors des deux études, les patients du groupe Lénalidomide-Dexaméthasone ont pris 25 mg de Lénalidomide par voie orale en une prise par jour les jours 1 à 21. Les patients des deux groupes ont pris 40 mg de Dexaméthasone par voie orale en une prise par jour les jours 1 à 4, 9 à 12 et 17 à 20 de chaque cycle de 28 jours pendant les 4 premiers cycles de 28 jours. Le traitement devait être poursuivi jusqu'à la progression de la maladie. Le critère principal commun aux deux études est le temps écoulé jusqu'à la progression de la maladie, défini comme la durée entre la randomisation et la première survenue de l'un des événements suivants :

- progression de la maladie
- ou décès lié à la progression de la maladie.

Dans l'étude MM-009, 354 patients ont été randomisés. Les deux-tiers des patients avaient déjà reçu une transplantation de cellules souches et presque la moitié avait reçu un traitement avec du Thalidomide. L'étude a démontré que le temps écoulé jusqu'à la progression de la maladie est allongé dans le groupe associant le Lénalidomide et la Dexaméthasone aux doses indiquées précédemment par rapport au groupe recevant la Dexaméthasone seule.

Dans l'étude MM-010, 351 patients ont été randomisés (Dimopoulos *et al.*, 2007). Les résultats sont similaires à l'étude MM-009 (tableaux 4 et 5).

		Etude MM-009* (juillet 2004)		Etude MM-010* (septembre 2004)	
		léna/Dexa	Dex	léna/Dexa	Dex
En progression	N	170	171	176	175
Censurés	n (%)	44 (25,9)	98 (57,3)	39 (22,2)	99 (56,6)
	n (%)	126 (74,1)	73 (42,7)	137 (77,8)	76 (43,4)
Temps progression jusqu'à (semaines)	Médiane [IC à 95 %]	41,1 [30,3- NA]	20,1 [16,7-24,1]	NA [36,1- NA]	20,1 [20,0-22,1]
Hazard Ratio [IC à 95 %]		3,07 [2,15, 4,40]		3,25 [2,23, 4,7]	
P du test de Log-rank		<0,001		<0,001	

*892/704 malades (les données de 12 malades n'étaient alors pas disponibles)

NA : non atteinte

Tableau 4: analyse des résultats du critère principal des deux études de phase III MM-009 et MM-010 Données issues de toute la période de traitement en double aveugle (HAS, 2007)

Analyse des résultats des deux études de Phase III (weber 2007 and Dimopoulos, 2007)

Au moment de la levée de l'aveugle

Critère d'évaluation	lén/dex (n = 353)	placebo/dex (n = 351)	Hazard ratio/odds ratio ^a [IC à 95 %], p
Temps sans progression médian [semaines] [IC à 95 %]	48,3 [41,1–60,1]	20,1 [19,9–20,7]	0,35 [0,29–0,43], p < 0,001 ^b
Réponses globales [n, %]	214 (60,6)	77 (21,9)	0,18 [0,13–0,25], p < 0,001 ^c
Réponses complètes [n, %]	53 (15,0)	7 (2,0)	0,12 [0,05–0,26], p < 0,001 ^c
Réponses partielles [n, %]	161 (45,6)	70 (19,9)	0,30 [0,21–0,42], p < 0,001 ^c
Survie sans progression médiane [semaines] [IC à 95 %]	47,3 [36,9–58,4]	20,1 [18,1–20,3]	0,38 [0,32–0,46], p < 0,001 ^b
Survie globale à 1 an	82%	75%	0,75 [0,59–0,95], p = 0,015 ^b

a : Le hazard ratio concerne le TTP, le PFS et la SG, l'odds ratio concerne les taux de réponses. Un nombre inférieur à 1 associé à une valeur de p inférieure à 0,025 indique la supériorité de lén/dex sur placebo/dex.

b : test logarithmique unilatéral par rangs

c : test unilatéral du χ^2 corrigé en fonction de la continuité

Tableau 5 : Synthèse des études MM-009 et MM-010 : phase III du CC-5013 dans le myélome multiple en rechute ou résistant Le tableau indique les taux de réponse au traitement et le temps de progression.

Une analyse conjointe des données des 704 patients inclus dans les deux études (non prévue au protocole) à la fin de la période de traitement en aveugle a été réalisée (tableau 5). Elle a montré dans le groupe Lénalidomide/Dexaméthasone par rapport au groupe Dexaméthasone :

- une augmentation de la médiane de temps jusqu'à progression (48,3 semaines vs 20,1 semaines au risque p < 0,001)
- une augmentation des taux de réponses globales (60,6% vs 21,9%, au risque p < 0,001)
- une augmentation du taux de survie globale à un an (82% vs 75%, p = 0,015)
- une toxicité hématologique, cardiaque et thromboembolique plus fréquente

c) Tolérance du Lénalidomide après analyse des essais cliniques

Contrairement aux effets indésirables vus avec le Thalidomide, comme les neuropathies parfois sévères, la constipation et la sédation, ont été peu fréquents avec le Lénalidomide. La myélosuppression (neutropénie de grade 3 ou 4 ou une thrombocytopénie) est l'effet indésirable qui limite la dose de Lénalidomide. Elle est réversible et une diminution de la posologie ou un arrêt transitoire du traitement diminue cet effet indésirable. L'incidence de la neutropénie est de 41% dans l'étude MM-009 et de 29% dans l'étude MM-010. Elle est plus importante que la

thrombocytopenie (incidence de 15% dans l'étude MM-009 et de 11% dans l'étude MM-010). L'analyse des patients de ces essais montre que la myélosuppression de grade 3 ou 4 est plus importante dans les groupes ayant préalablement reçu une transplantation de cellules souches autologues. Ce risque est également augmenté chez les patients ayant une insuffisance rénale car l'élimination du Lénalidomide se fait majoritairement par voie rénale, il est donc moins éliminé et par voie de conséquence, la concentration sanguine est augmentée. Les patients doivent donc être suivis sur le plan hématologique (une fois par semaine). En cas de cytopénie un traitement par le facteur de croissance stimulant la colonie granulocytaire (GM-CSF, Granocyte®) est instauré ou des stimulants de l'érythropoïèse peuvent être administrés. L'addition de la Dexaméthasone augmente les effets indésirables comme les thromboses veineuses profondes. Dans l'étude MM-009 15% des patients recevant l'association ont présenté une thrombose veineuse profonde alors que seulement 3% des patients recevant la Dexaméthasone étaient touchés. Dans l'étude MM-010 11% des patients recevant l'association ont présenté des événements thromboemboliques de grade 3 ou 4 et seulement 4,5% des patients recevant seulement la Dexaméthasone. Une diminution de ce risque a été étudié avec l'administration prophylactique d'aspirine à faible dose (81-325 mg/jour) ou d'un anticoagulant comme la Warfarine en maintenant un INR (International Normalized Ratio) entre 2 et 3 et une injection d'héparine de bas poids moléculaire (Palumbo *et al.*, 2008).

Essais évaluant les associations du Lénalidomide avec des médicaments utilisés dans le traitement du MM réfractaire ou en rechute

-Une étude de phase I/II a évalué l'association du Lénalidomide (10 mg/ jour les jours 1 à 21) à de la Doxorubicine liposomale pégylée (40 mg/m²), de la Vincristine (2 mg le jour 1) et la Dexaméthasone (40 mg/jour les jours 1 à 4). Elle a inclue 62 patients. 41 des 62 patients avaient reçu du Thalidomide en traitement de première intention. Le taux de réponse total est de 75% dont 29% de réponse complète et une survie moyenne sans maladie de 12 mois (Baz, 2006). La tolérance du traitement a été acceptable avec des neutropénies fébriles, des événements thromboemboliques (9%) et des neuropathies périphériques de grade 3(5%).

-Une étude de phase I/II a évalué l'association du Lénalidomide (15 mg/ jour les jours 1 à 21) à de l'Adriamycine (9 mg/m² les jours 1 à 4 en perfusion continue) et de la Dexaméthasone (40 mg/jour les jours 1 à 4 et 17 à 20). Seulement un abstract a été publié (Palumbo *et al.*, 2008).

-Une étude de phase I/II a évalué l'association du Lénalidomide (25 mg/jour les jours 1 à 21) à la Dexaméthasone (40 mg/j les jours 1-4 et 12-15) et au Cyclophosphamide (500 mg/j les jours 1,8,15

et 28) pendant 6 cycles. 20 patients ont été inclus L'association à ces doses a été mal tolérée.(Morgan, 2007).

- Une étude de phase I/II a évalué l'association du Lénalidomide (15 mg/j) à du Bortézomib (1 mg/m²) et de la Dexaméthasone (40 mg/j). Le taux de réponse a été de 50%. Les doses de Dexaméthasone ont été diminuées en raison d'une mauvaise tolérance. Etude non publiée (Palumbo *et al.*, 2008).

d) Développement clinique du Lénalidomide dans le myélome multiple en première intention

-Premier cas : Les patients sont éligibles pour subir une greffe de moelle osseuse

Une première étude de phase II non comparative a évalué l'efficacité et la tolérance de l'association Lénalidomide-Dexaméthasone en première intention. Les résultats ont montré un taux de réponse total de 91% dont 38% de réponses complètes ou presque. (Lacy, 2007). Le taux de survie à 3 ans est de 92% dans le groupe Lénalidomide-Dexaméthasone et de 85% dans le groupe ayant reçu une thérapie à forte dose. Sur cette base de ces résultats, des essais sont en cours pour évaluer l'association Lénalidomide-Dexaméthasone en traitement de première intention (Palumbo,2008).

Une étude de phase III non publiée a comparé l'association Lénalidomide-Dexaméthasone avec une dose standard élevée de Dexaméthasone (12 jours/mois) à l'association Lénalidomide-Dexaméthasone avec une faible dose de Dexaméthasone (4 jours/mois). L'analyse intermédiaire à un an donne des taux de survie de 96,5% dans le bras de l'association comprenant la faible dose de Dexaméthasone et de 86% dans l'autre bras à forte dose de Dexaméthasone. La tolérance du traitement de l'association contenant la forte dose de Dexaméthasone a été mauvaise avec notamment la survenue d'événements indésirables comme des thrombo-embolies (22% vs. 7,5%) et des infections (15,7% vs.7,5%) (Palumbo, 2008).

-2^{ème} cas : Patients non éligibles pour une greffe de moelle osseuse

Une étude de phase II a évaluée la combinaison d'une association du Lénalidomide avec le traitement standard (Melphalan-Prédnisone) chez des patients âgés non éligibles pour la thérapie à forte dose, nécessaire avant la greffe de moelle osseuse. 81% des patients ont répondu au traitement dont 23,8% ont eu une réponse complète. Sur la base de ces résultats, une étude de phase III a été lancée comparant l'association Lénalidomide-Melphan-Prédnisone à Melphalan-Prédnisone (National Cancer Institute, 2008).

Tableau 6: Résumé des essais cliniques évaluant le Lénalidomide en association dans le traitement du myélome multiple résistant ou en rechute.

Molécules testées	n	Age moyen (années)	Réponse partielle (%)	Réponse complète(%)	références
Lenalidomide+ Dexaméthasone (MM-009)	177	64	61	14	(Weber <i>et al.</i> , 2007)
Lenalidomide+ Dexaméthasone (MM-010)	176	63	60	16	(Dimopoulos <i>et al.</i> , 2007)
Lenalidomide+ Dexaméthasone+Doxorubicine liposomale pegylée	62	62	75	15	(Baz <i>et al.</i> , 2006)
Lénalidomide + Adriamycine+Dexaméthasone	61	64	82	8	(Knops <i>et al.</i> , 2007)
Lénalidomide+ Cyclophosphamide+ Dexaméthasone	21	59	65	5	(Morgan <i>et al.</i> , 2007)
Lénalidomide + Bortézomib	38	60	39	3	(Richardson <i>et al.</i> , 2006)

Conclusion :

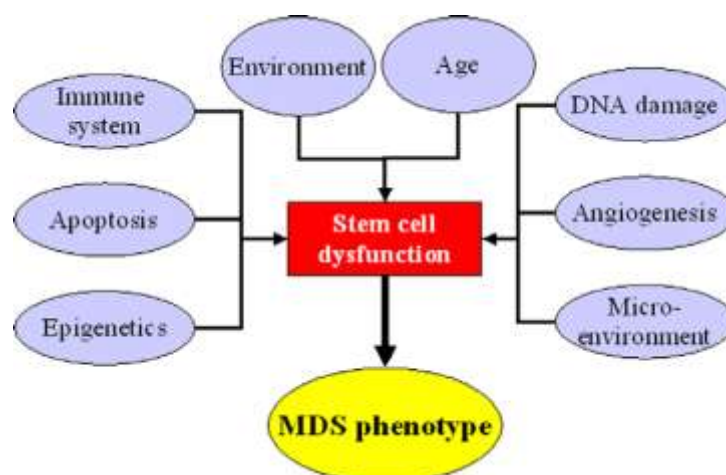
Le Lénalidomide a été évalué à ce jour que dans deux grandes études de phase III dans le MM réfractaire ou en rechute. Pour ces patients les options thérapeutiques étaient limitées. Les effets indésirables du traitement sont prévisibles et peuvent être prévenus ou traités afin d'éviter une diminution de la posologie du Lénalidomide. Il s'agit d'un traitement palliatif (HAS, 2007).

La limite de ces études : Il y a beaucoup de petites études de phase II en ouvert réalisées avec un petit nombre de patients. De plus il manque une comparaison du Lénalidomide et du Thalidomide : Le Lénalidomide est-il supérieur au thalidomide ? Cela nécessite la réalisation d'un essai contrôlé avec comme référence le Thalidomide. Cette comparaison permettrait de mieux classer le Lénalidomide par rapport à une molécule qui a démontré son efficacité. Le Lénalidomide a démontré son efficacité dans le myélome multiple et le bénéfice thérapeutique semble comparable à celui obtenu avec le Thalidomide. La commission de transparence a attribué une amélioration du

service médical rendu (ASMR) de niveau III (modéré) dans le cadre de la prise en charge des patients atteints d'un myélome multiple ayant déjà reçu au moins un traitement (HAS, 2007).

2- Dans le syndrome myélodysplasique

Les syndromes myélodysplasiques (SMD) sont des affections des cellules souches hématopoïétiques, qui présentent un trouble de différenciation aboutissant à un avortement intramédullaire des précurseurs myéloïdes, et à des cytopénies sanguines. On retrouve souvent une anomalie cytogénétique touchant le chromosome 5 à laquelle on donne le nom de syndrome 5q- car il s'agit d'une délétion au niveau de ce chromosome. Une population clonale de cellules immatures est retrouvée en quantité anormale dans la moelle osseuse et cette multiplication cellulaire déstabilise l'expression génomique. Cette déstabilisation augmente le risque de transformation du SMD en leucémie aiguë myéloïde. Il s'agit d'une affection du sujet âgé, la médiane d'âge au moment du diagnostic est aux environs de 70 ans. Chez l'adulte, 8 à 10 % des cas surviennent en dessous de 50 ans (ONCOLOR, 2006). De nombreux facteurs peuvent être à l'origine du déclenchement de ce syndrome dont l'angiogenèse, comme le montre la figure 16. Des patients atteints du SMD présentent au niveau de leur moelle osseuse une augmentation de la densité des microvaisseaux et une plus forte quantité de VEGF. Ce taux de VEGF est corrélé à une augmentation du nombre de blastes dans la moelle osseuse. La moelle osseuse qui ne synthétise plus assez de cellules précurseur des plaquettes, des globules rouges et des globules blancs provoque une anémie, une leucopénie et une thrombopénie périphérique avec des risques d'infection et de saignements. Connaissant le rôle de l'angiogenèse dans le SMD avancé, des essais cliniques ont été réalisés avec des antiangiogéniques et les résultats n'ont pas démontré leur efficacité ou un bénéfice clinique faible. Sachant qu'in vitro le Lénalidomide possède des propriétés antiangiogéniques, un essai clinique a évalué son activité dans le SMD (Platzbecker, 2007).



(Platzbecker, 2007)

Figure 18: Facteurs connus intervenant dans la pathogenèse du SMD et conduisant au phénotype du SMD.

Détail de l'étude clinique :

Une seule étude de phase II en ouvert, multicentrique, incluant 148 patients a été réalisée pour évaluer l'efficacité et la tolérance du Lénalidomide dans le traitement de l'anémie réfractaire aux traitements par l'érythropoïétine recombinante et nécessitant des transfusions. Les patients sont traités avec 10 mg/jour tous les jours (n= 102) ou pendant 21 jours tous les 28 jours (n= 46). La dépendance à la transfusion est définie comme tout patient recevant au moins 4 unités de globules rouges dans les 8 semaines avant l'inclusion. De plus, pour être inclus, les patients doivent avoir plus de 500 neutrophiles/mm³ et plus de 50 000 plaquettes/mm³. L'indépendance à la transfusion fut définie comme l'absence de transfusion pendant 8 semaines consécutives chez un patient. Les résultats ont montré que l'indépendance à la transfusion fut réalisée chez 67% des patients (70% des patients recevant une dose continue et 61% des patients recevant une dose discontinue pendant 21 jours). Le temps moyen de réponse a nécessité 4,6 semaines environ. La durée d'indépendance à la transfusion fut d'au moins 52 semaines parmi les 62% de répondeurs. Au niveau de la tolérance du traitement, les effets indésirables les plus fréquents ont été la neutropénie (55%) et la thrombocytopénie (44%). Les patients recevant le Lénalidomide en continu ont été plus nombreux à présenter une neutropénie de grade 4 (moins de 500 cellules/mm³) (44% vs. 17,4%, p<0,001). Une thrombocytopénie de grade 4 (moins de 10 000 plaquettes/mm³) a été moins fréquente dans le bras des patients recevant le Lénalidomide en continu que dans l'autre bras (6,9% vs. 15,2%, p= 0,05). Un ajustement de la posologie a été nécessaire chez 84% des patients (soit 91% des patients recevant le traitement en continu vs. 67% des patients recevant le traitement en discontinu). Le traitement a été arrêté chez 30 patients en raison des effets indésirables. Enfin 12 patients sont décédés dont 3 en raison d'une neutropénie induite par le traitement (List *et al.*, 2006).

Ce seul essai montre que le Lénalidomide améliorerait l'anémie des patients atteints de myélodysplasie et son efficacité serait plus importante lorsque la myélodysplasie est associée à une anomalie du chromosome 5 (délétion 5q) avec un risque moyen à faible de progression de la maladie vers la leucémie ou la mort.

3- Dans la leucémie lymphocytaire chronique

La leucémie lymphocytaire chronique (LLC) est un cancer touchant les lymphocytes B qui se retrouvent en grande quantité dans le sang et la moelle osseuse. Lors du développement d'une leucémie, la moelle osseuse produit un grand nombre de globules rouges anormaux. Les cellules anormales remplacent les cellules normales comme les globules blancs, les plaquettes et les globules rouges qui voient leur quantité réduite dans le sang et la moelle osseuse. Les patients sont anémiés, sensibles aux infections et saignent facilement et ce d'autant plus que la maladie

progresses. Ces lymphocytes ont un phénotype normal mais ne sont pas entièrement matures et sont moins fonctionnels. Cette leucémie affecte les personnes âgées et est plus rare en dessous de l'âge de 40 ans. Elle affaiblit et son pronostic est sombre (Drugdex evaluations, 2008). L'angiogenèse est augmentée au cours de la leucémie lymphocytaire au niveau de la moelle osseuse et des ganglions lymphatiques des patients. Bien que le rôle de l'angiogenèse dans la physiopathologie doit être complètement élucidé les données expérimentales suggèrent que quelques facteurs angiogéniques jouent un rôle dans la progression de la maladie. Des marqueurs biologiques de l'angiogenèse peuvent être des éléments pertinents de pronostic dans la LLC (Dong *et al.*, 2007).

Un essai clinique de phase 2 (n= 44) a évalué l'efficacité et la tolérance du Lénalidomide chez les patients atteints d'une leucémie lymphocytaire chronique en rechute ou réfractaire au traitement. L'âge moyen des patients inclus dans l'étude était de 64 ans. Pour être inclus, les patients devaient avoir une LLC résistante ou en rechute après au moins un traitement comprenant un analogue de purine. La dose de Lénalidomide était de 10mg/j augmenté de 5 mg tous les 28 jours pour atteindre une dose maximale de 25 mg/j maintenue jusqu'à la progression de la maladie ou en cas de toxicité. Les réponses complètes sont mesurées à l'aide de la technique de cytométrie de flux et/ou par PCR (polymerase chain reaction). Le traitement avec le Lénalidomide a obtenu un taux de réponse total chez ces patients de 32% avec 7% de rémission complète. La LLC est restée stable chez 25% des patients. La toxicité majeure observée pendant l'essai est la neutropénie (52% dont 4,4% en grade 4), la thrombocytopénie (31% dont 15% en grade 4), et la fatigue (23%)(Ferrajoli *et al.*, 2008).

2) Une autre étude de phase II (n=45) a évaluée l'efficacité et la tolérance du Lenalidomide chez des patients ayant une LLC résistante ou en rechute à au moins un traitement antérieur. L'âge moyen des patients était de 64 ans comme dans l'étude précédente. La dose était de 25 mg/j pendant 21 jours par cycle de 28 jours. Le traitement est continué jusqu'à l'obtention d'une réponse complète ou de la déclaration d'un effet toxique. Les patients dont la maladie progresse pendant 2 mois consécutifs reçoivent en plus du Rituximab (375 mg/ m²). De l'Allopurinol (300 mg/j) est ajouté avant le traitement par le Lénalidomide pendant 14 jours pour prévenir les effets d'une lyse cellulaire importante. La mesure de la réponse complète est identique à l'étude précédente. Le taux de réponse total est de 47% dont 9% en rémission complète. La LLC est resté stable pour 18% des patients. La tolérance au traitement est identique à l'étude précédente (Drugdex evaluations, 2008).

Le Lénalidomide semble efficace dans la leucémie lymphocytaire chronique. Son mécanisme d'action dans cette pathologie n'est pas encore bien connu mais semble agir sur l'angiogenèse et surtout par son action immunomodulatrice. D'autres études sont en cours pour déterminer son mécanisme exact et pour augmenter l'efficacité du traitement en associant le Lénalidomide à d'autres molécules (Ferrajoli *et al.*, 2008)

Dans cette indication, l'EMA a reconnu l'efficacité du Lénalidomide dans la leucémie lymphocytaire chronique mais en raison du faible nombre de patients concernés a classé le Lénalidomide comme un médicament orphelin (European Medicines Agency, 2008).

Chapitre V :

SITUATION DU LENALIDOMIDE PARMIS LES

ANTIANGIOGENIQUES ANTITUMORAUX

Chapitre V : Situation du Lénalidomide parmi les antiangiogéniques antitumoraux

Le Lénalidomide est une nouvelle molécule mise sur le marché depuis 2007 et exerce comme sa molécule parente le Thalidomide des effets antiangiogéniques et immunomodulateurs. De nombreux cancers solides et de nombreuses hémopathies malignes ont une composante angiogénique. Les antiangiogéniques, comme il est décrit dans la partie introduisant l'angiogenèse, sont en plein développement et constituent une classe thérapeutique. Il est maintenant intéressant de pouvoir situer le Lénalidomide parmi les autres antiangiogéniques dans les pathologies où le Lénalidomide a été évalué. L'évaluation des différents niveaux d'efficacité, de recommandation et de preuves des différents inhibiteurs anti-angiogéniques s'appuient sur les bases de données actuelles américaines (Base de données Drugdex®, Micromedex Thomson, 2008). Pour faciliter la comparaison entre les différentes molécules et pouvoir situer le Lénalidomide parmi ces dernières, on attribue un pourcentage arbitraire proportionnel au niveau correspondant, afin de construire une échelle et permettre une meilleure comparaison visuelle.

** Efficacité*

Classe I	Efficace	100%
Classe IIa	Preuves en faveur d'une efficacité	66%
Classe Ib	Les preuves sont non concluantes	33%
Classe III	Inefficace	0%

**Recommandation*

Classe I	Recommandé	100%
Classe IIa	Recommandé dans la plupart des cas	66%
Classe IIb	Recommandé dans certains cas	33%
Classe III	Non recommandé	0%
Classe indéterminée		*

**Niveau de preuve*

Catégorie A	Essais cliniques randomisés, grand nombre de patients ; résultats homogènes	100%
Catégorie B	Etudes non randomisées ; petit nombre de patients ; fluctuation de résultats	66%
Catégorie C	Opinions d'expert ou consensus ; cas rapportés	33%
Pas de preuve		0%

1-Efficacité des antiangiogéniques antitumoraux, indications et recommandations

Le premier inhibiteur de l'angiogenèse tumorale, Le Bevacizumab (Avastin®), a obtenu son autorisation de mise sur le marché le 12 Janvier 2005 pour le traitement en première intention du cancer colorectal métastatique, en association à une chimiothérapie intraveineuse (5-fluorouracile/acide folinique) avec ou sans Irinotécan pour le traitement du cancer colorectal. Le Bevacizumab est un anticorps monoclonal recombinant humanisé qui se lie au VEGF avant sa liaison à ses récepteurs VEGFR₁ et VEGFR₂ situés à la surface des cellules endothéliales. La neutralisation de l'activité biologique du VEGF réduit la vascularisation des tumeurs, inhibant ainsi la croissance tumorale et la dissémination métastatique. Depuis son approbation par la FDA en février 2004, d'autres inhibiteurs de l'angiogenèse ont été approuvés par la FDA. En 2006, 8 médicaments dont l'activité antiangiogénique est considérée comme majeure dans leur effet thérapeutique, ont reçu une approbation par la FDA (tableau 7).

Agent	Mechanism
Angiozyme	Ribozyme
PTK787/vatalanib	VEGF-receptor signaling inhibitor
Endostatin	Induction of endothelial cell apoptosis
SU6668	VEGF-, FGF-, and PDGF-receptor signaling inhibitor
ZD6474	VEGF-receptor signaling inhibitor
Thalidomide	Unknown
Neovastat	MMP inhibitor
Bevacizumab	Anti-VEGF inhibitor

Source: National Cancer Institute's database (www.cancertrials.nci.nih.gov/).

Tableau 7: inhibiteurs de l'angiogenèse en essais de phase II/III en 2006 (Pandya *et al.*, 2006)

Les essais cliniques évaluant l'efficacité et la tolérance des antiangiogéniques déjà approuvés par la FDA pour un cancer donné se développent dans d'autres indications. Parmi les nombreux antiangiogéniques approuvés depuis 2007 par la FDA, les deux premiers antiangiogéniques approuvés par la FDA sont le Thalidomide et le Bortézomib en 2003. Les deux premiers antiangiogéniques sont indiqués tous les deux dans le myélome multiple. Les essais de phase III en cours sont nombreux ce qui indique qu'il s'agit d'une classe thérapeutique en plein développement (tableau 8).

Médicament	Indications avec approbation (FDA ou autres)	Indications en Phase III
Thalidomide (THALOMID®)	Myélome Multiple (2003)	Myélome multiple Métastases cérébrales Cancer du poumon à petites cellules, Cancer du poumon non à petites cellules Cancer de la prostate /du rein et de l’ovaire
Bortezomib (VELCADE®)	Myélome Multiple (2003)	Cancer du poumon non à petites cellules Myélome multiple Lymphome non hodgkinien
Bevacizumab (AVASTIN®)	Cancer colo-rectal (2004) Cancer du poumon (2006)	Cancer du poumon non à petites cellules tumeur du stroma gastro-intestinal cancer colorectal, du sein, de l’ovaire, du péritoine, du pancréas, du rein, de la prostate
Erlotinib (TARCEVA®)	Cancer du poumon (2004)	Cancer du poumon non à petites cellules cancer colorectal, de l’ovaire, du pancréas, du rein, de la prostate
Sorafenib (NEXAVAR®)	Cancer du rein (2005)	Cancer du rein, du mélanome, cancer hépatocellulaire
Lenalidomide (REVLIMID®)	-Syndromes myélodysplasiques (2005) - du myélome multiple (2007)	Syndrome myélodysplasique Myélome multiple
Sunitinib (SUTENT®)	tumeur du stroma gastro-intestinal Cancer du rein (2006)	Cancer des cellules rénales tumeur du stroma gastro-intestinal

Tableau 8: Médicaments anti-angiogéniques approuvés par la FDA pour un usage clinique et les essais cliniques de phase III en cours en 2006 (Folkman, 2007)

Après avoir décrit les essais cliniques évaluant le Lénalidomide, il est intéressant de le situer parmi les autres antiangiogéniques dans les mêmes indications.

2- Place du Lénalidomide parmi les autres antiangiogéniques en hématologie

2-1- Dans Le myélome Multiple

2-1-1- en première ligne de traitement:

a) *Le Lenalidomide*

Le Lénalidomide (CC5013) présente un profil de tolérance plus favorable, en évaluation clinique que le Thalidomide (Richardson *et al.*, 2002). Une étude de phase III (non publiée) et une étude de phase II ont montré que le Lénalidomide est efficace, avec pour les résultats de l'étude de phase II, des taux de réponse totales de 91% (Palumbo *et al.*, 2008). Cependant il possède un effet myélosuppresseur plus important que le Thalidomide (thrombopénie et leucopénie). Un essai de phase II évaluant l'association Lénalidomide-Dexaméthasone dans le MM nouvellement diagnostiqué a montré une toxicité qui semblerait inférieure à celle observée avec l'association Thalidomide-Dexaméthasone (Rajkumar *et al.*, 2005). Il n'est pas approuvé par la FDA et par l'EMA dans cette indication.

Le niveau de preuve est de catégorie B, la recommandation dans cette indication est IIa, et l'efficacité est IIa. Les essais ont montré que le Lénalidomide est plus efficace administré en association avec la Dexaméthasone.

b) *Le Thalidomide*

Chez les patients présentant un myélome multiple asymptomatique à faible masse tumorale (stade précoce du MM), l'utilisation du Thalidomide permet de retarder l'évolution, le taux de réponse global est de 35% et la survie médiane sans progression atteint 80% à 1 an et 63% à 2 ans (Rajkumar *et al.*, 2003; Lim, 2006). Son positionnement en première intention chez des patients avec un MM asymptomatique avec de bons facteurs pronostiques est discuté. Le thalidomide administré en phase d'entretien devrait l'être à des doses plus faibles, pour améliorer la tolérance et permettre une durée d'utilisation plus longue (Stewart *et al.*, 2004). Il n'est pas approuvé par la FDA et par l'EMA dans cette indication en raison d'une balance bénéfice/risque défavorable pour le patient.

Le niveau de preuve est de catégorie B, la recommandation dans cette indication est IIb et l'efficacité est IIa (Drugdex evaluations, 2008). L'évaluation par la base de données a mieux classé le Lénalidomide en raison d'une meilleure tolérance même si son évaluation dans cette indication ne repose pas sur des essais de phase III multicentriques, randomisés, bien conduits.

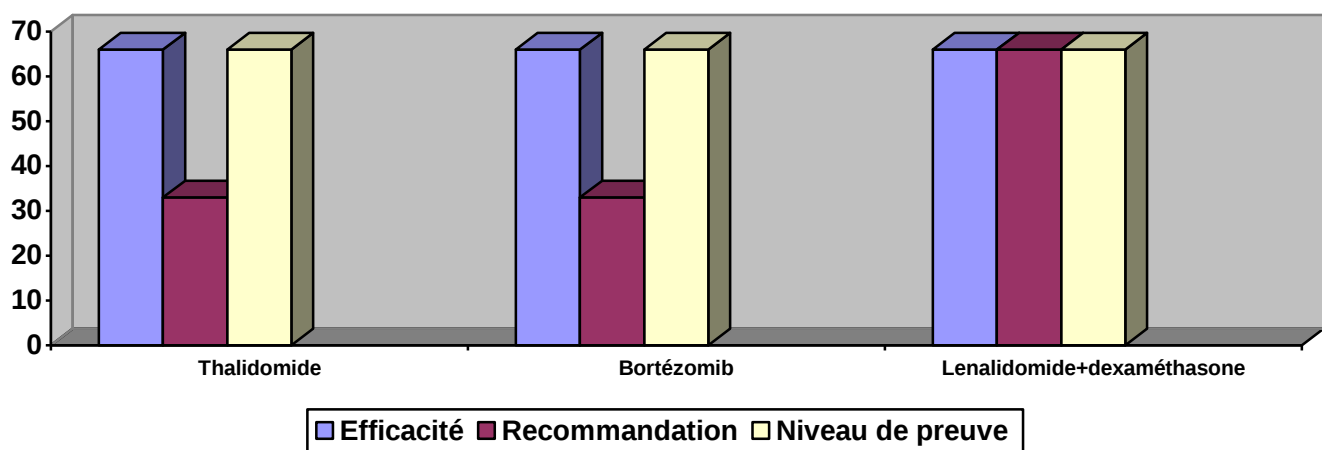
c) *Le Bortézomib*

Le Bortézomib est un cytotoxique inhibant le protéasome 26S (protéase impliquée dans la dégradation des cellules des organismes eucaryotes (voir annexe 2). Il induit l'apoptose par inhibition de l'activation du NFkB (Adams, 2001). Il inhibe l'angiogénèse et régule l'expression de

molécules d'adhésion cellulaire (Hideshima *et al.*, 2001; Hideshima *et al.*, 2003). De plus, le Bortézomib diminue la résistance aux traitements par inhibition des mécanismes de réparation de l'ADN (Hideshima *et al.*, 2001; Le Blanc *et al.*, 2002; Hideshima *et al.*, 2003). Il est indiqué en France dans le traitement du myélome multiple en progression en 2^{ème} ligne de traitement chez des patients qui ne sont pas éligible pour une greffe de moelle osseuse. Le Bortézomib a été évalué dans les formes précoces de la maladie. Un essai randomisé de phase III (essai VISTA) (n=682) en association avec le Melphalan et la Prédnisone (bras MPB) vs Melphalan et Prédnisone (bras MP). L'efficacité de l'association comprenant le Bortézomib a été bien supérieure (taux de réponse global de 35% dans le bras MP et 71% dans le bras MPB). Il vient d'être approuvé par la FDA dans cette indication car les résultats de cette étude viennent d'être publiés en 2008 (Drugdex evaluations, 2008).

Niveau de preuve : B, Recommandation : IIa, Efficacité : IIa (Drugdex evaluations, 2008)

Figure 19: Comparaison des trois antiangiogéniques dans le traitement en première intention du Myélome Multiple



Place dans la stratégie thérapeutique

Le traitement est soit symptomatique (traitement de l'anémie, des infections ou des douleurs osseuses) ou antitumoral en fonction de l'âge du patient et du stade tumoral du myélome.

Dans le myélome multiple récemment diagnostiqué (stades II ou III de Durie et Salmon, voir annexe 1), il n'existe pas de consensus thérapeutique à ce sujet. En première intention, le traitement de référence est constitué par l'association d'une chimiothérapie avec des agents alkylants (Melphalan ou Cyclophosphamide) à un corticoïde (Dexaméthasone à fortes doses ou Prédnisone) : Le plus souvent on retrouve associés le Melphalan et la Prédnisone (protocole MP). Le Thalidomide

est administré en association. Les patients les plus jeunes (moins de 65 ans) font habituellement l'objet d'un traitement intensif avec autogreffe de cellules souches du sang périphériques. Néanmoins, le protocole VAD (Vincristine, Adriamycine, Dexaméthasone), a pris une place importante dans le traitement du myélome, parce qu'il permet l'obtention de réponses sans altérer les cellules souches hématopoïétiques, ce qui présente un intérêt majeur chez les patients candidats à une greffe de cellules souches. En cas d'échec de ces traitements, l'interféron alfa ou le Thalidomide peuvent être utilisés.

2-1-2 Le Myélome Multiple en rechute et/ou réfractaire

Il faut rappeler qu'un myélome est dit réfractaire lorsqu'un patient n'est pas répondeur dans les 6 mois qui suivent l'instauration d'un traitement. Le myélome est dit en rechute en cas de reprise tumorale apparaissant après une période de réponse obtenue sous traitement.

a)Le Lénalidomide

Le Lénalidomide a été évalué dans deux grands essais de phase III multicentriques. Il a obtenu un taux de réponse de l'ordre de 61% dans cette indication. En France et en Europe, il est indiqué en association avec la Dexaméthasone après au moins une ligne thérapeutique ayant comporté des alkylants et lorsque aucune alternative n'existe. La commission de la transparence lui a attribué une ASMR de niveau III (modéré).

Niveau de preuve B; Recommandation : IIa , Efficacité : IIa (Drugdex evaluations, 2008).

b)Le Thalidomide

Singhal a été le premier à rapporter que le Thalidomide est efficace sur le MM en rechute et sur le MM réfractaire (Singhal *et al.*, 1999) avec des taux de réponse de 30 à 60%. Actuellement, l'utilisation du Thalidomide est bien étayée en monothérapie dans le MM en rechute ou réfractaire. Selon l'étude de Barlogie en 2001, sur 169 patients atteints par un myélome réfractaire ou en rechute (Barlogie *et al.*, 2001), une réduction de plus de 50% du taux de l'immunoglobuline monoclonale était obtenue chez 30% des patients, une réponse complète dans 14% des cas. La survie globale à 2 ans était de 50%.De nombreuses autres études ont confirmé ces résultats. (Juliussen *et al.*, 2000; Kneller *et al.*, 2000; Rajkumar *et al.*, 2000; Blade *et al.*, 2001; Hus *et al.*, 2001; Tosi *et al.*, 2002). Le Thalidomide a fait l'objet de nombreux essais cliniques chez des patients présentant un myélome multiple réfractaire ou en rechute. Une récente revue de 42 essais

cliniques ayant évalué le Thalidomide en monothérapie sur plus de 1 600 patients rapporte un taux de réponse de l'ordre de 30 % (réponse partielle ou complète) avec une survie globale de l'ordre de 14 mois (Glasmacher *et al.*, 2006).

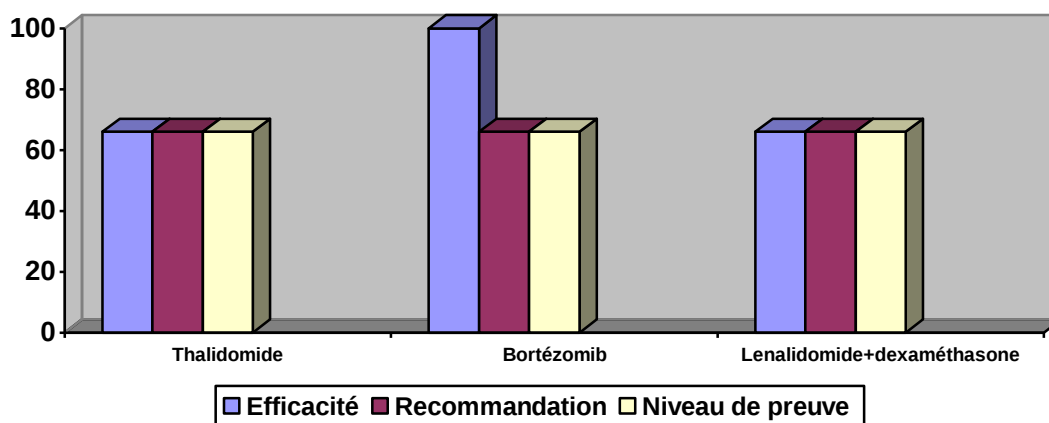
Efficacité : IIa, Recommandation : IIa, Niveau de preuve : B (Drugdex evaluations, 2008).

c) Le Bortézomib (Velcade®)

Il est indiqué en monothérapie pour le traitement du myélome multiple en progression chez des patients ayant reçu au moins un traitement antérieur et qui ont déjà bénéficié ou qui sont inéligibles pour une greffe de moelle osseuse. L'addition de corticostéroïdes tels que la Dexaméthasone a montré une amélioration du taux de réponse (Jagannath *et al.*, 2004; Kropff *et al.*, 2005; Richardson *et al.*, 2006). Pour ces raisons (toxicités du à l'addition de corticostéroïdes), il semble important de réaliser une étude comparative en monothérapie de l'efficacité du Lénalidomide avec le Bortézomib chez des patients atteints de myélome réfractaire ou en rechute. Le taux de réponse est significativement plus élevé chez les patients traités avec le Bortézomib que ceux traités avec le Thalidomide en regard des critères retenus pour l'évaluation. Les différences constatées pour le taux de réponses total (55%) sont cohérentes avec les résultats d'autres études réalisées (Glasmacher *et al.*, 2006; Prince *et al.*, 2007). Le Bortézomib (Boyer *et al.*, 2006; San Miguel *et al.*, 2006) dispose d'une autorisation de mise sur le marché dans le traitement du myélome multiple en progression chez des patients ayant reçu au moins un traitement antérieur et qui ont déjà bénéficié ou qui sont inéligibles pour une greffe de moelle osseuse. Une étude comparative de l'association Bortézomib+Dexaméthasone avec l'association Lénalidomide+Dexaméthasone est possible. Les preuves à ce jour suggèrent un effet additionnel ou synergique du Bortézomib associé à la Dexaméthasone chez des patients résistants ou en rechute (Kropff *et al.*, 2005).

Efficacité: I, Recommandation : IIa, Niveau de preuve: B (Drugdex evaluations, 2008).

Figure 20 : Comparaison des trois antiangiogéniques dans le traitement du Myélome Multiple réfractaire ou en rechute



d) Place de l'association Lénalidomide-Dexaméthasone dans la stratégie thérapeutique

Le traitement en première intention comporte l'alternative suivante : le malade est-il ou non éligible à un traitement intensif après qu'une chimiothérapie d'induction ait entraîné une rémission complète ou une rémission partielle ? Il a été montré que l'intensification suivie d'autogreffe a significativement accru la survie à 5 ans des patients âgés de moins de 70 ans. Après cette intensification, un traitement de consolidation peut accroître le taux de rémissions, prolonger la durée de réponse et améliorer la survie. La démonstration en a été faite avec le Thalidomide par l'intergroupe français du myélome « IFM » (essai randomisé IFM 99-02). Les patients d'âge inférieur à 65 ans ou inéligibles à une intensification sont traités par des associations comportant au moins un alkylant comme le Melphalan (M) et un corticoïde comme la Prédnisone (P): c'est le schéma MP classique (administrés en cycles de 28 jours comportant 4 jours de traitement avec le Melphalan à 0,25mg/kg et la Prédnisone à 1 mg/kg). Ce schéma donnant moins de 50% de bonnes réponses (diminution du pic monoclonal > 50%) a été amélioré par le groupe IFM en associant en plus du Thalidomide (T). Le taux de bonnes réponses est ainsi passé de moins de 50% à environ 80% ; le schéma MPT tend donc à devenir un standard.

En seconde intention, les résultats des traitements en monothérapie ont montré un taux de réponse de 25 à 35% sous Dexaméthasone, 25-45% sous thalidomide, 38% sous Bortézomib et 25% sous Lénalidomide. Les associations de ces molécules ont montré des taux de réponses plus élevés avec le protocole Cyclophosphamide-Thalidomide-Dexaméthasone (75%) ou CTD. Actuellement, il n'existe pas de recommandation indiquant une stratégie uniforme pour tous les patients en échec ou en rechute. Il est généralement admis qu'en cas de rechute tardive (délai >6 mois), chez des patients n'ayant pas été éligible à une autogreffe, le traitement initial peut de nouveau être efficace. Dans le cas contraire (rechute précoce), le choix porte sur d'autres molécules et doit tenir compte de l'état du patient, en particulier de sa fonction rénale. Les possibilités offertes par l'association de

molécules sont assez nombreuses, et faute de comparaisons directes, il est difficile de les hiérarchiser dans la stratégie thérapeutique. L'association Lénalidomide/Dexaméthasone représente une nouvelle option dans le traitement du myélome en échec ou en rechute à au moins une ligne de traitement (HAS (Haute Autorité de Santé), 2007).

2-2 Place du Lénalidomide dans le traitement du syndrome myélodysplasique

Un seul essai de phase II a été réalisé. Le Lénalidomide n'est pas indiqué en France dans cette pathologie, contrairement aux Etats-Unis où la FDA a reconnu son utilité. Il est utilisé pour traiter l'anémie causée par le syndrome myélodysplasique à un stade nécessitant des transfusions. La myélodysplasie doit être associée à une anomalie du chromosome 5 (délétion 5q) avec un risque moyen à faible de progression de la maladie vers la leucémie ou la mort. C'est pour cette raison que le laboratoire Celgene a fait la demande de cette indication pour le Lénalidomide auprès de l'EMA qui l'a refusé car l'essai n'est pas contrôlé et ne permet pas de situer l'efficacité du Lénalidomide (European Medicines Agency, 2008).

L'efficacité est de classe IIa, la recommandation est de class IIa et le niveau de preuve est B (Drugdex evaluations, 2008).

Le traitement curatif est la chimiothérapie à forte dose avec transplantation de cellules souches autologues. Cependant il existe un risque important de rechute car les cellules souches anormales contaminent à nouveau la moelle osseuse. Les chimiothérapies utilisées sont la Cytarabine et l'Anthracycline, seules ou en association avec d'autres médicaments de chimiothérapie. Il est difficile de comparer l'efficacité du Lénalidomide avec les autres antiangiogéniques car il est le premier à être évalué dans cette pathologie.

2-3 Place du Lénalidomide dans le traitement de la leucémie lymphoïde chronique

Le Lénalidomide a montré une efficacité dans cette indication grâce à 2 études de phase II. D'autres études sont en cours dans le but d'augmenter l'efficacité du traitement en associant le Lénalidomide à d'autres molécules (Ferrajoli *et al.*, 2008). Dans cette indication, l'utilisation du Lénalidomide n'est pas approuvée par la FDA et par l'EMA. En effet des essais de phase II ont été réalisés avec du Thalidomide sur un petit nombre de patients dans la LLC réfractaire. Ils ont évalué le Thalidomide en monothérapie vs. Le Thalidomide associé à la Fludarabine. Le taux de réponse total est de 12,5% avec le Thalidomide en monothérapie et de 50 associé à la Fludarabine (Asher *et al.*, 2007). Le Lénalidomide paraît plus efficace.

Efficacité: classe IIa, la recommandation est de classe IIb et le niveau de preuve est classé B (Drugdex evaluations, 2008).

La tendance actuelle dans ces hémopathies malignes est de cibler le microenvironnement des cellules tumorales dont fait parti l'angiogénèse. IL serait intéressant d'évaluer d'autres antiangiogéniques.

3-Effets indésirables et tolérance des molécules antiangiogéniques

3-1 Effet indésirables communs aux antiangiogéniques antitumoraux

Les inhibiteurs de l'angiogénèse provoquent une hypertension artérielle (HTA) dans environ 22% des cas (dans la population normale elle est de 8% environ).

a) Hypertension

Les inhibiteurs de l'angiogénèse provoquent une hypertension artérielle (HTA) dans 22% des cas avec le Bevacizumab (dans la population normale elle est de 8% environ). Dans des essais comme l'essai VIVA (Vascular Angiogenesis Trial) où les patients ont reçu du VEGF pour le traitement d'ischémies, la tension avait tendance à chuter de 22% environ. Ceci tend à penser qu'inhiber l'angiogénèse augmente le risque d'avoir une hypertension et qu'à l'inverse, une stimulation de l'angiogénèse augmente le risque de diminuer la tension artérielle. Plusieurs mécanismes peuvent en être à l'origine :

Le VEGF augmente à la fois l'activité du l'oxyde nitrique synthase endothéliale (eNOS) et augmente sa production dans les cellules endothéliales. L'augmentation de l'angiogénèse provoquerait une diminution des résistances vasculaires tandis qu'une diminution de l'angiogénèse en inhibant le VEGF provoque une vasoconstriction. Les petites artères et les artérioles pré-capillaires sont des éléments importants dans la résistance vasculaire. La raréfaction capillaire et artériolaire est observé dans de nombreux modèles animaux d'hypertension (Pande *et al.*, 2007).

Un traitement par des inhibiteurs calciques, des inhibiteurs de l'enzyme de conversion, des antagonistes de l'angiotensine II corrige dans la plupart des cas l'hypertension. Ces classes d'antihypertenseurs sont préférées en raison de leur effet vasodilatateur.

b) Les saignements

Le VEGF intervenant dans la réparation des blessures, son inhibition favorise le saignement à travers des plaies non réparées.

c) perforations gastro-intestinales

Cet effet passe par la création d'une ischémie locale et un défaut de réparation des blessures.

d) thrombose veineuse profonde

Le risque semble plus important si l'antiangiogénique est utilisé en association. Ceci concerne le Lénalidomide, le Thalidomide, le Primonastat (un inhibiteur de MMP2)

molécule	Effets indésirables
Bevacizumab (AVASTIN)	Hypertension artérielle dose-dépendante Anorexie Stomatite Asthénie Douleurs diverses Céphalées, nausées Perforations gastro-intestinales saignements
Lénalidomide	Thrombose des veines profondes surtout en association avec de la Dexaméthasone à forte dose. Hématotoxicité : neutropénie et thrombopénie Myélosuppression Fatigue, diarrhée, somnolence, constipation et neuropathie (moins fréquents) Les données actuelles sur le potentiel tératogène du Lénalidomide n'ont pas permis d'exclure totalement l'absence d'effet tératogène du produit. L'AFSSAPS indique la présence d'un effet tératogène chez le singe, donc attendu chez l'homme (2008). Le Lénalidomide étant principalement excrété par voie rénale, les patients présentant une insuffisance rénale devront faire l'objet d'une surveillance particulière et d'un ajustement des doses en fonction de la clairance de la créatinine.
Bortézomib	Asthénie (grades I à III) Troubles digestifs : nausées, vomissements, constipation, et diarrhées (jusqu'à grade III) Thrombocytopénies (grades I à IV) Neuropathies périphériques (36 %), réversibles dans environ 50 % des cas. Elles imposent une réduction posologique voire un arrêt du traitement. Hypotensions orthostatiques (grades I à III) (10 %) Des complications pulmonaires (dyspnée, toux) parfois sévères ont été observées.

Tableau 9: Effets indésirables de médicaments à effets antiangiogéniques utilisés dans les mêmes indications que le Lénalidomide (Drugdex evaluations, 2008)

Tableau 10 récapitulatif des effets indésirables du Thalidomide

Symptômes	Délai d'apparition	Fréquence	Commentaires
<i>-Neurologiques</i>			
Neuropathies	> 6 mois	50 %	Dose et temps dépendant
Somnolence	quelques semaines	> 50 %	Amélioration progressive
Asthénie	1 à 2 mois	20 à 50 %	
Tremblements	1 à 2 mois	5 à 20 %	
Céphalées	1 à 2 mois	5 à 20 %	Sensibles aux AINS
<i>-Cardiovasculaires</i>			
Thromboses	3 mois	5 à 20 %	Utilité des HBPM
Hypotension		5 à 20 %	Contention veineuse
Bradycardie		5 %	Surveiller ECG
Oedème	1 à 2 mois	5 à 20 %	Utilisation diurétiques
<i>-Dermatologiques</i>			
Rash/prurit	1 à 2 mois	> 25 %	
<i>-Digestifs</i>			
Constipation	quelques jours	> 50 %	
Nausées	quelques jours	5 à 20 %	
Xérostomie	1 à 2 mois	5 à 20 %	
<i>-Endocriniens</i>			
Hypothyroïdie	6 mois	5 à 20 %	Surveiller la TSH

(Drugdex evaluations, 2008)

Il faut noter qu'il y a une augmentation de l'incidence des effets indésirables rapporté en raison d'une plus large utilisation de cette classe de médicaments. Ces effets secondaires peuvent être prévenus pour la thrombose des veines profondes, hypertension et il est nécessaire d'effectuer une

surveillance attentive des bilans sanguins pour détecter une éventuelle myélosuppression. Les essais cliniques ont montré que les antiangiogéniques sont plus puissants utilisés en association mais cela augmente aussi le risque d'effets indésirables. Il est souhaitable d'avoir un inhibiteur puissant mesuré in vitro par la concentration inhibitrice 50 pour diminuer les doses et donc on peut le penser, améliorer la tolérance.

4- Optimisation de la thérapie antiangiogénique et perspectives thérapeutiques

L'intérêt porté sur la compréhension des mécanismes moléculaires et la signification de l'angiogénèse dans différents contextes biologiques ouvrent de nouvelles opportunités de découverte de nouveaux médicaments. Dans les essais cliniques réalisés les thérapies anti-angiogéniques sont souvent associées à d'autres médicaments avec un effet bénéfique et synergique. Il est important de bien comprendre la différence entre les médicaments anti-angiogéniques et les médicaments cytotoxiques, afin d'optimiser l'efficacité.

4-1 Comparaison et différences entre la thérapie anti-angiogéniques et la chimiothérapie

La thérapie antiangiogénique cible spécifiquement les cellules endothéliales au niveau de la tumeur, tandis que la chimiothérapie a un effet cytotoxique sur les cellules tumorales. La thérapie ciblée a tendance à diminuer les effets secondaires. Le traitement antiangiogénique agit directement sur les cellules endothéliales en contact d'un inhibiteur comme l'Endostatine. L'objectif dans les essais évaluant les antiangiogéniques est d'augmenter la survie et le temps sans progression de la maladie. La chimiothérapie a pour objectif de diminuer le volume tumoral et d'augmenter la survie (Ziche *et al.*, 2006, Folkman, 2007). La chimiothérapie est en général plus efficace sur des tumeurs à croissance rapide que sur des tumeurs à croissance lente. La thérapie antiangiogénique est plus efficace sur des tumeurs à croissance lente que sur des tumeurs vascularisées à croissance rapide, nécessitant des doses plus importantes d'inhibiteur.

Importance de la concentration

La chimiothérapie est souvent employée aux doses maximales tolérées avec une fenêtre thérapeutique de 1 à 3 semaines pour diminuer les effets secondaires comme la leucopénie. La thérapie antiangiogénique pour être optimale nécessite une exposition des cellules endothéliales à l'inhibiteur de façon constante ce qui nécessite une concentration la plus constante possible. Un dosage sanguin est donc souhaitable pour ces inhibiteurs angiogéniques possédant en général une demi-vie courte. Cependant, certains anticorps comme le Bevacizumab peuvent être administrés toutes les 2 semaines en raison de sa longue demi-vie. En effet les anticorps entrent dans les

plaquettes et se lie avec le VEGF plaquettaire constituant ainsi une réserve naturelle. La concentration sanguine des antiangiogéniques est un facteur clef de l'activité. La courbe effet-dose est biphasique pour certains antiangiogéniques. Si la concentration est trop importante ou trop faible l'inhibiteur risque de ne pas être actif comme il a été démontré avec l'Endostatine.

Les effets indésirables sont différents entre la chimiothérapie standard et la thérapie antiangiogénique

La Myélosuppression, l'alopécie, les vomissements sévères, les diarrhées et l'altération de l'état général sont moins fréquents avec la thérapie antiangiogénique

4-2 Régulation génétique de l'angiogénèse

Il existe un polymorphisme génétique touchant les facteurs angiogéniques endogènes qui se répercute dans le traitement. Ceci est particulièrement important pour les inhibiteurs endogènes de l'angiogénèse et a été démontré avec l'Endostatine. Le polymorphisme se révèle par une activité endogène des antiangiogéniques différents d'un individu à l'autre. Une corrélation entre les niveaux d'Endostatine et la susceptibilité individuelle a été montrée in vivo chez la souris. Ces modifications génétiques ont des conséquences cliniques : La tumeur est moins vascularisée et nécessitera une dose plus faible d'inhibiteurs angiogéniques que celle requise pour une tumeur plus richement vascularisée. L'hétérogénéité génétique se traduit par des réponses différentes. C'est pourquoi il est nécessaire de développer des biomarqueurs quantifiables dans le sang et l'urine pour optimiser les doses d'antiangiogéniques.

4-3 Thérapie antiangiogénique et résistance au traitement

Les cellules endothéliales peuvent devenir résistantes à la thérapie antiangiogénique si une monothérapie est instaurée et agit sur une protéine angiogénique comme le VEGF. Quand l'expression d'une protéine angiogénique est supprimée pendant une longue période, l'expression d'autres protéines angiogéniques peuvent alors émerger. Le mécanisme de cette réponse compensatoire n'est pas encore expliqué. Certains inhibiteurs ciblent jusqu'à 3 protéines angiogéniques, alors que d'autres ciblent une large série (tableau 10).

En règle générale les résistances sont rares car les cellules endothéliales sont génétiquement stables mais au sein de la tumeur, il a été montré chez la souris qu'elles peuvent devenir instables génétiquement.

Bien que le VEGF soit produit par 60% des tumeurs, d'autres protéines angiogéniques sont produites en quantité allant de 5 à 8 protéines différentes selon les tumeurs.

(Folkman, 2006 ; Folkman, 2007)

Mécanismes	Médicament	Action
<i>groupe 1</i>		
Blocage d'une protéine principale de l'angiogénèse	Bevacizumab	Blocage du VEGF
	VEGF Trap	
<i>groupe 2</i>		
Blocage de 2 ou 3 protéines principales de l'angiogénèse	Sutent	inactive le VEGFR-2, le PDGFR et le cKIT R R: récepteur
	Tarceva	Diminue la production de VEGF et bFGF
<i>Groupe 3</i>		
Blocage de toute une série de régulateurs de l'angiogénèse	Endostatin	Diminue le VEGF, le bFGF, inactive le bFGFR et l'EGFR

Tableau 11: Classement de quelques inhibiteurs de l'angiogénèse en 3 groupes déterminés en fonction du nombre de leur(s) cible(s) (Folkman, 2007)

Certaines tumeurs, les angioblastomes, produisent une protéine angiogénique principale comme le bFGF, et dont la production reste stable. Pour cette raison, une faible dose quotidienne d'interféron alpha pendant 1 à 3 ans est suffisante pour passer de taux anormalement élevés de bFGF dans les urines des patients à des taux normaux.

Actuellement, la majorité des inhibiteurs angiogéniques approuvés par la FDA ou en développement clinique de phase III, neutralisent une seule protéine comme le VEGF par exemple ou son récepteur. Quand une résistance à ce type d'inhibiteur apparaît, elle est souvent perçue comme s'appliquant à toute la classe des antiangiogéniques. Cela revient à observer que des inhibiteurs angiogéniques ciblant une large série de protéines développeront moins de résistance

que ceux ciblant uniquement une seule protéine. Il est nécessaire d'avoir un inhibiteur qui a un spectre d'action le plus large possible pour diminuer ce risque de résistance.

4-4 Monothérapie antiangiogénique

Le premier inhibiteur angiogénique homologué par la FDA, l'Avastin® (Bevacizumab), bloque une seule protéine, le VEGF, produite par environ 60% des tumeurs. C'était le premier inhibiteur angiogénique montrant une prolongation significative de la survie dans le cancer du colon. Une augmentation significative de la survie a aussi été démontrée dans le cancer du sein et du poumon par la thérapie antiangiogénique. Cependant, des formes avancées de cancer du sein peuvent exprimer jusqu'à 6 protéines pro-angiogéniques, dans le cas du neuroblastome et au moins 4 dont le VEGF, bFGF, IL-8 et PDGF dans le cancer de la prostate. De telles tumeurs peuvent devenir réfractaires à un inhibiteur angiogénique qui bloque un seul facteur angiogénique. Le résultat se traduit par l'acquisition d'une résistance des cellules tumorales vis-à-vis de la chimiothérapie cytotoxique.

La résistance à la thérapie antiangiogénique est différente de la résistance des tumeurs à la chimiothérapie cytotoxique, et peut être prévenue. Pour prévenir un tel potentiel de résistance, des combinaisons d'inhibiteurs angiogéniques sont déjà utilisés pour élargir le champ d'action thérapeutique. Ces approches incluent l'association Avastin® et le Tarceva® ou Avastin® et de la chimiothérapie. Dans les prochaines années il est probable que la thérapie antiangiogénique à large spectre soit répandue et incluse dans les recommandations thérapeutiques.

Conclusion Générale

Les données récentes d'essais cliniques évaluant des inhibiteurs de l'angiogénèse tumorale ciblant une seule protéine angiogénique ne suffisent pas à combattre sur du long terme les nombreux facteurs angiogéniques produits par les cellules cancéreuses. Le challenge pour les années à venir est de définir précisément les bases moléculaires et les voies de signalisation de l'angiogénèse tumorale pour aboutir au développement de thérapeutiques efficaces et bien tolérées. Le suivi de l'efficacité du traitement par un antiangiogénique nécessite le développement de nouveaux tests biologiques pour optimiser la thérapeutique. Le Lénalidomide est une nouvelle molécule immunomodulatrice et antiangiogénique en plein développement. En effet elle vient d'obtenir une autorisation de mise sur le marché en 2007 dans le traitement du myélome multiple réfractaire ou en rechute à un traitement de première intention. Les résultats des essais montrent qu'elle est efficace en association et particulièrement avec la Dexaméthasone dont l'association est synergique. Cependant sa situation parmi les antiangiogéniques antitumoraux est difficile à établir en raison de l'absence d'essais comparatifs. De plus en raison de sa jeunesse, le Lénalidomide n'a été étudié que dans trois hémopathies malignes. Actuellement il existe dans le monde 65 essais cliniques de phase II et III qui évaluent le Lénalidomide dans les trois hémopathies malignes développées dans cette thèse (National Cancer Institute, Clinical Trials, Octobre 2008). Les résultats encourageants des petits essais de phase I et II ont donc créé un engouement pour ce médicament. Il est intéressant de constater qu'il est actuellement évalué dans des tumeurs solides comme le cancer de la prostate, le glioblastome, le cancer hépatocellulaire. Il faut noter que deux essais de phase I sont en cours pour évaluer l'utilisation du Lénalidomide chez l'enfant. Les résultats de ces études permettront de bien situer le Lénalidomide au sein de la classe des antiangiogéniques antitumoraux.

Bibliographie

- Abdollahi A., Hahnfeldt P., Maercker C., Grone H. J., Debus J., Ansorge W., Folkman J., Hlatky L. and Huber P. E., (2004). "Endostatin's antiangiogenic signaling network." Mol Cell **13**(5): 649-63.
- Abe M. and Sato Y., (2001). "cDNA microarray analysis of the gene expression profile of VEGF-activated human umbilical vein endothelial cells." Angiogenesis **4**(4): 289-98.
- Adams J., (2001). "Proteasome inhibition in cancer: development of PS-341." Semin Oncol **28**(6): 613-9.
- Algire G., Chakely H., Legallais F. and H. P., (1945). "Vascular reactions of normal and malignant tumors in vivo.I. Vascular reactions of mice to wounds and to normal and neoplastic transplants." J. Natl Cancer Inst **6**: 12.
- Armoiry X., Aulagner G. and Facon T., (2008). "Lenalidomide in the treatment of multiple myeloma: a review." J Clin Pharm Ther **33**(3): 219-26.
- Barlogie B., Desikan R., Eddlemon P., Spencer T., Zeldis J., Munshi N., Badros A., Zangari M., Anaissie E., Epstein J., Shaughnessy -J., Ayers D., Spoon D. and Tricot G., (2001). "Extended survival in advanced and refractory multiple myeloma after single-agent thalidomide: identification of prognostic factors in a phase 2 study of 169 patients." Blood **98**(2): 492-4.
- Baz R.E.Walker et al; "Lenalidomide and pegylated liposomal doxorubicin based chemotherapy for relapsed or refractory multiple myeloma: safety and efficacy" Annal Oncol **17**(12):1766-
- Bergers G., Javaherian K., Lo K. M., Folkman J. and Hanahan D., (1999). "Effects of angiogenesis inhibitors on multistage carcinogenesis in mice." Science **284**(5415): 808-12.
- Bikfalvi A., (2003). "[Tumor angiogenesis]." Bull Cancer **90**(5): 449-58.
- Bikfalvi A., (2005). cancérologie fondamentale.
- Blackhall F. H., Merry C. L., Lyon M., Jayson G. C., Folkman J., Javaherian K. and Gallagher J. T., (2003). "Binding of endostatin to endothelial heparan sulphate shows a differential requirement for specific sulphates." Biochem J **375**(Pt 1): 131-9.
- Blade J., Esteve J., Rosinol L., Perales M., Montoto S., Tuset M. and Montserrat E., (2001). "Thalidomide in refractory and relapsing multiple myeloma." Semin Oncol **28**(6): 588-92.
- Boyer J. E., Batra R. B., Ascensao J. L. and Schechter G. P., (2006). "Severe pulmonary complication after bortezomib treatment for multiple myeloma." Blood **108**(3): 1113.
- Brogi E., Wu T., Namiki A. and Isner J. M., (1994). "Indirect angiogenic cytokines upregulate VEGF and bFGF gene expression in vascular smooth muscle cells, whereas hypoxia upregulates VEGF expression only." Circulation **90**(2): 649-52.
- Brooks P. C., Clark R. A. and Cheresh D. A., (1994). "Requirement of vascular integrin alpha v beta 3 for angiogenesis." Science **264**(5158): 569-71.
- Calvani M., Rapisarda A., Uranchimeg B., Shoemaker R. H. and Melillo G., (2006). "Hypoxic induction of an HIF-1alpha-dependent bFGF autocrine loop drives angiogenesis in human endothelial cells." Blood **107**(7): 2705-12.
- Carmeliet P., (2003). "Angiogenesis in health and disease." Nat Med **9**(6): 653-60.
- Carmeliet P., (2004). "Manipulating angiogenesis in medicine." J Intern Med **255**(5): 538-61.
- Carmeliet P., (2005). "Angiogenesis in life, disease and medicine." Nature **438**(7070): 932-6.
- Carmeliet P. and Jain R. K., (2000). "Angiogenesis in cancer and other diseases." Nature **407**(6801): 249-57.
- Couffignal T., Dufourcq P., Daret D. and Duplaa C., (2001). "[The mechanisms of angiogenesis. Medical and therapeutic applications]." Rev Med Interne **22**(11): 1064-82.
- Cunningham S. A., Waxham M. N., Arrate P. M. and Brock T. A., (1995). "Interaction of the Flt-1 tyrosine kinase receptor with the p85 subunit of phosphatidylinositol 3-kinase. Mapping of a novel site involved in binding." J Biol Chem **270**(35): 20254-7.
- Dimopoulos M., Spencer A., Attal M., Prince H. M., Harousseau J. L., Dmoszynska A., San Miguel J., Hellmann A., Facon T., Foa R., Corso A., Masliak Z., Olesnyckij M., Yu Z., Patin J., (2007). "Lenalidomide plus dexamethasone for relapsed or refractory multiple myeloma." N Engl J Med **357**(21): 2123-32.
- Dong X., Han Z. C. and Yang R., (2007). "Angiogenesis and antiangiogenic therapy in hematologic malignancies." Crit Rev Oncol Hematol **62**(2): 105-18.
- Dor Y., Porat R. and Keshet E., (2001). "Vascular endothelial growth factor and vascular adjustments to perturbations in oxygen homeostasis." Am J Physiol Cell Physiol **280**(6): C1367-74.
- Drugdex evaluations (2008). Bortezomib, Thomson MICROMEDEX Healthcare Series.
- Drugdex evaluations (2008). Lenalidomide, Thomson Micromedex Healthcare Series.
- Drugdex evaluations (2008). Thalidomide, Thomson MICROMEDEX Healthcare Series.
- European Medicines Agency (2008). Lenalidomide Celgene Europe was expected to be used to treat anaemia (low red blood cell counts) caused by myelodysplastic syndromes, European Medicines Agency (EMA).

-European Medicines Agency (2008). lenalidomide for the treatment of chronic lymphocytic leukaemia lenalidomide for the treatment of chronic lymphocytic leukaemia, European Medicines Agency.

-Ferrajoli A., Lee B. N., Schlette E. J., O'Brien S. M., Gao H., Wen S., Wierda W. G., Estrov Z., Faderl S., Cohen E. N., Li C., -Reuben J. M. and Keating M. J., (2008). "Lenalidomide induces complete and partial remissions in patients with relapsed and refractory chronic lymphocytic leukemia." Blood **111**(11): 5291-7.

-Ferrara N., (1996). "Vascular endothelial growth factor." Eur J Cancer **32A**(14): 2413-22.

-Ferrara N., (1999). "Role of vascular endothelial growth factor in the regulation of angiogenesis." Kidney Int **56**(3): 794-814.

-Folberg R., Hendrix M. J. and Maniotis A. J., (2000). "Vasculogenic mimicry and tumor angiogenesis." Am J Pathol **156**(2): 361-81.

-Folkman J., (1971). "Tumor angiogenesis: therapeutic implications." N Engl J Med **285**(21): 1182-6.

-Folkman J., (2006). "Angiogenesis." Annu Rev Med **57**: 1-18.

-Folkman J., (2006). "Antiangiogenesis in cancer therapy--endostatin and its mechanisms of action." Exp Cell Res **312**(5): 594-607.

-Folkman J., (2007). "Angiogenesis: an organizing principle for drug discovery?" Nat Rev Drug Discov **6**(4): 273-86.

-Folkman J., (2007). "Is angiogenesis an organizing principle in biology and medicine?" J Pediatr Surg **42**(1): 1-11.

-Folkman J. and Shing Y., (1992). "Angiogenesis." J Biol Chem **267**(16): 10931-4.

Friesel R. E. and Maciag T., (1995). "Molecular mechanisms of angiogenesis: fibroblast growth factor signal transduction." Faseb J **9**(10): 919-25.

-Gerber H. P., Condorelli F., Park J. and Ferrara N., (1997). "Differential transcriptional regulation of the two vascular endothelial growth factor receptor genes. Flt-1, but not Flk-1/KDR, is up-regulated by hypoxia." J Biol Chem **272**(38): 23659-67.

-Giordano F. J., Ping P., McKirnan M. D., Nozaki S., DeMaria A. N., Dillmann W. H., Mathieu-Costello O. and Hammond H. K., (1996). "Intracoronary gene transfer of fibroblast growth factor-5 increases blood flow and contractile function in an ischemic region of the heart." Nat Med **2**(5): 534-9.

-Glasmacher A., Hahn C., Hoffmann F., Naumann R., Goldschmidt H., von Lilienfeld-Toal M., Orlopp K., Schmidt-Wolf I. and Gorschluter M., (2006). "A systematic review of phase-II trials of thalidomide monotherapy in patients with relapsed or refractory multiple myeloma." Br J Haematol **132**(5): 584-93.

-Greenblatt M. and Shubi P., (1968). "Tumor angiogenesis: transfilter diffusion studies in the hamster by the transparent chamber technique." J Natl Cancer Inst **41**(1): 111-24.

-Gupta S. K. and Singh J. P., (1994). "Inhibition of endothelial cell proliferation by platelet factor-4 involves a unique action on S phase progression." J Cell Biol **127**(4): 1121-7.

-Hagedorn M. and Bikfalvi A., (2000). "Target molecules for anti-angiogenic therapy: from basic research to clinical trials." Crit Rev Oncol Hematol **34**(2): 89-110.

-Harris A. L., (2002). "Hypoxia--a key regulatory factor in tumour growth." Nat Rev Cancer **2**(1): 38-47.

-HAS (Haute Autorité de Santé) (2007). Commission de la transparence Avis du 10 octobre 2007- REVLIMID CT-4856 HAS.

-HAS H. A. d. S. (2007). Commission de la transparence Avis du 10 octobre 2007- REVLIMID CT-4856 HAS.

-Hashimoto Y., (2002). "Structural development of biological response modifiers based on thalidomide." Bioorg Med Chem **10**(3): 461-79.

-Hideshima T., Mitsiades C., Akiyama M., Hayashi T., Chauhan D., Richardson P., Schlossman R., Podar K., Munshi N. C., Mitsiades N. and Anderson K. C., (2003). "Molecular mechanisms mediating antimyeloma activity of proteasome inhibitor PS-341." Blood **101**(4): 1530-4.

-Hideshima T., Raje N., Richardson P. G. and Anderson K. C., (2008). "A review of lenalidomide in combination with dexamethasone for the treatment of multiple myeloma." Ther Clin Risk Manag **4**(1): 129-36.

-Hideshima T., Richardson P., Chauhan D., Palombella V. J., Elliott P. J., Adams J. and Anderson K. C., (2001). "The proteasome inhibitor PS-341 inhibits growth, induces apoptosis, and overcomes drug resistance in human multiple myeloma cells." Cancer Res **61**(7): 3071-6.

-Holmgren L., O'Reilly M. S. and Folkman J., (1995). "Dormancy of micrometastases: balanced proliferation and apoptosis in the presence of angiogenesis suppression." Nat Med **1**(2): 149-53.

-<http://www.cancer.gov> National Cancer Institute.

-Hus M., Dmoszynska A., Soroka-Wojtaszko M., Jawniak D., Legiec W., Ciepnuch H., Hellmann A., Wolska-Smolon T., Skotnicki A. and Manko J., (2001). "Thalidomide treatment of resistant or relapsed multiple myeloma patients." Haematologica **86**(4): 404-8.

-Jagannath S., Barlogie B., Berenson J., Siegel D., Irwin D., Richardson P. G., Niesvizky R., Alexanian R., Limentani S. A., Alsina M., Adams J., Kauffman M., Esseltine D. L., Schenkein D. P. and Anderson K. C., (2004). "A phase 2 study of two doses of bortezomib in relapsed or refractory myeloma." Br J Haematol **127**(2): 165-72.

-Joukov V., Pajusola K., Kaipainen A., Chilov D., Lahtinen I., Kukk E., Saksela O., Kalkkinen N. and Alitalo K., (1996). "A novel vascular endothelial growth factor, VEGF-C, is a ligand for the Flt4 (VEGFR-3) and KDR (VEGFR-2) receptor tyrosine kinases." Embo J **15**(2): 290-98.

-Juliussen G., Celsing F., Turesson I., Lenhoff S., Adriansson M. and Malm C., (2000). "Frequent good partial remissions from thalidomide including best response ever in patients with advanced refractory and relapsed myeloma." Br J Haematol **109**(1): 89-96.

-Kerbel R. S., (2000). "Tumor angiogenesis: past, present and the near future." Carcinogenesis **21**(3): 505-15.

-Klein S., Bikfalvi A., Birkenmeier T. M., Giancotti F. G. and Rifkin D. B., (1996). "Integrin regulation by endogenous expression of 18-kDa fibroblast growth factor-2." J Biol Chem **271**(37): 22583-90.

-Klein S., Giancotti F. G., Presta M., Albelda S. M., Buck C. A. and Rifkin D. B., (1993). "Basic fibroblast growth factor modulates integrin expression in microvascular endothelial cells." Mol Biol Cell **4**(10): 973-82.

-Kneller A., Raanani P., Hardan I., Avigdor A., Levi I., Berkowicz M. and Ben-Bassat I., (2000). "Therapy with thalidomide in refractory multiple myeloma patients - the revival of an old drug." Br J Haematol **108**(2): 391-3.

-Kropff M. H., Bisping G., Wenning D., Volpert S., Tchinda J., Berdel W. E. and Kienast J., (2005). "Bortezomib in combination with dexamethasone for relapsed multiple myeloma." Leuk Res **29**(5): 587-90.

Laboratoire Celgene (2007). Dossier Lenalidomide.

-LeBlanc R., Catley L. P., Hideshima T., Lentzsch S., Mitsiades C. S., Mitsiades N., Neuberg D., Goloubeva O., Pien C. S., Adams J., Gupta D., Richardson P. G., Munshi N. C. and Anderson K. C., (2002). "Proteasome inhibitor PS-341 inhibits human myeloma cell growth in vivo and prolongs survival in a murine model." Cancer Res **62**(17): 4996-5000.

-Lim M. S., (2006). "Re: Correlational of oral tongue cancer invasion with matrix metalloproteinases (MMPs) and vascular endothelial growth factor (VEGF) expression, by Kim S-H, Cho NH, Kim K, et al." J Surg Oncol **93**(4): 253-4.

-List A., Dewald G., Bennett J., Giagounidis A., Raza A., Feldman E., Powell B., Greenberg P., Thomas D., Stone R., Reeder C., Wride K., Patin J., Schmidt M., Zeldis J., (2006). "Lenalidomide in the myelodysplastic syndrome with chromosome 5q deletion." N Engl J Med **355**(14): 1456-65.

-Lyden D., Hattori K., Dias S., Costa C., Blaikie P., Butros L., Chadburn A., Heissig B., Marks W., Witte L., Wu Y., Hicklin D., Zhu Z., Hackett N. R., Crystal R. G., (2001). "Impaired recruitment of bone-marrow-derived endothelial and hematopoietic precursor cells blocks tumor angiogenesis and growth." Nat Med **7**(11): 1194-201.

-Mandriota S. J. and Pepper M. S., (1998). "Regulation of angiopoietin-2 mRNA levels in bovine microvascular endothelial cells by cytokines and hypoxia." Circ Res **83**(8): 852-9.

-Martindale (2008). Lenalidomide, MICROMEDEX Healthcare Series,.

McDonald D. M., Munn L. and Jain R. K., (2000). "Vasculogenic mimicry: how convincing, how novel, and how significant?" Am J Pathol **156**(2): 383-8.

-Melchert M. and List A., (2007). "The thalidomide saga." Int J Biochem Cell Biol **39**(7-8): 1489-99.

-Morgan G.J., S.A. Schey, Wu, P.Srikanth, M.Phekoo, K. J.Jenner, M.Davies, F. E. (2007). " Lenalidomide (Revlimid), in combination with cyclophosphamide and dexamethasone (RCD), is an effective and tolerated regimen for myeloma patients" Br J Haematol **137**(3): 268-9

-Morikawa S., Baluk P., Kaidoh T., Haskell A., Jain R. K. and McDonald D. M., (2002). "Abnormalities in pericytes on blood vessels and endothelial sprouts in tumors." Am J Pathol **160**(3): 985-1000.

-Mukhopadhyay D., Tsiokas L., Zhou X. M., Foster D., Brugge J. S. and Sukhatme V. P., (1995). "Hypoxic induction of human vascular endothelial growth factor expression through c-Src activation." Nature **375**(6532): 577-81.

-National Cancer Institute (2008). Clinical Trials, Lenalidomide, U.S. National Institutes of Health.

-O'Reilly M. S., Boehm T., Shing Y., Fukai N., Vasios G., Lane W. S., Flynn E., Birkhead J. R., Olsen B. R. and Folkman J., (1997). "Endostatin: an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth." Cell **88**(2): 277-85.

-Olofsson B., Pajusola K., Kaipainen A., von Euler G., Joukov V., Saksela O., Orpana A., Pettersson R. F., Alitalo K. and Eriksson U., (1996). "Vascular endothelial growth factor B, a novel growth factor for endothelial cells." Proc Natl Acad Sci U S A **93**(6): 2576-81.

-ONCOLOR (2006). REFERENTIELS Myélome Multiple.

-ONCOLOR (2006). REFERENTIELS Syndromes myélodysplasiques.

-Palumbo A., Miguel J. S., Sonneveld P., Moreau P., Drach J., Morgan G. and Einsele H., (2008). "Lenalidomide: a new therapy for multiple myeloma." Cancer Treat Rev **34**(3): 283-91.

-Pande A., Lombardo J., Spangenthal E. and Javle M., (2007). "Hypertension secondary to anti-angiogenic therapy: experience with bevacizumab." Anticancer Res **27**(5B): 3465-70.

-Pandya N. M., Dhalla N. S. and Santani D. D., (2006). "Angiogenesis--a new target for future therapy." Vascul Pharmacol **44**(5): 265-74.

-Partanen J., Vainikka S. and Alitalo K., (1993). "Structural and functional specificity of FGF receptors." Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci **340**(1293): 297-303.

-Perollet C., Han Z. C., Savona C., Caen J. P. and Bikfalvi A., (1998). "Platelet factor 4 modulates fibroblast growth factor 2 (FGF-2) activity and inhibits FGF-2 dimerization." Blood **91**(9): 3289-99.

-Pinguet D. F., (2003). "Angiogenèse tumorale et anti-angiogènes." SFPO, conférence

-Platzbecker U., Meredyth-Stewart M., Ehninger G., (2007). "The pathogenesis of myelodysplastic syndromes (MDS)." Cancer Treatment Reviews **33**: 6.

-Prince H. M., Schenkel B. and Mileskin L., (2007). "An analysis of clinical trials assessing the efficacy and safety of single-agent thalidomide in patients with relapsed or refractory multiple myeloma." Leuk Lymphoma **48**(1): 46-55.

- Pugh C. W. and Ratcliffe P. J., (2003). "Regulation of angiogenesis by hypoxia: role of the HIF system." Nat Med **9**(6): 677-84.
- Rajkumar S. V., Fonseca R., Dispenzieri A., Lacy M. Q., Lust J. A., Witzig T. E., Kyle R. A., Gertz M. A. and Greipp P. R., (2000). "Thalidomide in the treatment of relapsed multiple myeloma." Mayo Clin Proc **75**(9): 897-901.
- Rajkumar S. V., Gertz M. A., Lacy M. Q., Dispenzieri A., Fonseca R., Geyer S. M., Iturria N., Kumar S., Lust J. A., Kyle R. A., Greipp P. R. and Witzig T. E., (2003). "Thalidomide as initial therapy for early-stage myeloma." Leukemia **17**(4): 775-9.
- Rajkumar S. V., Hayman S. R., Lacy M. Q., Dispenzieri A., Geyer S. M., Kabat B., Zeldenrust S. R., Kumar S., Greipp P. R., Fonseca R., Lust J. A., Russell S. J., Kyle R. A., Witzig T. E. and Gertz M. A., (2005). "Combination therapy with lenalidomide plus dexamethasone (Rev/Dex) for newly diagnosed myeloma." Blood **106**(13): 4050-3.
- Rak J. and Kerbel R. S., (2001). "Ras regulation of vascular endothelial growth factor and angiogenesis." Methods Enzymol **333**: 267-83.
- Richardson P. G., Barlogie B., Berenson J., Singhal S., Jagannath S., Irwin D. H., Rajkumar S. V., Srkalovic G., Alsina M. and Anderson K. C., (2006). "Extended follow-up of a phase II trial in relapsed, refractory multiple myeloma:: final time-to-event results from the SUMMIT trial." Cancer **106**(6): 1316-9.
- Richardson P. G., Schlossman R. L., Weller E., Hideshima T., Mitsiades C., Davies F., LeBlanc R., Catley L. P., Doss D., Kelly K., McKenney M., Mechlowicz J., Freeman A., Deocampo R., Rich R., (2002). "Immunomodulatory drug CC-5013 overcomes drug resistance and is well tolerated in patients with relapsed multiple myeloma." Blood **100**(9): 3063-7.
- Risau W., (1997). "Mechanisms of angiogenesis." Nature **386**(6626): 671-4.
- Risau W., (1998). "Angiogenesis is coming of age." Circ Res **82**(8): 926-8.
- Rodriguez-Manzanique J. C., Lane T. F., Ortega M. A., Hynes R. O., Lawler J. and Iruela-Arispe M. L., (2001). "Thrombospondin-1 suppresses spontaneous tumor growth and inhibits activation of matrix metalloproteinase-9 and mobilization of vascular endothelial growth factor." Proc Natl Acad Sci U S A **98**(22): 12485-90.
- Rosen L. S., (2005). "VEGF-targeted therapy: therapeutic potential and recent advances." Oncologist **10**(6): 382-91.
- San Miguel J., Blade J., Boccadoro M., Cavenagh J., Glasmacher A., Jagannath S., Lonial S., Orlowski R. Z., Sonneveld P. and Ludwig H., (2006). "A practical update on the use of bortezomib in the management of multiple myeloma." Oncologist **11**(1): 51-61.
- Sato Y., (2003). "Molecular diagnosis of tumor angiogenesis and anti-angiogenic cancer therapy." Int J Clin Oncol **8**(4): 200-6.
- Senger D. R., Van de Water L., Brown L. F., Nagy J. A., Yeo K. T., Yeo T. K., Berse B., Jackman R. W., Dvorak A. M. and Dvorak H. F., (1993). "Vascular permeability factor (VPF, VEGF) in tumor biology." Cancer Metastasis Rev **12**(3-4): 303-24.
- Shchors K. and Evan G., (2007). "Tumor angiogenesis: cause or consequence of cancer?" Cancer Res **67**(15): 7059-61.
- Shweiki D., Neeman M., Itin A. and Keshet E., (1995). "Induction of vascular endothelial growth factor expression by hypoxia and by glucose deficiency in multicell spheroids: implications for tumor angiogenesis." Proc Natl Acad Sci U S A **92**(3): 768-72.
- Singhal S., Mehta J., Desikan R., Ayers D., Roberson P., Eddlemon P., Munshi N., Anaissie E., Wilson C., Dhodapkar M., Zeddis J. and Barlogie B., (1999). "Antitumor activity of thalidomide in refractory multiple myeloma." N Engl J Med **341**(21): 1565-71.
- Stetler-Stevenson W. G., (1999). "Matrix metalloproteinases in angiogenesis: a moving target for therapeutic intervention." J Clin Invest **103**(9): 1237-41.
- Stewart A. K., Chen C. I., Howson-Jan K., White D., Roy J., Kovacs M. J., Shustik C., Sadura A., Shepherd L., Ding K., Meyer R. M. and Belch A. R., (2004). "Results of a multicenter randomized phase II trial of thalidomide and prednisone maintenance therapy for multiple myeloma after autologous stem cell transplant." Clin Cancer Res **10**(24): 8170-6.
- Sundberg C., Kowanetz M., Brown L. F., Detmar M. and Dvorak H. F., (2002). "Stable expression of angiopoietin-1 and other markers by cultured pericytes: phenotypic similarities to a subpopulation of cells in maturing vessels during later stages of angiogenesis in vivo." Lab Invest **82**(4): 387-401.
- Suri C., McClain J., Thurston G., McDonald D. M., Zhou H., Oldmixon E. H., Sato T. N. and Yancopoulos G. D., (1998). "Increased vascularization in mice overexpressing angiopoietin-1." Science **282**(5388): 468-71.
- Tanaka T., Manome Y., Wen P., Kufe D. W. and Fine H. A., (1997). "Viral vector-mediated transduction of a modified platelet factor 4 cDNA inhibits angiogenesis and tumor growth." Nat Med **3**(4): 437-42.
- The Angiogenesis Foundation (2008). About angiogenesis, Historical Highlights.
- Tosi P., Zamagni E., Cellini C., Ronconi S., Patriarca F., Ballerini F., Musto P., Di Raimondo F., Ledda A., Lauria F., Masini L., Gobbi M., Vacca A., Ria R., Cangini D., (2002). "Salvage therapy with thalidomide in patients with advanced relapsed/refractory multiple myeloma." Haematologica **87**(4): 408-14.
- Waltenberger J., Claesson-Welsh L., Siegbahn A., Shibuya M. and Heldin C. H., (1994). "Different signal transduction properties of KDR and Flt1, two receptors for vascular endothelial growth factor." J Biol Chem **269**(43): 26988-95.

- Weber D. M., Chen C., Niesvizky R., Wang M., Belch A., Stadtmauer E. A., Siegel D., Borrello I., Rajkumar S. V., Chanan-Khan A. A., Lonial S., Yu Z., Patin J., Olesnyckyj M., Zeldis J. B., (2007). "Lenalidomide plus dexamethasone for relapsed multiple myeloma in North America." N Engl J Med **357**(21): 2133-42.
- Zetter B. R., (1998). "Angiogenesis and tumor metastasis." Annu Rev Med **49**: 407-24.

Annexe 1

Classification de Durie et Salmon du myélome multiple

Cette classification, dite de Durie et Salmon, est basée sur la masse tumorale. Elle comprend trois stades et une sous-classification.

Stade I - Myélome de faible masse tumorale

- 1 - Hémoglobine > 100 g/l
- 2 - Calcémie < 120 mg/l (3 mmol/l)
- 3 - Absence de lésion osseuse ou un plasmocytome osseux isolé
- 4 - Taux d'Ig monoclonale faible :
 - IgG < 50 g/l
 - IgA < 30 g/l
- Protéinurie de Bence Jones < 4 g/24 h.

Tous les critères suivants
sont présents

Stade II - Myélome de masse tumorale intermédiaire

Ne répond à la définition ni du stade I, ni du stade III.

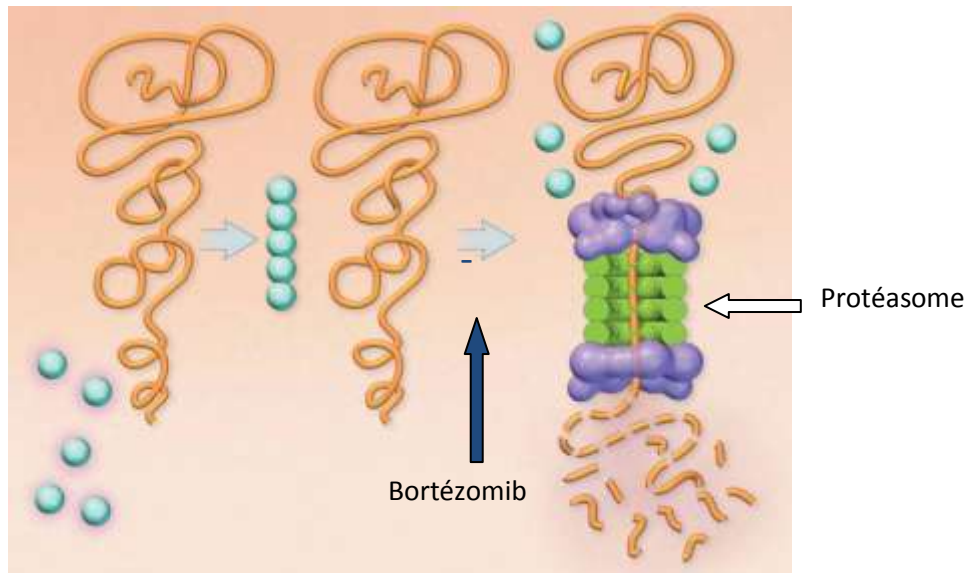
Stade III - Myélome de forte masse tumorale

Présence d'au moins un des critères suivants :

- 1 - Hémoglobine < 85 g/l
 - 2 - Calcémie > 120 mg/l (3 mmol/l)
 - 3 - Lésions osseuses multiples
 - 4 - Taux élevé d'Ig monoclonale :
 - IgG > 70 g/l
 - IgA > 50 g/l
 - Protéinurie de Bence Jones > 12 g/24 h
- (ONCOLOR, 2006)

Annexe 2 : Classification de la gravité du syndrome myélodysplasique

Annexe 3 : Le Bortézomib



Le Bortézomib :

Mécanisme d'action du Bortézomib.

Le Bortézomib inhibe l'activité du protéasome 26S qui a une fonction de dégradation après le processus d'ubiquitination. Le Bortezomib inhibe l'activité catalytique du protéasome, prévenant ainsi la protéolyse.

Il est approuvé dans le traitement du myélome multiple en première intention en association avec le Melphalan et la Prédnisone et en 2^{ème} ligne de traitement en monothérapie.

Annexe 4 : Leucémie lymphoïde chronique

Nom-Prénoms : Schmid-Deniau Anne-Laure

Titre du mémoire-thèse :

Situation du Lénalidomide dans la classe des antiangiogéniques antitumoraux

Résumé du mémoire –thèse :

L'angiogénèse tumorale a été décrite dès 1971 par Judah Folkman comme un processus conduisant à l'augmentation de la vascularisation de la tumeur. La compréhension du mécanisme de l'angiogénèse tumorale a permis l'élaboration de nouvelles molécules antiangiogéniques. Le Lénalidomide, un immunomodulateur dérivé du Thalidomide, a de nombreux effets dont un effet antiangiogénique démontré in vitro. Il s'agit d'une nouvelle molécule qui vient d'avoir une autorisation de mise sur le marché en 2007 dans l'indication du traitement du myélome multiple réfractaire ou en rechute. Ses propriétés le rendent intéressant dans le traitement de cancers ayant une composante angiogénique. C'est pourquoi il s'agit d'une molécule en plein essor dont l'activité et la tolérance sont à situer dans la nouvelle classe des antiangiogéniques antitumoraux.

MOTS CLEFS :

Angiogenèse tumorale, Lénalidomide, Antiangiogéniques, Cancer

JURY

PRESIDENT : M Jean-Yves Petit, Professeur de Pharmacologie

Faculté de Pharmacie de Nantes

DIRECTEUR DE THESE : M Alain B. Legrand, Professeur de Pharmacologie

Faculté de Pharmacie, Rennes

MEMBRES DU JURY :

Mme Gwenola BURGOT, Praticien Hospitalier, Professeur de pharmacie analytique - Rennes

M. Jacques-Philippe MOULINOX, Praticien Hospitalier, Professeur de biologie cellulaire - Rennes

M. Loïc JAVAUDIN, Praticien Hospitalier – Pharmacien - Rennes

Adresse de l'auteur : Anne-Laure Deniau, Bâtiment C, 2 Bd Saint Conwoion, 35 000 Rennes