



**HAL**  
open science

# Myélome multiple et maladie thrombo-embolique veineuse : aspects épidémiologiques, économiques, physiopathologiques et pharmacologiques

Emilie Chalayer

► **To cite this version:**

Emilie Chalayer. Myélome multiple et maladie thrombo-embolique veineuse : aspects épidémiologiques, économiques, physiopathologiques et pharmacologiques. Cardiologie et système cardiovasculaire. Université Jean Monnet - Saint-Etienne, 2015. Français. NNT : 2015STET007T . tel-01552631

**HAL Id: tel-01552631**

**<https://theses.hal.science/tel-01552631>**

Submitted on 3 Jul 2017

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**Université Jean Monnet – Saint Etienne**

Thèse

Présentée

Pour l'obtention du grade de Docteur en Sciences

Ecole Doctorale 488 Saint-Etienne, Sciences, Ingénierie, Santé

par

**Madame Emilie CHALAYER**

Née le 16 juillet 1985 à Saint Etienne (Loire)

**Titre**

**Myélome Multiple et  
Maladie Thrombo-embolique Veineuse  
aspects épidémiologiques, économiques, physiopathologiques et  
pharmacologiques**

**Laboratoire INSERM CIC 1408 – CHU St Etienne - EA3065**

**Directeur de thèse**

Professeur Bernard Tardy

Soutenue publiquement le 4 novembre 2015

**Membres du jury**

Professeur Karine Lacut (rapporteur)

Professeur Thomas Lecompte (rapporteur)

Docteur Brigitte Tardy-Poncet

Docteur Marie Toussaint-Hacquard

Professeur Denis Guyotat

Année 2015

## REMERCIEMENTS

### **A Monsieur le Professeur Bernard Tardy, directeur de thèse**

Quel chemin parcouru depuis le master! Je vous remercie de m'avoir donné l'opportunité de réaliser ce travail. Je suis admirative de votre enthousiasme et de votre énergie.

### **A Madame le Professeur Karine Lacut, rapporteur**

Je vous remercie de me consacrer de votre temps et de votre attention pour juger ce travail.

### **A Monsieur le Professeur Thomas Lecompte, rapporteur**

Je vous remercie de me faire l'honneur de participer à ce jury et me réjouis de futures collaborations avec votre équipe de recherche.

### **A Madame le Docteur Marie Toussaint-Hacquard**

Je vous remercie d'avoir accepté de siéger au sein de mon jury et pour l'intérêt porté à ce travail.

### **A Madame le Docteur Brigitte Tardy-Poncet**

Je vous remercie de m'avoir ouvert les portes du laboratoire de recherche d'hémostase et de m'avoir initié à l'art de la génération de thrombine.

### **A Monsieur le Professeur Denis Guyotat**

Je vous remercie de m'avoir accueilli dans le service d'hématologie, de m'avoir soutenu dans mes travaux de recherche et dans l'inclusion des patients dans mes études.

Merci à tous ceux qui m'ont apporté de l'aide notamment :

**Silvy Laporte**, MCU et **Céline Chapelle**, statisticienne, de l'Unité de Recherche Clinique Innovation et Pharmacologie

Le **Docteur Aurélie Bourmaud** et le statisticien du Centre Hygée **Fabien Tinquaut**

Les membres de l'équipe EA3065 du Groupe de Recherche sur la Thrombose et du CIC 1408 : **Michèle Piot et Aurélie Montmartin**, pour leur travail et leurs conseils techniques avisés

La secrétaire, **Edith Venet**

Enfin merci à tous les membres du Groupe de Recherche sur la Thrombose.

## ABREVIATIONS

ATIH : agence technique de l'information sur l'hospitalisation

AVC : accident vasculaire cérébral

VRD : bortézomid lénalidomide dexaméthasome

ACCP : American College of Chest Physicians

ASCO : American Society of Clinical Oncology

ASH : American Society of Hematology

bFGF : basic-Fibroblast Growth Factor

CMD : catégories majeures de diagnostic

Cox2 : cyclo-oxygénase-2

DIM : département d'information médicale

DMS : durée moyenne de séjour

ECCO : European CanCer Organisation

EPO : érythropoïétine

ESMO : European Society for Medical Oncology

ETE : évènement thromboembolique

ETP : potentiel endogène de génération de thrombine

FT : facteur tissulaire

FvW : facteur von Willebrand

GHM : groupe homogène de malades

GHS : groupe homogène de séjours

HBPM : héparine de bas poids moléculaire

IDM : infarctus du myocarde

IGF-1 : Insulin Like Growth Factor 1

IMiDs : immunomodulatory drugs (traitements immunomodulateurs)

IMWG : International Myeloma Working Group

ISTH : International Society on Thrombosis and Haemostasis

MM : myélome multiple

MMP : métalloprotéinases matricielles

MPT : thalidomide melphalan prednisone

MTE : maladie thromboembolique

MTEV : maladie thrombo-embolique veineuse  
NCCN : National Comprehensive Cancer Network  
NO : monoxyde d'azote  
PPP: plasma pauvre en plaquettes  
PRP: plasma riche en plaquettes  
PS : protéine S  
QALYs : quality-adjusted life years (qualité de vie ajustée)  
RSS : résumé de sortie standardisé  
TFPI : inhibiteur de la voie du facteur tissulaire  
TGF $\beta$  : Transforming Growth Factor  $\beta$   
TGT: test de génération de thrombine  
TIMP : inhibiteurs des métalloprotéinases matricielles  
TNF $\alpha$  : Tumor Necrosis Factor  $\alpha$   
VCD : bortézomid cyclophosphamide dexaméthasome  
VD : bortézomid dexaméthasome  
VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor  
VMP : bortézomid melphalan prednisone  
VTD : bortézomid thalidomide dexaméthasome

# SOMMAIRE

<b>I. INTRODUCTION BIBLIOGRAPHIQUE</b>	<b>8</b>
--	----------

A. Myélome multiple et risque thrombotique.....	8
B. La coagulation .....	9
1) Hémostase primaire et hémostase secondaire.....	9
2) Hémostase dans le myélome.....	10
3) Génération de thrombine, inhibiteur de la voie du facteur tissulaire et protéine S.....	11
C. Le thalidomide.....	13
1) Propriétés pharmacocinétiques.....	13
2) Mécanismes d'action.....	13
3) Thromboprophylaxie.....	16

**Article 1** : Myélome multiple *de novo* : Faut-il proposer une prophylaxie antithrombotique ?.....18

<b>II. DONNEES EPIDEMIOLOGIQUES</b>	<b>22</b>
-------------------------------------	-----------

A. Etude MELISSE.....	22
B. Introduction et problématique.....	22

**Article 2** : Usual risk factors do not predict venous thromboembolism in newly diagnosed myeloma treated with immunomodulatory therapy.....25

**Article 3** : The physician's ability to classify multiple myeloma receiving immunomodulatory therapy in low, intermediate or high risk of thrombosis in real-life practice is failing. ....34

### III. ETUDE MEDICO-ECONOMIQUE

40

A. Introduction.....	40
B. Problématiques et études.....	40

**Article 4** : The effect of low molecular weight heparin on survival in cancer patients: an updated systematic review and meta-analysis of randomized trials: comment.....42

**Article 5** : Cost-effectiveness analysis of low-molecular-weight heparin versus aspirin thromboprophylaxis in patients with multiple myeloma.....50

### IV. ETUDE PHYSIOPATHOLOGIQUE

72

**Protocole METRO** : Etude de la génération de Thrombine au cours des 3 premières cures de chimiothérapie pour myélome multiple *de novo* : étude multicentrique

A. Introduction.....	72
B. Patients et méthodes.....	73
C. Résultats préliminaires.....	77
D. Discussion et conclusion.....	84

## **V. ETUDE PHARMACOLOGIQUE**

**88**

**Protocole METRO B :** Effets d'une injection de Tinzaparine à dose prophylactique (4.500 UI anti Xa) sur la génération de thrombine chez des patients atteints de myélome multiple, des patients atteints de lymphome et des patients hospitalisés pour une pathologie médicale aiguë

A. Introduction.....	88
B. Patients et méthodes.....	90
C. Résultats préliminaires.....	92
D. Discussion et conclusion.....	94

## **VI. BILAN, DISCUSSION ET PERSPECTIVES**

**96**

**REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....98**

**ANNEXES.....103**

# I. INTRODUCTION BIBLIOGRAPHIQUE

## A. Myélome multiple et risque thrombotique

La physiopathologie de la thrombose dans le cancer est un processus complexe et encore mal expliqué. Le risque de maladie thrombo-embolique veineuse (MTEV) est multiplié en moyenne par 4 en présence d'un cancer non traité et par 7 lors du traitement par chimiothérapie<sup>1</sup>. La capacité des cellules tumorales à produire leurs propres facteurs pro-coagulants et à stimuler les propriétés prothrombotiques d'autres cellules (cellules endothéliales, leucocytes et plaquettes) joue un rôle crucial dans la croissance tumorale, l'angiogenèse, le processus métastatique, et s'ajoutent à l'activité prothrombotique induite par les traitements anti-tumoraux dans la pathogenèse de la thrombose de ces patients<sup>1,2</sup>.

Comme dans tout cancer, l'association entre myélome multiple (MM) et MTEV est bien établie. L'incidence de la MTEV au cours du Myélome est en moyenne de 10 à 20% et varie selon les études de 0 à 58 %<sup>3</sup>. Cette incidence semble plus élevée en cas de myélome *de novo* (c'est-à-dire naïf de toute chimiothérapie) et lors de certaines chimiothérapies notamment traitement par thalidomide ou lénalidomide. Ce risque semble cependant moins important pour le lénalidomide et quand ces traitements sont utilisés comme monothérapie<sup>3-5</sup>. En combinaison avec des doses élevées de corticoïdes ou en association avec d'autres agents de chimiothérapie, le risque de MTEV semble augmenter significativement<sup>3-5</sup>. Sans thromboprophylaxie, l'incidence de la MTEV rapportée varie entre 14% et 26% chez les patients présentant un MM sous thalidomide et dexaméthasone<sup>5,6</sup> et 10% à 20% sous thalidomide et melphalan<sup>5</sup>. Dans l'étude randomisée de Palumbo et al comparant aspirine, héparine de bas poids moléculaire et warfarine, l'incidence de MTEV et de thrombose artérielle était de 6% sur 6 mois chez les patients sous thalidomide traités par aspirine.<sup>7</sup> D'autres études non randomisées et plus anciennes rapportent des incidences de MTEV sous aspirine entre 10% et 18%<sup>8,9</sup>. Concernant la prophylaxie par des doses fixes d'anti vitamine K (AVK) de type warfarine, il est reporté des taux de MTEV, sous thalidomide et dexaméthasone de 8% à 25%.<sup>3,7</sup> Enfin sous Héparine de bas Poids Moléculaire (HBPM) à dose préventive, sous thalidomide, des taux de MTEV variant de 3 à 23% ont été rapportés.<sup>3,7</sup>

L'incidence de MTEV chez les patients traités par thalidomide et dexaméthasone (n = 2363) a été estimée à 4.1% pour 100 patients/CYCLES versus 0.8% pour 100 patients/CYCLES chez ceux traités par légalidomide et dexaméthasone (n= 715).<sup>3</sup> En analyse multivariée, l'augmentation du risque (risque relatif) de MTEV liée au thalidomide a été estimée à 2.428 (IC95% : 1.418-4.159) dans une autre étude portant sur 604 patients.<sup>4</sup> Enfin plusieurs études épidémiologiques semblent montrer que l'incidence de la MTEV est maximale lors des premières cures de chimiothérapie soit globalement au cours des 4 premiers mois.<sup>10,11</sup> A cet égard, dans l'étude de l'intergroupe francophone du myélome, 75% des événements thromboemboliques (ETE) observés, l'étaient dans les 4 premiers du traitement associant melphalan prednisone et thalidomide.<sup>12</sup>

## **B. La coagulation**

### 1) Hémostase primaire et hémostase secondaire

L'hémostase se divise en 2 processus, d'une part l'hémostase primaire (adhésion des plaquettes) et d'autre part l'hémostase secondaire (la coagulation). De façon physiologique l'hémostase primaire et la coagulation sont interdépendantes et se déroulent de manière quasi synchrone.

Concernant le mécanisme de l'hémostase primaire, c'est la liaison de la plaquette au sous endothélium et notamment au facteur von Willebrand (FvW) qui induit son activation. La plaquette activée change de conformation et sécrète le contenu de ses granules participant à l'amplification de l'agrégation plaquettaire et à l'activation de la coagulation. La modification plaquettaire s'accompagne également du remaniement des phospholipides membranaires et de l'exposition des phospholipides chargés négativement, sur lesquels vont pouvoir s'arrimer les facteurs de la coagulation.

La coagulation est un phénomène complexe qui aboutit à la formation de caillots de fibrine dans le sang. Le déclenchement de la coagulation entraîne une cascade d'activation faisant intervenir des facteurs activateurs et inhibiteurs et dont l'étape finale est la transformation du fibrinogène en fibrine, sous l'action de la thrombine. Le facteur tissulaire (FT) est la voie principale d'activation de la coagulation. Il se lie au facteur VII qui s'active. Le couple FT-Facteur VIIa active lui-même, directement et indirectement, le facteur X. Celui-ci agissant finalement sur la prothrombine qui se transforme en thrombine. Par la suite, les premières traces de thrombine amplifient sa propre génération.

L'inhibiteur de la voie du facteur tissulaire (TFPI) et la protéine S (PS) sont les premiers inhibiteurs intervenant dans la coagulation (figure I-1).

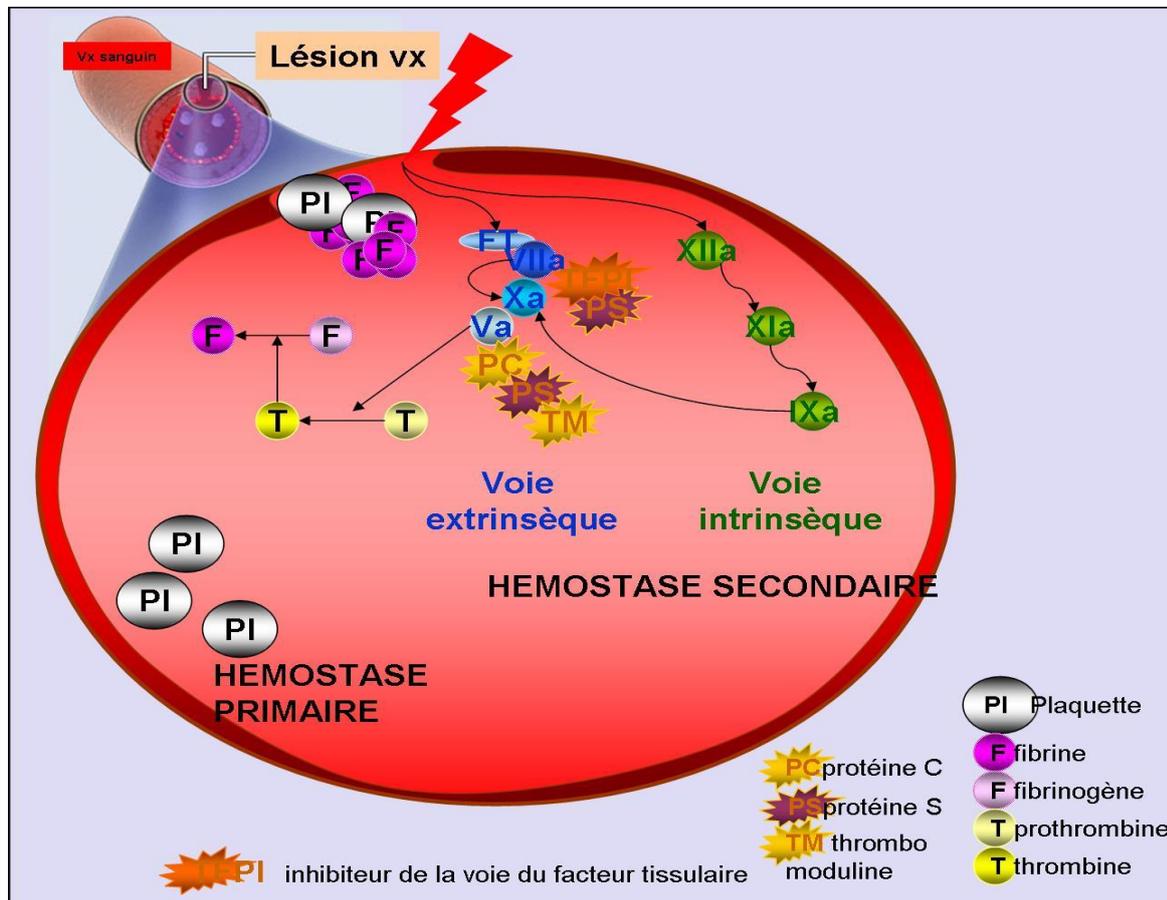


Figure I-1 : Schéma de l'hémostase.

## 2) Hémostase dans le myélome

D'une manière générale, le déclenchement de la coagulation via le FT, fortement exprimé dans les cellules cancéreuses, entraîne une cascade d'activation dont l'étape finale est la transformation du fibrinogène en fibrine, sous l'action de la thrombine. La fibrine semble induire la synthèse de cytokine pro-angiogénique comme l'IL-8 par les cellules endothéliales, et empêcherait la reconnaissance de la cellule tumorale et sa destruction par le système immunitaire. Par ailleurs, la thrombine, le facteur VIIa et le facteur Xa libérés massivement lors des chimiothérapies activent des récepteurs au niveau de certaines cellules (cellules endothéliales, plaquettes et cellules tumorales), les PARs (Proteinase-Activated Receptors) également impliqués dans les processus métastatiques,

d'angiogenèse et de croissance tumorale.<sup>13,14</sup> Néanmoins, il y a peu de données en cancérologie pour viser des cibles plaquettaires. Par ailleurs, la valeur prédictive de thrombose de ces diverses anomalies de la coagulation est mal connue et leurs rôles dans la gestion des complications thrombotiques associés à la malignité restent à clarifier, et ce d'autant plus qu'il semble exister une corrélation entre des niveaux élevés de ces marqueurs et le mauvais pronostic de la tumeur.

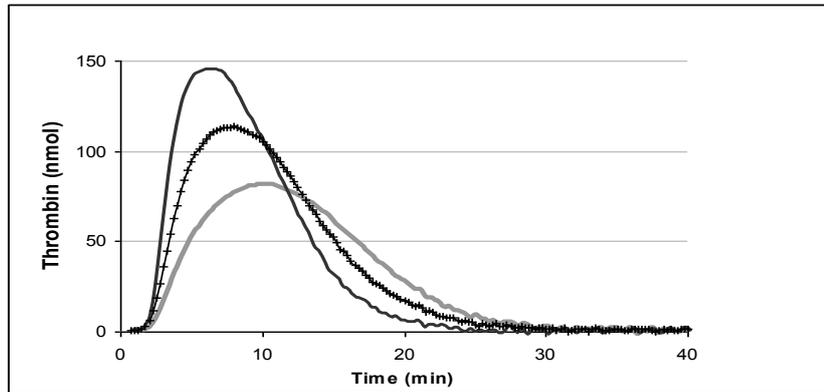
Sur le plan du myélome, de nombreuses anomalies de l'hémostase, pouvant expliquer l'augmentation du risque de MTE notamment au cours de traitement par thalidomide, ont été recherchées. Une résistance acquise à la protéine C activée,<sup>10,15,16</sup> une diminution de la protéine S,<sup>17-19</sup> une augmentation du facteur VIII et du facteur vonWillebrand,<sup>10,20,21</sup> une hyper agrégation plaquettaire anormale,<sup>8,11</sup> une diminution de la fibrinolyse ou une « surexpression » du FT ont tour à tour été rapportées de façon inconstante d'une étude à l'autre.<sup>20,22</sup> De plus, toutes ces études ont été réalisées sur des collectifs de patients faibles et sur des échantillons de sang prélevés de façon aléatoire par rapport aux traitements et à l'évolution de la maladie. Aucune des anomalies retrouvées n'a pu être corrélée ni au risque de thrombose ni au type de traitement notamment par thalidomide.<sup>23</sup> A notre connaissance, une seule étude publiée a étudié l'évolution de la génération de thrombine par thrombinographie.<sup>24</sup> Malheureusement, dans cette étude, aucune analyse n'est possible. En effet, cette étude n'a porté que sur un collectif de 26 patients dont le traitement rapporté était le thalidomide pour 10 d'entre eux et sans traitement pour les 16 autres patients. Le délai moyen d'inclusion était d'un minimum de 3.7 années après le diagnostic de myélome avec une seule évaluation de génération de thrombine par patient sans aucune précision sur le délai de prélèvement par rapport au traitement par thalidomide.

Par ailleurs, une récente étude a montré l'association de plusieurs polymorphismes génétiques à l'augmentation du risque d'évènement thromboembolique (ETE) sous thalidomide. Les gènes impliqués sont des gènes régulant la réparation de l'ADN, la balance des cytokines, les voies de transport et du métabolisme des médicaments tels que les gènes CHEK1, XRRC5, LIG1, ERCC6, NF-kB1, TNFRSF17 et Caspase 3.<sup>25</sup> Malheureusement la recherche de ces polymorphismes génétiques n'est pas actuellement appliquée en pratique et ne permet donc pas de dépister les patients à risque.

### 3) Génération de thrombine, inhibiteur de la voie du facteur tissulaire et protéine S

La thrombinographie est une technique biologique nouvelle qui permet l'étude cinétique complète de l'activité thrombinique au cours de la coagulation in vitro.<sup>26</sup> Cette technique permet donc une approche globale et totale de la génération de thrombine à l'inverse des tests de coagulation classiques qui n'en donnent qu'une vision partielle. A titre d'exemple, cette technique

permet d'illustrer parfaitement, la génération induite par l'ajout d'héparine dans le plasma des patients atteints de Thrombopénie Induite par Héparine (TIH) (figure I-2), pathologie où les complications thrombotiques aussi bien artérielles que veineuses se voient dans plus de 50 % des cas.<sup>27</sup>



**Figure I-2 : Mise en évidence par thrombinographie de l'activité pro-coagulante de l'héparine en présence d'anticorps anti H-PF4 dans le cadre d'une Thrombopénie Induite par Héparine. Patients suspects de TIH (croix), patients positifs (noir) et patients négatifs (gris).**

La cinétique de génération de thrombine se découpe en 3 phases :

- 1) Initiation : aboutissant à la formation des premières traces de thrombine
- 2) Génération : génération rapide de thrombine
- 3) Extinction : l'effet des inhibiteurs physiologiques intervient

Le potentiel endogène de génération de thrombine (ETP) (aire sous la courbe) renseigne donc sur la quantité de travail que la thrombine est capable d'accomplir pendant sa « vie » dans le sang.

D'autre part, il a été montré sur une cohorte de 108 patients présentant une MTE veineuse idiopathique, que l'existence d'une résistance au TFPI au même titre que la Résistance à la protéine C activée multipliait par 2.91 le risque de thromboses veineuses.<sup>28</sup> Ceci a été confirmé par une équipe suisse et une équipe norvégienne.<sup>29,30</sup> Cette résistance peut être constitutionnelle ou acquise et en particulier, il a été montré qu'un déficit partiel et transitoire en protéine S pouvait s'accompagner d'une résistance transitoire au TFPI. En effet, il semble que la protéine S ne sert pas seulement de cofacteur à la protéine C mais également au TFPI.<sup>31</sup> Ceci pourrait expliquer les thromboses veineuses observées au cours de la grossesse où il existe de façon naturelle un déficit partiel et transitoire en

protéine S.<sup>31</sup> L'hypothèse d'une résistance au TFPI au cours du Myélome est d'autant plus séduisante qu'il existe au cours de celui-ci un déficit partiel et transitoire en protéine S mais insuffisant cependant pour le relier directement aux thromboses veineuses.<sup>17</sup>

### C. Le thalidomide

Le thalidomide (*N*-phthalidoglutarimide) est un traitement immunomodulateur (IMiDs) d'abord utilisé pour ses propriétés sédatives et qui fut retiré du marché dans les années 60, du fait de l'apparition de malformations foétales, avant de retrouver une place à part entière en cancérologie notamment dans le traitement du MM.<sup>32</sup> Les traitements immunomodulateurs comme le thalidomide, le lénalidomide ou encore le pomalidomide sont à l'heure actuelle des thérapies incontournables dans l'arsenal contre le myélome et de nouveaux IMiDs sont également en cours de développement.

#### 1) Propriétés pharmacocinétiques

Les concentrations plasmatiques maximales du thalidomide sont atteintes entre 1 et 5 heures après l'administration orale. Il est métabolisé presque exclusivement par hydrolyse non enzymatique. Dans le plasma, Il est représenté par sa forme inchangée pour près de 80 % des composants en circulation. Il subit une métabolisation hépatique limitée, catalysée par le cytochrome P450. Sa demi-vie d'élimination est d'environ six heures. Son excrétion se fait par le rein pour plus de 90% de la dose absorbée oralement.<sup>33</sup>

#### 2) Mécanismes d'action

De nombreuses études sur les mécanismes d'action du thalidomide ont été publiées avec parfois des résultats contradictoires (figure I-3).<sup>33-38</sup>

*Inhibition du Tumor Necrosis Factor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ )* : Le thalidomide inhibe la synthèse de nombreuses cytokines dont le TNF $\alpha$ , cytokine majeure de l'inflammation. Celle-ci est sécrétée par les monocytes et les lymphocytes T et induit notamment la surexpression de molécules d'adhésion par les cellules tumorales. Le thalidomide agit principalement par dégradation post transcriptionnel de l'ARNm du TNF $\alpha$ .

*Modification des capacités d'adhésion et de migration* : Le thalidomide inhibe l'adhésion cellule-cellule et cellule-matrice en diminuant l'expression du TNF $\alpha$  mais également en inhibant l'expression de la cyclo-oxygénase-2 (Cox2). En effet, la synthèse de prostaglandines par la Cox2, entraîne la modification de l'équilibre entre les métalloprotéinases matricielles (MMP) et leurs inhibiteurs (TIMP), favorisant la migration métastatique. L'inhibition de la Cox2 diminue donc ce mécanisme.

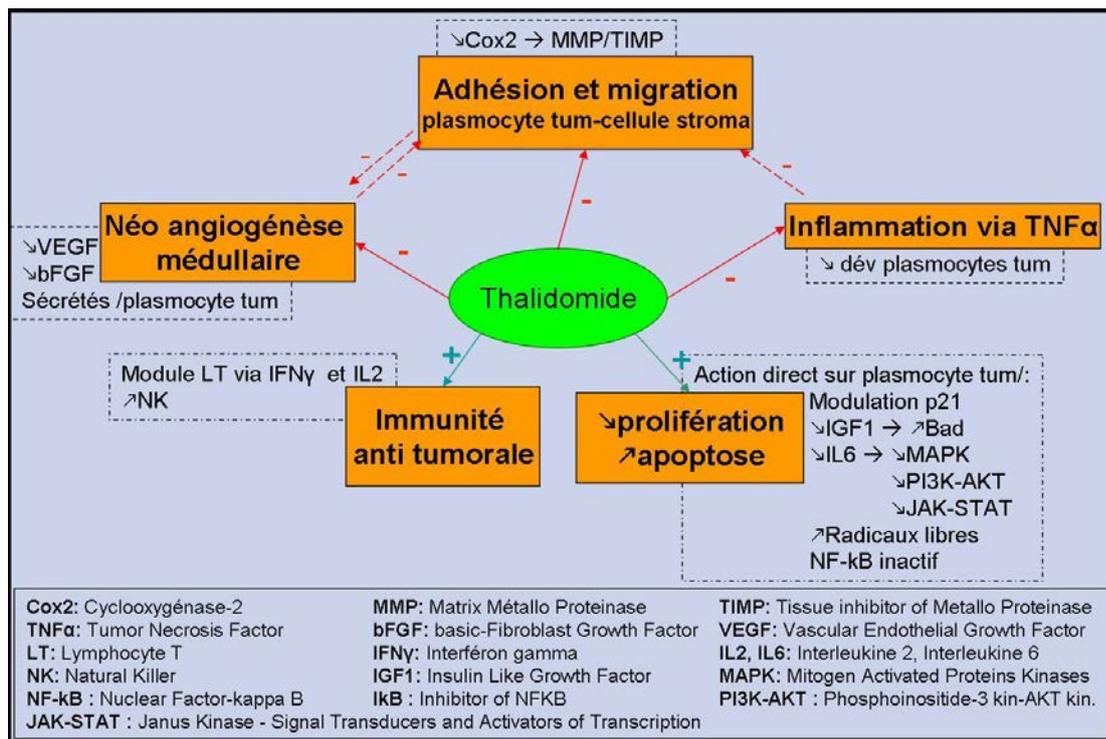
*Inhibition de l'angiogenèse* : Le thalidomide agit sur l'angiogenèse en inhibant des facteurs pro-angiogéniques tel que le bFGF (basic-Fibroblast Growth Factor), le VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) et également la Cox2 (qui induit l'expression de VEGF, bFGF, TGF $\beta$  (Transforming Growth Factor  $\beta$ ) et d'IL-6)<sup>7</sup>. Certains de ces effets pourraient s'expliquer par une diminution de la synthèse de monoxyde d'azote (NO) par les cellules endothéliales en réponse au TNF $\alpha$  et au VEGF, mais aussi par la suppression de l'effet inhibiteur des cavéoline-1 et cavéoline-2 par le VEGF, ces protéines ayant un rôle inhibiteur de la voie de signalisation induite en réponse à ce facteur pro-angiogénique. En effet, une réduction de la cavéoline-1 entraîne la perte d'inhibition de contact.

*Modulation du système immunitaire* : Le thalidomide module la sécrétion d'IFN $\gamma$  et d'IL-2 par les lymphocytes T CD8+ et oriente les cellules vers certains types lymphocytaires T. Il diminue la capacité de phagocytose des cellules et le chimiotactisme des polynucléaires. Dans le Myélome, le thalidomide augmenterait le nombre et la fonction de certaines cellules NK à l'origine d'une immunité antitumorale.

*Inhibition de la prolifération et apoptose* : Le thalidomide en modifiant l'expression de la protéine p21, peut bloquer la prolifération tumorale par arrêt du cycle cellulaire en phase G1 ou en induisant l'apoptose. Il inhibe l'IGF-1 (Insulin Like Growth Factor 1), facteur de croissance et de survie majeur des cellules myélomateuses, permettant l'augmentation de l'expression de la protéine pro apoptotique Bad. Il inhibe la voie de signalisation de l'IL-6 et donc par ce biais les voies MAPK, PI3K-AKT et JAK-STAT.

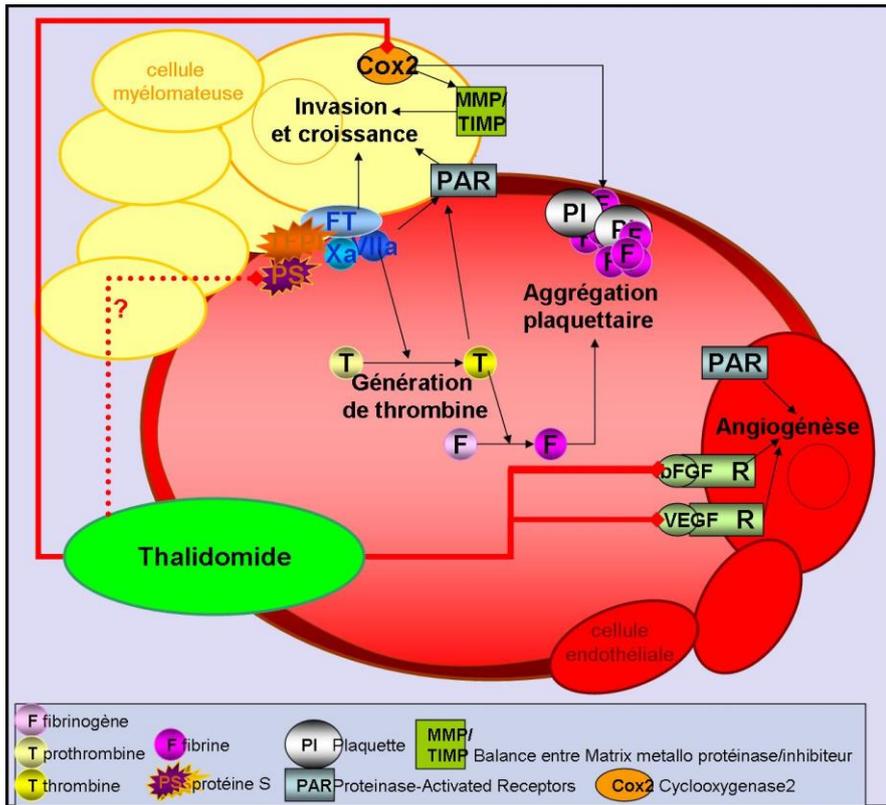
Le thalidomide a une action sur l'ADN par la génération de radicaux libres.

Il diminue également la prolifération par inhibition de la protéine IKK (I $\kappa$ B kinase) qui empêche la phosphorylation et la dégradation de I $\kappa$ B (inhibiteur de NF- $\kappa$ B) et bloque le facteur transcriptionnel NF- $\kappa$ B sous forme inactive dans le cytoplasme.



**Figure I-3 : Mécanismes d'action connus du thalidomide.**

Au final, le mécanisme à l'origine de l'hypercoagulabilité dans le MM semble être en partie en rapport avec l'état prothrombotique induit par l'activité anti-angiogénique du thalidomide mais il n'existe pas de données claires établissant ses effets directs sur la coagulation. Il semble grâce à ses différents modes d'action, perturber les interactions entre les cellules plasmocytaires et les cellules du stroma médullaire (figure I-4). Il inhibe les facteurs pro-angiogéniques sécrétés par les plasmocytes myélomateux et par les cellules stromales, inhibant ainsi la prolifération des cellules endothéliales, mécanisme d'autant plus intéressant qu'une hypervascularisation caractérise l'ensemble de la moelle osseuse des patients présentant un MM.<sup>39</sup>



**Figure I-4 : Action possible du thalidomide sur la coagulation.**

### 3) Thromboprophylaxie

Sur le plan thérapeutique, le seul essai (n= 659), ayant comparé l'efficacité de la warfarine, de l'aspirine et d'une héparine de bas poids moléculaire (HBPM) chez des patients traités par Thalidomide, n'a pas montré de différence significative en terme de survenue d'accidents thrombotiques cardiovasculaires entre les groupes warfarine, aspirine et HBPM, (8.2 % versus 6.4% versus 5 %).<sup>7</sup> Cette absence d'effet d'un traitement prophylactique par HBPM est retrouvée en analyse multi variée dans une étude de cohorte portant sur 604 patients.<sup>4</sup>

Ceci explique qu'il n'est pas possible à l'heure actuelle de proposer une stratégie thérapeutique prophylactique de la MTE et est parfaitement illustré par le fait que les sociétés savantes telles que l'European Society for Medical Oncology (ESMO), l'American College of Chest Physicians (ACCP) et le National Comprehensive Cancer Network (NCCN) n'émettent aucune recommandation quant à la prophylaxie antithrombotique au cours du traitement du Myélome.<sup>3</sup>

Certaines sociétés savantes quant à elles, proposent des critères afin de stratifier les risques de MTE sous IMiDs. C'est le cas de l'International Myeloma Working Group (IMWG), même si aucune

étude n'a validé l'utilisation de ces critères jusqu'à présent.<sup>5</sup> Ils recommandent en cas d'absence de facteur de risque ou en cas d'un facteur de risque présent, un traitement par aspirine 81 à 325 mg/jour. En cas de 2 facteurs de risque ou plus, ou en cas d'utilisation d'une thérapie à risque type thalidomide, ils proposent l'utilisation d'une HBPM (équivalent enoxaparine 40 mg/jour) ou de la warfarine à dose thérapeutique. L'American Society of Clinical Oncology (ASCO), elle, recommande une prophylaxie par aspirine ou HBPM chez les patients à bas risque et avec HBPM chez tout patient sous thalidomide ou lénalidomide associé à de la chimiothérapie et/ou de la dexaméthasone.<sup>40</sup> L'European Myeloma Network recommande également une thromboprophylaxie lorsque les IMiDs sont associés aux stéroïdes ou aux anthracyclines.<sup>41</sup> Selon L'European Myeloma Network, l'énoxaparine (40mg/j) est plus efficace que l'aspirine (100mg/j) ou la warfarine (1.25mg/j) bien que l'étude randomisée de Palumbo n'ait pas mis en évidence de différence significative entre les 3 groupes. La recommandation de L'European Myeloma Network est de grade 1A, donc le plus élevé!<sup>7</sup> L'European Myeloma Network note que l'énoxaparine devrait être utilisée chez les patients à haut risque thrombotique bien qu'il n'existe à l'heure actuelle aucune base validée de classement du risque thrombotique chez ce type de patients.<sup>41</sup> Enfin, le Résumé des Caractéristiques du Produit du thalidomide recommande pour les patients sous thalidomide d'instaurer un traitement anticoagulant prophylactique au cas par cas.<sup>34</sup> En pratique les hématologues en France ont tendance à prescrire de l'aspirine à tous les patients sous thalidomide et des HBPM à dose prophylactique à tous les patients sous thalidomide et présentant par ailleurs au moins un facteur de risque thromboembolique surajouté.



Disponible en ligne sur  
**SciVerse ScienceDirect**  
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France  
**EM|consulte**  
www.em-consulte.com



Mouvement thérapeutique

## Myélome multiple *de novo* : faut-il proposer une prophylaxie antithrombotique ?

*Newly diagnosed multiple myeloma: Do we need to propose thromboprophylaxis?*

E. Chalayer<sup>a,\*</sup>, K. Augeul-Meunier<sup>b</sup>, B. Tardy-Poncet<sup>c,d</sup>, P. Cathebras<sup>a</sup>, D. Guyotat<sup>b</sup>, B. Tardy<sup>c,e</sup>

<sup>a</sup> Service de médecine interne, hôpital Nord, CHU de Saint-Étienne, 42055 Saint-Étienne, France

<sup>b</sup> Service d'héματο-oncologie, institut de cancérologie de la Loire, 42055 Saint-Étienne, France

<sup>c</sup> EA 3062, université Jean-Monnet, 42023 Saint-Étienne, France

<sup>d</sup> Laboratoire d'hémostase, CHU de Saint-Étienne, 42055 Saint-Étienne, France

<sup>e</sup> Inserm CIE3, CHU de Saint-Étienne, 42055 Saint-Étienne, France

### IN F O A R T I C L E

Historique de l'article :

Disponible sur Internet le 12 octobre 2012

Mots clés :

Myélome multiple

Maladie veineuse thromboembolique

Prophylaxie

Thalidomide

Keywords:

Multiple myeloma

Venous thromboembolism

Prophylaxis

Thalidomide

### R É S U M É

L'incidence de la maladie veineuse thromboembolique (MVTE) au cours du myélome multiple (MM) dépend de son caractère *de novo*, persistant ou récidivant, des caractéristiques propres du patient considéré, et du type de traitement avec notamment un risque plus élevé avec le thalidomide ou le lénilidomide surtout en cas d'association à de fortes doses de dexaméthasone ou à d'autres agents de chimiothérapie. Les recommandations actuelles semblent être remises en cause par les résultats de la première étude randomisée réalisée évaluant l'aspirine, les héparines de bas poids moléculaires (HBPM) et les anti-vitamines K (AVK) dans la prophylaxie antithrombotique. Les dernières données de la littérature montrent également, qu'à l'heure actuelle, il n'est pas possible de proposer une stratégie thérapeutique prophylactique, fondée sur des preuves, de la MVTE dans le MM et que la nécessité d'une thromboprophylaxie peut être remise en question.

© 2012 Société nationale française de médecine interne (SNFMI). Publié par Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

### A B S T R A C T

The incidence of venous thromboembolism in multiple myeloma depends on the disease characteristics that include recent diagnosis, persistent or recurrent multiple myeloma, patient characteristics, and the type of treatment received such as thalidomide or lenalidomide especially in combination with high-dose dexamethasone, or combined chemotherapy. Currently, recommendations could be challenged by the results of the first randomized study evaluating aspirin, low molecular weight heparins and vitamin K antagonists in the antithrombotic prophylaxis. The recent data from the literature show that it is not possible to propose a therapeutic management for venous thromboembolism prophylaxis in multiple myeloma and that the use of antithrombotic prophylaxis may not be mandatory.

© 2012 Société nationale française de médecine interne (SNFMI). Published by Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

## 1. Introduction

Jusqu'en 2011, l'efficacité de diverses stratégies de prévention de la maladie veineuse thromboembolique (MVTE) au cours du myélome multiple (MM), incluant les héparines de bas poids moléculaire (HBPM), les anti-vitamines K (AVK) ou les antiagrégants plaquettaires (aspirine), avait été étudiée essentiellement

dans des études cliniques non contrôlées et portant sur de faibles effectifs de patients. Par voie de conséquence, les recommandations émises jusqu'à présent par les différentes sociétés savantes, l'avaient été à partir des données de ces études non contrôlées et de données extrapolées d'autres essais ne portant pas spécifiquement sur le myélome, et s'avérant donc parfois discordantes.

En mars 2011, Palumbo et al. [1] ont publié les résultats du premier essai randomisé sur ce sujet chez des patients traités par thalidomide. Contre toute attente, aucune différence statistiquement significative en termes de prévention de la survenue

\* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : sdb.e@hotmail.fr (E. Chalayer).

d'accidents thrombotiques n'a été trouvée entre les groupes aspirine, warfarine et HBPM.

Le but de cet article est d'analyser, au travers d'une revue de la littérature, l'incidence de la MVTE et la place de la thromboprophylaxie au cours du MM de novo.

## 2. Incidence de la maladie veineuse thromboembolique au cours du myélome de novo

L'incidence de la MVTE au cours du MM varie selon les études de 0 à 58% [2]. Ces variations d'incidence sont liées à la très grande hétérogénéité méthodologique des différentes études. Globalement, l'incidence de la MVTE semble plus élevée en cas de MM de novo, lors des traitements par thalidomide ou lénalidomide et notamment lorsque ces traitements sont combinés à de fortes doses de dexaméthasone, ou en association avec d'autres agents de chimiothérapie [2–5]. Ce risque est cependant moins important pour le lénalidomide et quand ces thérapies sont utilisées en monothérapie [2–5]. Le bortézomib semble quant à lui avoir plutôt un effet protecteur [6].

Deux essais cliniques randomisés récents permettent de mieux approcher l'incidence de la MVTE au cours du MM de novo en fonction du traitement. Dans un premier essai comparant l'association melphalan–prednisone et melphalan–prednisone–thalidomide, chez les 65 premiers patients qui n'ont pas reçu de prophylaxie anti-thrombotique, l'incidence de la MVTE était de 20% et a chuté à 3% après l'introduction d'une HBPM à dose préventive associée aux quatre premiers mois de traitement [7]. Dans une seconde étude comparant l'association lénalidomide à de fortes doses de dexaméthasone ou à de faibles doses de dexaméthasone, l'incidence de la MVTE était de 23 et 8%, respectivement, sans aucune prophylaxie, et a chuté à 14 et 5%, après l'introduction d'aspirine [8]. En analyse multivariée, une corrélation indépendante entre le risque de thrombose et un traitement par lénalidomide et fortes doses de dexaméthasone a été confirmée avec un odds ratio de 3,51 (IC 95% : 1,77–6,97).

Dans la récente méta-analyse de Carrier et al., l'incidence de la MVTE chez les patients traités par thalidomide et dexaméthasone ( $n=2363$ ) a été estimée à 4,1% pour 100 patients par cycle versus 0,8% pour 100 patients par cycle chez ceux traités par lénalidomide et dexaméthasone ( $n=715$ ) [2]. Enfin, dans une autre étude portant sur 604 patients, l'augmentation du risque relatif de MVTE lié à la thalidomide a été estimée à 2,43 (IC 95% : 1,42–4,16) [3]. Il est par ailleurs important de noter que la plupart de ces études s'accordent sur l'incidence maximale de la MVTE lors des premières cures de chimiothérapie soit globalement au cours des trois à quatre premiers mois [5,9]. À cet égard, dans l'étude récente de l'Intergroupe francophone du myélome, 75% des thromboses veineuses observées chez les patients traités par melphalan, prednisone et thalidomide étaient survenues au cours des quatre premiers mois de traitement [10].

## 3. Physiopathogénie de la maladie veineuse thromboembolique au cours du myélome de novo

L'hypothèse du lien entre thalidomide et thrombose au cours du MM se base sur l'activité antiangiogénique de ce traitement. La thalidomide entraînerait une atteinte endothéliale dont la destruction serait à l'origine d'un état d'hypercoagulabilité endovasculaire. Pour autant, de nombreuses anomalies de l'hémostase, pouvant expliquer l'augmentation du risque de MVTE au cours du MM de novo ont été recherchées et ce avec peu de succès. Une résistance acquise à la protéine C activée [5,11,12], une diminution de la protéine S [6,13,14], une augmentation du facteur VIII et du facteur von Willebrand (vWF) [5,15,16], une hyper-agrégation plaquettaire

**Tableau 1**

Facteurs de risque thrombotiques et hémorragiques au cours du myélome multiple (MM) d'après [4].

### Facteurs de risque liés au patient

Antécédents personnels ou familiaux de MVTE  
Comorbidités (facteurs de risque cardiovasculaires, insuffisance rénale, thrombophilie)  
Traitements concomitants : érythropoïétine, hormonothérapie  
Immobilité (transitoire ou permanente)  
Chirurgie récente (dans les 6 semaines)

### Facteurs de risque liés au myélome

Nouveau diagnostic de myélome  
Masse tumorale  
Hyperviscosité

### Facteurs de risque liés au traitement du myélome

Présence d'un cathéter veineux central  
Thalidomide ou lénalidomide  
Fortes doses de dexaméthasone  
Polychimiothérapie  
Doxorubicine

### Facteurs de risque hémorragique

Saignement actif  
Hémophilie ou autres troubles de la coagulation  
Thrombopénie relative < 100 G/L ou profonde < 50 G/L  
Insuffisance hépatique sévère  
Insuffisance rénale sévère  
Nécessité d'une procédure avec risque hémorragique

MVTE : maladie veineuse thromboembolique.

[9,17], une diminution de la fibrinolyse ou une surexpression du facteur tissulaire (FT) [15,18] ont tour à tour été rapportées, mais de façon inconstante d'une étude à l'autre. Aucune des anomalies retrouvées n'a pu être corrélée ni au risque de thrombose ni au type de traitement, notamment par thalidomide [19]. Par ailleurs, une récente étude a montré l'association de plusieurs polymorphismes génétiques à l'augmentation du risque d'événement thromboembolique sous thalidomide. Les gènes impliqués sont des gènes régulant la réparation de l'ADN, la balance des cytokines, les voies de transport et du métabolisme des médicaments, tels que les gènes de CHEK1, XRRC5, LIG1, ERCC6, NF-kB1, TNFRSF17 et Caspase 3 [20]. Malheureusement, la recherche de ces polymorphismes génétiques n'est pas actuellement appliquée en pratique et ne permet donc pas de dépister les patients à risque.

Enfin, les fortes doses de dexaméthasone seraient responsables d'une augmentation de l'expression du FT, de molécules d'adhésion (ICAM-1, VCAM-1 et E-sélectine) ainsi que du facteur vWF au niveau des cellules endothéliales. Ces actions associées à un effet anti-fibrinolytique de la dexaméthasone (augmentation du PAI-1 et diminution du t-PA) pourraient expliquer l'augmentation du risque thrombotique observé [21].

## 4. Évaluation du risque thrombotique

Chez tout patient présentant un MM, une évaluation du risque de développer une MVTE est nécessaire et doit prendre en compte, en outre, les facteurs de risque liés au patient, au MM lui-même et à son traitement (Tableau 1) [4]. À l'heure actuelle, l'existence de ces facteurs de risque est prise en compte sans pondération. Pourtant, le poids potentiel de chacun de ces facteurs de risque est différent. À titre d'exemple, un antécédent familial de thrombose n'indique très vraisemblablement pas le même niveau de risque qu'une immobilisation prolongée. Néanmoins, c'est sur la présence ou non de ces facteurs de risque que l'International Myeloma Working Group et l'Hematology-oncology Task Force of the British Committee recommandent la prescription d'aspirine pour les patients présentant zéro ou un facteur de risque et d'HBPM pour ceux présentant au moins deux facteurs de risque, les AVK à dose curative étant proposés comme une alternative aux HBPM [4,22]. Cependant, il ne faut

pas perdre à l'esprit que les patients ne recevant ni thalidomide ni légalidomide peuvent également être à risque de thrombose, et particulièrement en cas de complication aiguës (infection, fracture, déshydratation) où le risque de thrombose peut augmenter de façon spectaculaire.

Si les différentes études cliniques s'accordent pour un risque thrombotique majoré par les traitements par thalidomide et légalidomide, les données concernant l'érythropoïétine restent encore controversées. En dehors du myélome, un risque accru de mort subite et d'événement cardiovasculaire ou thromboembolique a été rapporté chez des patients présentant une insuffisance rénale chronique et ayant reçu de l'érythropoïétine avec un taux d'hémoglobine supérieur à 13,5 g/dL, mais pas chez ceux dont le taux d'hémoglobine se situaient entre 10,5 et 11,5 g/dL [23,24]. Dans une autre étude, chez des patients présentant un MM en rechute, l'administration concomitante d'érythropoïétine a augmenté de façon significative le risque de MVTE (23 % versus 5 %) [25] et si le risque a également été élevé dans une seconde étude, la différence n'a pas atteint une signification statistique (31 % versus 14 %) [26]. Dans l'étude d'Anaissie et al., sur 604 MM de novo, l'érythropoïétine a également été identifiée comme un facteur indépendant du risque de complication veineuse thromboembolique avec un *odds ratio* de 2,4 (IC95 % : 1,43–4,32) [3]. Enfin, chez 199 patients traités par thalidomide pour un MM (de novo ou récidivant), le traitement par érythropoïétine ne semblait pas influencer la survenue d'une complication thromboembolique artérielle et veineuse [27].

Par ailleurs, les facteurs de risque hémorragique particuliers aux patients atteints de MM n'ont jamais été étudiés. Cependant, l'existence d'une thrombopénie, liée à la fois à l'infiltration de la moelle osseuse par les plasmocytes et à la toxicité médullaire du traitement, constitue un obstacle potentiel à la thromboprophylaxie. Curieusement, dans l'étude de Palumbo et al., le taux d'hémorragies majeures le plus important fut observé dans le groupe aspirine 100 mg/j (1,4 %) versus 0 % dans le groupe warfarine (1,25 mg/j) et 0 % dans le groupe HBPM (énoxaparine, 40 mg/j) [1]. La même équipe ne retrouve pourtant pas cet excès d'hémorragie majeure sous aspirine dans leur dernière étude comparant aspirine (0 %) et HBPM (0 %) chez les patients sous légalidomide [28]. Au final, les taux rapportés d'hémorragies majeures et mineures paraissent anormalement bas dans ce type de population qui cumule pourtant les facteurs de risque hémorragique reconnus chez les patients médicaux (thrombopénies, insuffisance rénale, âge élevé, etc.) [29]. Il convient également de noter l'absence de comité indépendant de validation des événements hémorragiques dans la réalisation de ces études.

## 5. Limites des recommandations actuelles

Jusqu'en 2011, diverses stratégies de prévention de la MVTE, telles que les HBPM, les AVK ou les antiagrégants plaquettaires (aspirine) avaient été étudiées essentiellement dans des études de phase 2 [30]. L'absence de preuves clairement établies de l'efficacité de telle ou telle stratégie était parfaitement illustrée par le fait que les sociétés savantes, telles que l'European Society for Medical Oncology, l'American College of Chest Physicians [31] et le National Comprehensive Cancer Network [32], n'émettaient aucune recommandation quant à la prophylaxie antithrombotique au cours du traitement du MM [2]. À l'inverse, l'American Society of Clinical Oncology recommandait une prophylaxie chez tout patient sous thalidomide et dexaméthasone ou légalidomide et dexaméthasone par HBPM ou warfarine avec INR cible à 1,5 [2]. Enfin, l'International Myeloma Working Group [4], et l'Haematology-Oncology Task Force of the British Committee [22] recommandaient l'utilisation

d'aspirine ou d'HBPM en fonction du nombre de facteurs de risque thrombotique du patient considéré.

Depuis 2011, plusieurs études remettent en question la mise en œuvre d'une prophylaxie ou tout au moins son utilisation sans discernement. D'une part, dans l'étude rétrospective nord américaine portant sur 604 patients atteints de MM de novo avec une incidence de MVTE prouvée radiologiquement de 12 % au cours des trois premières cures de chimiothérapie, aucun effet protecteur de l'énoxaparine n'avait été retrouvé [3]. D'autre part, dans le premier essai randomisé jamais réalisé ( $n = 659$  patients), aucune différence statistique significative en termes de prévention de la survenue d'accidents thrombotiques n'a été montrée entre les groupes warfarine, aspirine et HBPM (8,2 % versus 6,4 % versus 5 %) [1]. Dans la mesure où l'efficacité de l'aspirine en termes de prévention de la MVTE n'a jamais été démontrée, la fréquence observée sous aspirine pourrait être assimilée à la fréquence de la MVTE en l'absence de prophylaxie. Il est cependant important de noter que ces fréquences ont été observées sur une population plutôt jeune (plus de 70 % de la population a moins de 65 ans) et sans comorbidité cardiovasculaire majeure (3 % de la population présentant plus de deux facteurs de risque cardiovasculaire). Enfin, dans la seconde étude randomisée portant sur 342 patients atteints de MM de novo et traités par légalidomide, la fréquence de MVTE a été statistiquement non significativement différente sous énoxaparine (1,2 %) par rapport à l'aspirine (2,27 %) [28]. De la même façon que dans l'étude précédente, plus de 60 % des patients inclus avaient moins de 60 ans et 98 % présentaient au plus un seul facteur de risque cardiovasculaire.

Au total, si l'on ne peut nier que l'existence d'un MM de novo, d'un traitement par thalidomide voire par légalidomide associé à de fortes doses de dexaméthasone majore le risque de thrombose veineuse, proposer une prophylaxie médicamenteuse à tous les patients ne paraît, ni efficient, ni dénué de risque notamment hémorragique et représente, de plus, un surcoût économique majeur. Il convient de rappeler que l'efficacité d'un traitement prophylactique par HBPM chez les patients ambulatoires atteints de cancer n'est pas clairement démontrée à l'heure actuelle [33]. Compte tenu des limitations des données sur lesquelles les recommandations actuelles ont été réalisées, elles ne devraient pas être considérées comme des directives opposables. Finalement, il n'est pas possible à l'heure actuelle de proposer une stratégie thérapeutique prophylactique de la MVTE dans le MM, la certitude de la nécessité d'une thromboprophylaxie pouvant elle-même être remise en question dans certains cas.

## 6. Perspectives

Afin de stratifier le risque thrombotique et de proposer une prophylaxie ou non, adaptée à chaque situation, plusieurs voies de recherche sont possibles. Des études épidémiologiques pourraient, chez les patients atteints de MM de novo, permettre d'identifier clairement les facteurs de risque thrombotique (notamment liés aux caractéristiques cliniques des patients). Ces études devraient être conduites de façon prospective et s'entourer d'un comité indépendant de validation des événements thrombotiques et hémorragiques afin de s'assurer au mieux de la validité des résultats obtenus, ce qui n'a pas d'exemple dans la littérature. De plus, des études biologiques évaluant de nouveaux « biomarqueurs » (P-sélectines, FT, microgranules, génération de thrombine) [34,35] pourraient également s'attacher à identifier les patients présentant un état d'hypercoagulabilité au cours du traitement de leur maladie et la corrélation de cet état à la survenue d'événements thromboemboliques. Ce type d'étude pourrait permettre de proposer une prophylaxie au cas par cas. La génération de thrombine mesurée par thrombinographie, technique permettant l'étude cinétique

complète de l'activité thrombinique semble être un test particulièrement adapté à cela et une étude française multicentrique (NCT01508416) évaluant son intérêt est en cours de réalisation.

## 7. Conclusion

Les données sur le MM et la prophylaxie de la MVTE sont limitées. À l'heure actuelle, elles ne permettent, ni d'identifier les patients à risque de MVTE, ni d'établir quel type de traitement médicamenteux serait à la fois le plus efficace, le moins dangereux et le moins coûteux. Les études cliniques et biologiques futures devraient s'attacher à déterminer ces différents points.

## Déclaration d'intérêts

Les auteurs déclarent ne pas avoir de conflits d'intérêts en relation avec cet article.

## Références

- Palumbo A, Cavo M, Bringhen S, Zamagni E, Romano A, Patriarca F, et al. Aspirin, warfarin, or enoxaparin thromboprophylaxis in patients with multiple myeloma treated with thalidomide: a phase III, open-label, randomized trial. *J Clin Oncol* 2011;29:986–93.
- Carrier M, Le Gal G, Tay J, Wu C, Lee AY. Rates of venous thromboembolism in multiple myeloma patients undergoing immunomodulatory therapy with thalidomide or lenalidomide: a systematic review and meta-analysis. *J Thromb Haemost* 2011;9:653–63.
- Anaissie EJ, Coleman EA, Goodwin JA, Kennedy RL, Lockhart KD, Stewart CB, et al. Prophylactic recombinant erythropoietin therapy and thalidomide are predictors of venous thromboembolism in patients with multiple myeloma: limited effectiveness of thromboprophylaxis. *Cancer* 2012;118:549–57.
- Palumbo A, Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Richardson PG, San Miguel J, Barlogie B, et al. Prevention of thalidomide- and lenalidomide-associated thrombosis in myeloma. *Leukemia* 2008;22:414–23.
- Musallam KM, Dahdaleh FS, Shamseddine AI, Taher AT. Incidence and prophylaxis of venous thromboembolic events in multiple myeloma patients receiving immunomodulatory therapy. *Thromb Res* 2009;123:679–86.
- Shen Y, Zhou X, Wang Z, Yang G, Jiang Y, Sun C, et al. Coagulation profiles and thromboembolic events of bortezomib plus thalidomide and dexamethasone therapy in newly diagnosed multiple myeloma. *Leuk Res* 2011;35:147–51.
- Palumbo A, Bringhen S, Caravita T, Merla E, Capparella V, Callea V, et al. Oral melphalan and prednisone chemotherapy plus thalidomide compared with melphalan and prednisone alone in elderly patients with multiple myeloma: randomised controlled trial. *Lancet* 2006;367:825–31.
- Rajkumar SV, Jacobus S, Callander NS, Fonseca R, Vesole DH, Williams ME, et al. Lenalidomide plus high-dose dexamethasone versus lenalidomide plus low-dose dexamethasone as initial therapy for newly diagnosed multiple myeloma: an open-label randomised controlled trial. *Lancet Oncol* 2010;11:29–37.
- Bennett CL, Schumock GT, Desai AA, Kwaan HC, Raisch DW, Newlin R, et al. Thalidomide-associated deep vein thrombosis and pulmonary embolism. *Am J Med* 2002;113:603–6.
- Facon T, Mary JY, Hulin C, Benboubker L, Attal M, Pegourie B, et al. Melphalan and prednisone plus thalidomide versus melphalan and prednisone alone or reduced-intensity autologous stem cell transplantation in elderly patients with multiple myeloma (IFM 99-06): a randomised trial. *Lancet* 2007;370:1209–18.
- Elice F, Fink L, Tricot G, Barlogie B, Zangari M. Acquired resistance to activated protein C (aAPCR) in multiple myeloma is a transitory abnormality associated with an increased risk of venous thromboembolism. *Br J Haematol* 2006;134:399–405.
- Zangari M, Berno T, Zhan F, Boucher KM, Tricot G, Fink L. Activated protein C resistance as measured by residual factor V after Russell's viper venom and activated protein C treatment analyzed as a continuous variable in multiple myeloma and normal controls. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2011;22:420–3.
- Auwerda JJA, Sonneveld P, de Maat MPM, Leebeek FWG. Prothrombotic coagulation abnormalities in patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Haematologica* 2007;92:279–80.
- van Marion AMW, Auwerda JJA, Lisman T, Sonneveld P, de Maat MPM, Lokhorst HM, et al. Prospective evaluation of coagulopathy in multiple myeloma patients before, during and after various chemotherapeutic regimens. *Leuk Res* 2008;32:1078–84.
- Uaprasert N, Voorhees PM, Mackman N, Key NS. Venous thromboembolism in multiple myeloma: current perspectives in pathogenesis. *Eur J Cancer* 2010;46:1790–9.
- Minnema MC, Fijnheer R, De Groot PG, Lokhorst HM. Extremely high levels of von Willebrand factor antigen and of procoagulant factor VIII found in multiple myeloma patients are associated with activity status but not with thalidomide treatment. *J Thromb Haemost* 2003;1:445–9.
- Baz R, Li L, Kottke-Marchant K, Srkalovic G, McGowan B, Yiannaki E, et al. The role of aspirin in the prevention of thrombotic complications of thalidomide and anthracycline-based chemotherapy for multiple myeloma. *Mayo Clin Proc* 2005;80:1568–74.
- Auwerda JJA, Yuana Y, Osanto S, de Maat MPM, Sonneveld P, Bertina RM, et al. Microparticle-associated tissue factor activity and venous thrombosis in multiple myeloma. *Thromb Haemost* 2011;105:14–20.
- Gieseler F. Pathophysiological considerations to thrombophilia in the treatment of multiple myeloma with thalidomide and derivatives. *Thromb Haemost* 2008;99:1001–7.
- Johnson DC, Corthals S, Ramos C, Hoering A, Cocks K, Dickens NJ, et al. Genetic associations with thalidomide mediated venous thrombotic events in myeloma identified using targeted genotyping. *Blood* 2008;112:4924–34.
- van Giezen JJ, Brakkee JG, Dreteler GH, Bouma BN, Jansen JW. Dexamethasone affects platelet aggregation and fibrinolytic activity in rats at different doses which is reflected by their effect on arterial thrombosis. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1994;5:249–55.
- Snowden JA, Ahmedzai SH, Ashcroft J, D'Sa S, Littlewood T, Low E, et al. Guidelines for supportive care in multiple myeloma 2011. *Br J Haematol* 2011;154:76–103.
- Singh AK, Szczech L, Tang KL, Barnhart H, Sapp S, Wolfson M, et al. Correction of anemia with epoetin alfa in chronic kidney disease. *N Engl J Med* 2006;355:2085–98.
- Drüeke TB, Locatelli F, Clyne N, Eckardt KU, Macdougall IC, Tsakiris D, et al. Normalization of hemoglobin level in patients with chronic kidney disease and anemia. *N Engl J Med* 2006;355:2071–84.
- Knight R, DeLap RJ, Zeldis JB. Lenalidomide and venous thrombosis in multiple myeloma. *N Engl J Med* 2006;354:2079–80.
- Zonder JA. Thrombotic complications of myeloma therapy. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2006:348–55.
- Galli M, Elice F, Crippa C, Comotti B, Rodeghiero F, Barbui T. Recombinant human erythropoietin and the risk of thrombosis in patients receiving thalidomide for multiple myeloma. *Haematologica* 2004;89:1141–2.
- Larocca A, Cavallo F, Bringhen S, Di Raimondo F, Falanga A, Evangelista A, et al. Aspirin or enoxaparin thromboprophylaxis for patients with newly diagnosed multiple myeloma treated with lenalidomide. *Blood* 2012;119:933–9.
- Decousus H, Tapson VF, Bergmann JF, Chong BH, Froehlich JB, Kakkar AK, et al. Factors at admission associated with bleeding risk in medical patients: findings from the IMPROVE investigators. *Chest* 2011;139:69–79.
- Palumbo A, Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Richardson PG, Miguel JS, Barlogie B, et al. Prevention of thalidomide- and lenalidomide-associated thrombosis in myeloma. *Leukemia* 2007;22:414–23.
- Geerts WH, Bergqvist D, Pineo GF, Heit JA, Samama CM, Lassen MR, et al. Prevention of venous thromboembolism: American college of chest physicians evidence-based clinical practice guidelines (8th edition). *Chest* 2008;133:381S–453S.
- Wagman LD, Baird MF, Bennett CL, Bockenstedt PL, Cataland SR, Fanikos J, et al. Venous thromboembolic disease. Clinical practice guidelines in oncology. *J Natl Compr Canc Netw* 2006;4:838–69.
- Kahn SR, Lim W, Dunn AS, Cushman M, Dentali F, Akl EA, et al. Prevention of VTE in nonsurgical patients: antithrombotic therapy and prevention of thrombosis, 9th ed: American college of chest physicians evidence-based clinical practice guidelines. *Chest* 2012;141:e195S–226S.
- Geffray L. Actualités en thrombose et cancer. *Rev Med Interne* 2011;32:265–7.
- Petropoulou AD, Gerotziapas GT, Samama MM, Hatmi M, Rendu F, Elalamy I. In vitro study of the hypercoagulable state in multiple myeloma patients treated or not with thalidomide. *Thromb Res* 2008;121:493–7.

## II. DONNEES EPIDEMIOLOGIQUES

### A. Etude MELISSE

L'étude MELISSE (Maladie ThromboEmbolique dans le myéLome multiple SouS chimiothérapie) est une étude française conduite dans 52 centres de l'Intergroupe Francophone du Myélome. Cette étude, sponsorisée dans sa conception et son monitoring par LEO Pharma, était une étude observationnelle multicentrique prospective souhaitant évaluer l'incidence de la MTEV et identifier les facteurs de risque thrombotiques chez les patients présentant un MM et traités par IMiDs. L'objectif était de déterminer la pratique courante réelle de la thromboprophylaxie.

Un total de 529 patients a été inclus. Un questionnaire était rempli par l'hématologue à l'inclusion du patient puis à 4 et à 12 mois concernant le traitement du MM, l'évaluation et les facteurs de risque de MTE et la thromboprophylaxie utilisée.

L'incidence de la MTE était de 7% (n=31), similaire à 4 et 12 mois. Les ETE étaient observés dans tous les niveaux de risque faible, intermédiaire et élevé déterminé par l'hématologue. L'analyse des facteurs de risque a été réalisée sur l'ensemble des patients qu'il s'agisse d'une première seconde ou troisième ligne de traitement.

### B. Introduction et problématique

Malgré les progrès spectaculaires dans le traitement des cancers et en particulier dans le myélome multiple, les connaissances concernant le risque thromboembolique associé à cette maladie restent sommaire et les approches thérapeutiques souvent inadaptées. Le choix de la thromboprophylaxie de la MTE dans le MM a d'ailleurs très peu évolué sur les dernières années et l'arbre thérapeutique décisionnel reste à construire.

La première partie de ce travail est dédiée à la recherche des facteurs de risques thrombotiques pertinents chez les myélomes *de novo* traités par IMiDs (thalidomide ou lénalidomide). L'objectif est d'adapter les stratégies thérapeutiques au risque thromboembolique

«individuel» de chaque patient. Pour cela, nous avons réalisé une nouvelle analyse statistique sur les 190 patients de la base de données de l'étude MELISSE, en première ligne de traitement. Leurs paramètres cliniques, biologiques et thérapeutiques avaient été recueillis lors de l'étude.

Les variables qualitatives ont été décrites en utilisant des fréquences absolues et relatives (exprimées en pourcentages). Les variables quantitatives sont décrites en utilisant les médianes et les écarts interquartiles (IQR). La comparaison entre les groupes a été réalisée en utilisant le test de Chi2 ou le test exact de Fisher pour les petits échantillons de variables qualitatives. Pour les variables quantitatives, la comparaison entre les groupes a été réalisée avec le test de Student. Pour les cas de variables qui ne sont pas normalement distribuées (évalués par le test de Shapiro-Wilk), le test de Wilcoxon et Mann Whitney a été utilisé. Une analyse multivariée a été réalisée pour identifier les facteurs de risques prédictifs des ETE à 12 mois (seuil de signification de 5%). Toutes les analyses ont été réalisées avec SAS 9.4.

L'âge médian de ces patients était de 75.5 ans, 57% des patients avaient plus de 75 ans. Le sexe ratio était de 1.21 (104 hommes/86 femmes). Les caractéristiques des patients et leurs facteurs de risque de VTE sont présentés dans l'article. Concernant la thromboprophylaxie, sur les 190 patients, 164 recevaient un traitement (108 patients sous aspirine, 45 sous HBPM et 14 sous AVK). Dans cette analyse, nous avons rapporté 18 ETE veineux (10.1%) à 12 mois (9 embolies pulmonaires et 12 thromboses veineuses profondes); 10 évènements (5.3%) étaient rapportés à 4 mois (5 embolies pulmonaires et 7 thromboses veineuses profondes) et 8 évènements (4.5%) étaient rapportés entre 4 et 12 mois (4 embolies pulmonaires et 5 thromboses veineuses profondes). Concernant les patients avec un ETE à 12 mois, l'âge médian était de 76.5 ans, le sexe ratio était de 2 (12 hommes/6 femmes), 13 recevaient du thalidomide, 5 lénalidomide et 9 recevaient de l'EPO. Concernant la thromboprophylaxie, il y avait 14 patients sous aspirine, 2 patients sous HBPM, 2 sans thromboprophylaxie et 0 sous AVK.

Dans notre analyse multivariée, nous avons inclus tous les facteurs de risque collectés et les caractéristiques des patients. Aucun de ces facteurs n'avait d'impact significatif sur l'occurrence d'ETE veineux en dehors de l'EPO. Le risque d'ETE veineux chez les patients recevant un traitement par EPO était le seul facteur de risque significatif (OR 3.32, 95%CI = 1.23-8.99; p = 0.02).

Ces résultats, obtenus sur un collectif important de patients atteints de MM *de novo* et traités par IMiDs, montrent qu'en dehors des patients recevant de l'EPO, il ne semble pas possible d'identifier les patients les plus à risque de thrombose à partir des facteurs de risque habituellement utilisés dans d'autres pathologies. Cette étude ne remet pas en cause le fait que les IMiDs augmentent le risque de MTEV chez les patients atteints de myélome *de novo* mais souligne que

dans cette population, il ne semble guère possible de proposer un traitement prophylactique différent selon une échelle de risque. Ceci va à l'encontre de la plupart des recommandations actuelles.

Les résultats de cette étude ont fait l'objet de l'article qui sera soumis pour publication à la revue Thrombosis Research après accord avec les laboratoires LEO Pharma.

## **Article 2 : Usual risk factors do not predict venous thromboembolism in newly diagnosed myeloma treated with IMiDS.**

Chalayer<sup>1</sup> E, Chapelle<sup>2</sup> C, Leleu<sup>3</sup> X, Elalamy<sup>4</sup> I, Laporte<sup>2</sup> S, Tardy<sup>1</sup> B

1 Centre d'investigation Clinique CIC 1408, CHU Saint Etienne, France

2 EA 3065, Groupe d'Investigation et de Recherche Clinique sur la Thrombose, Saint-Etienne, Université J Monnet, Saint Etienne, France

3 Hôpital Huriez, Département des Maladies du sang, CHU Lille, France

4, Hôpital Tenon, APHP, France

Immunomodulatory drugs (IMiDs) brought a major shift in therapeutic paradigm in the treatment of newly diagnosed and refractory multiple myeloma (MM), besides IMiDs are associated with an increased thromboembolic (TE) risk (1, 2). Current guidelines have proposed aspirin or low-molecular-weight heparin (LMWH) for antithrombotic prophylaxis in MM patients, treated with IMiDS, based on TE risk stratification. The International Myeloma Working Group recommended aspirin for patients with no more one TE risk factor and LMWH or full-dose warfarin for patients with two or more TE risk factors (3). The American Society of Clinical Oncology recommended aspirin or LMWH for lower-risk patients and LMWH for higher-risk patients receiving thalidomide- or lenalidomide-based regimens with chemotherapy and/or dexamethasone (4). In fact, the major problem with these strategies is that nobody knows exactly which are the TE risk factors in MM patients treated with IMiDs.

Indeed, in a large French prospective multicenter observational study (MELISSE) (5), designed to evaluate the venous TE (VTE) incidence and the associated risk factors in IMiDs-treated MM patients in a real-life practice, only a shorter time duration from diagnosis to IMiDs initiation and a recombinant erythropoietin (rEPO) treatment were found to have a significant impact on VTE occurrence. In Melisse study, in which 26 % of prophylactic dose of LMWH (88 patients) or full-doses of VKA (48 patients), an incidence of VTE of 3 % was reported at 4 and 12 months among a total of 524 MM patients, treated with IMiDS in either first, second or third line of chemotherapy. In another American large retrospective study including 604 consecutive patients with newly diagnosed MM, thalidomide and prophylactic rEPO were the only two factors identified as predictors of VTE (2). In this study, in which 25 % of patients (152/604) received prophylactic dose of LMWH, an incidence of VTE of 11.3 % was reported after completion of 3 induction cycles with multi-agent chemotherapy. In these 2 studies, LMWH did not reduce the rate of VTE.

As patients with newly diagnosed MM treated with thalidomide seems to display a particular high risk of VTE, we decide to carry on a new analysis of MELISSE database in order to identify in real-life practice the VTE risk factors in such patients.

A total of 190 IMiDs-treated MM patients were evaluable. Among them, 31 % of patients were treated with prophylactic dose of LMWH (45 patients) or full-dose of VKE (14 patients) and 57 % of patients received a median dose of 75 mg per day of aspirin. The median age of the study population was 75.5 years old, with 57% of patients over 75 years old. The sex ratio was 1.21 (104 males/86 females). The characteristics of patients and VTE risk factors are presented in table 1. In this analysis, we have reported 18 (10.1%) venous thromboembolic events at 12 months (9 pulmonary embolism and 12 deep venous thrombosis); 10 events (5.3%) were reported at 4 months (5 pulmonary embolism and 7 deep venous thrombosis) and 8 events (4.5%) were reported between 4 and 12 months (4 pulmonary embolism and 5 deep venous thrombosis). The median age of these 18 patients was 76.5 years, the sex ratio was 2 (12 males/6 females), 13 received thalidomide, 5 lenalidomide and 9 received rEPO. Concerning thromboprophylaxis, 2 patients were under LMWH, 14 under aspirin, and two patients were without thromboprophylaxis. Using multivariate logistic regression to identify risk factors predicting thromboembolic events at 12 months (two sided tests, significance level 5%), only the treatment with rEPO was found to be a major VTE risk factor (OR 3.32, 95%CI = 1.23-8.99; p = 0.02) (table 2).

Thus, while usual VTE risk factors were recorded in this observational study, none of them except rEPO were identified as predictor of VTE in newly diagnosed MM patients treated with IMiDs. In addition, as it was already reported (2, 5, 6) the choice of VTE prophylaxis had no significant impact on the occurrence of VTE in this analysis. This contrasts singularly with the current guidelines who recommended LMWH for patients with 2 or more risk factors and those receiving high-dose dexamethasone. Given these data, it seems not possible to propose a reliable VTE risk stratification in such patients. Finally, considering the risks and the costs associated with LMWH or full-dose warfarin, societies guidelines recommending thromboprophylaxis in patients with MM should be revisited in the light of these findings.

The Melisse registry has been conducted with grants from LEO Pharma

MM characteristic	
Durie and Salmon stage III, N (%)	166 (87.8)
Renal failure, N (%)	9 (4.7)
MM treatment	
Thalidomide, N (%)	142 (74.7)
Lenalidomide, N (%)	48 (25.3)
Risk factors	
Median (IQR) weight, kg	69.0 (60-75)
Median body mass index, kg/m <sup>2</sup> (SD)	24.5 (23-27)
High BMI (BMI ≥ 30kg/m <sup>2</sup> ), N (%)	18 (10.1)
Median (IQR) body surface area (Mostoler formula)	1.8 (1.6-1.9)
<i>Duration of myeloma, N (%)</i>	
< 6 months	155 (82.0)
< 1 – 2 years	13 (6.9)
< 2 – 5 years	4 (2.1)
> 5 years	3 (1.6)
Family history of VTE, N (%)	2 (1.0)
Known genetic risk, N (%)	0 (0.0)
Personal history of VTE, N (%)	16 (8.4)
Smoking, N (%)	10 (5.3)
Hormonal treatment, N (%)	1 (0.5)
Diabetes, N (%)	24 (12.6)
Confinement to bed, N (%)	27 (14.2)
Cardiac insufficiency, N (%)	10 (5.3)
Respiratory insufficiency, N (%)	2 (1.0)
Recent surgery procedure, N (%)	1 (0.5)
Central venous catheter, N (%)	4 (2.1)
Recombinant erythropoietin (rEPO), N (%)	50 (26.3)
Radiotherapy, N (%)	18 (9.5)
Bisphosphonates, N (%)	113 (59.5)

**Table 1 : Patients demographics and baseline characteristics.**

Qualitative variables are described using absolute and relative frequencies (expressed in percentages). Quantitative variables are described by median and interquartile range (IQR).

Risk factor	Univariate RR of VTE (95% CI)	p-value	Multivariate RR of VTE (95% CI)	p-value
Age (years)	1.01 (0.96 ; 1.07)	0.67	-	-
Male gender	1.68 (0.60 ; 4.69)	0.32	-	-
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	1.03 (0.91 ; 1.16)	0.66	-	-
Body surface area (m <sup>2</sup> )	0.59 (0.04 ; 8.51)	0.69	-	-
Tobacco	1.12 (0.13 ; 9.48)	0.92	-	-
Hormonal treatment	NA	-	-	-
Diabetes	0.35 (0.04 ; 2.76)	0.32	-	-
Immobilisation	0.37 (0.05 ; 2.91)	0.34	-	-
Cardiac insufficiency	NA	-	-	-
Respiratory insufficiency	NA	-	-	-
Surgery	NA	-	-	-
Renal impairment	1.29 (0.15 ; 11.1)	0.82	-	-
Family history of VTE	NA	-	-	-
Personal history of VTE	0.61 (0.08 ; 4.96)	0.65	-	-
Stage of disease	NA	-	-	-
Lenalidomide	1.19 (0.40 ; 3.56)	0.75	-	-
rEPO	3.32 (1.23 ; 8.99)	0.02	3.32 (1.23 ; 8.99)	0.02
Radiotherapy	0.53 (0.07 ; 4.25)	0.55	-	-
Central venous catheter	NA	-	-	-
Bisphosphonates	0.65 (0.24 ; 1.72)	0.39	-	-
VTE prophylaxis	1.21 (0.26 ; 5.64)	0.81	-	-
LMWH	0.38 (0.08 ; 1.70)	0.20	-	-
VKA	NA	-	-	-
Aspirin	2.65 (0.84 ; 8.42)	0.10	2.97 (0.91 ; 9.67)	0.07

**Table 2 : Univariate and multivariate analysis to determine risk factors predicting VTE at 12 months.**

Comparison between groups was performed using Chi2 test or Fisher exact test through analysis of variance, likelihood ratio test and Fisher exact test for small samples or small occurrence rates in case of small samples for qualitative variables. For quantitative variables, comparison between groups was performed using Student's t test. In case of a non-normally distributed variable (assessed by Shapiro-Wilk test), a Wilcoxon-Mann Whitney was used.

RR: relative risk; VTE: venous thromboembolic events; 95%CI: 95% confidence interval; rEPO: recombinant erythropoietin; LMWH: low molecular weight heparin; VKA: vitamin K antagonist.

NA: Not applicable due to the absence of the factor in patients group with VTE

## References

1. Carrier M, Le Gal G, Tay J, Wu C, Lee AY. Rates of venous thromboembolism in multiple myeloma patients undergoing immunomodulatory therapy with thalidomide or lenalidomide : a systematic review and meta-analysis. *J Thromb Haemost* 2011; 9: 653–63.
2. Anaissie EJ, Coleman EA, Goodwin JA, Kennedy RL, Lockhart KD, Stewart CB, et al. Prophylactic recombinant erythropoietin therapy and thalidomide are predictors of venous thromboembolism in patients with multiple myeloma: limited effectiveness of thromboprophylaxis. *Cancer* 2012; 118: 549–57.
3. Palumbo A, Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Richardson PG, San Miguel J, Barlogie B, et al. Prevention of thalidomide- and lenalidomide-associated thrombosis in myeloma. *Leukemia* 2008; 22: 414–23.
4. Lyman GH, Bohlke K, Khorana AA, Kuderer NM, Lee AY, Arcelus JI, et al. Venous Thromboembolism Prophylaxis and Treatment in Patients With Cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline Update 2014. *J Clin Oncol* 2015; 33: 654-656.
5. Leleu X, Rodon P, Hulin C, Daley L, Dauriac C, Hacini M, et al. MELISSE, a large multicentric observational study to determine risk factors of venous thromboembolism in patients with multiple myeloma treated with immunomodulatory drugs. *Thromb Haemost* 2013; 110:844–51.
6. Palumbo A, Cavo M, Bringhen S, Zamagni E, Romano A, Patriarca F, et al. Aspirin, warfarin or enoxaparin thromboprophylaxis in patients with multiple myeloma treated with thalidomide: a phase III open-label randomized trial. *J Clin Oncol* 2011; 29: 986-993.

La deuxième partie du travail réalisé sur la base de données MELISSE a été de déterminer si les hématologues prenant en charge les patients présentant un MM *de novo* ou en rechute étaient capables de classer leurs patients en niveau de risque thrombotique faible intermédiaire ou élevé de façon adaptée par rapport à leurs facteurs de risque individuel de thrombose selon les facteurs de risque décrits dans la littérature (tableau II-1)<sup>5</sup> et si par ailleurs la thromboprophylaxie prescrite correspondait au niveau de risque estimé.

<p><i>Facteurs de risque liés au patient</i></p> <ul style="list-style-type: none"><li>Antécédents personnels ou familiaux de MVTE</li><li>Comorbidités (facteurs de risque cardiovasculaires, insuffisance rénale, thrombophilie)</li><li>Traitements concomitants : érythropoïétine, hormonothérapie</li><li>Immobilité (transitoire ou permanente)</li><li>Chirurgie récente (dans les 6 semaines)</li></ul> <p><i>Facteurs de risque liés au myélome</i></p> <ul style="list-style-type: none"><li>Nouveau diagnostic de myélome</li><li>Masse tumorale</li><li>Hyperviscosité</li></ul> <p><i>Facteurs de risque liés au traitement du myélome</i></p> <ul style="list-style-type: none"><li>Présence d'un catheter veineux central</li><li>Thalidomide ou lénalidomide</li><li>Fortes doses de dexaméthasone</li><li>Polychimiothérapie</li><li>Doxorubicine</li></ul>
--

**Tableau II-1** : Facteurs de risque thrombotiques au cours du myélome multiple d'après<sup>5</sup>. MTEV : maladie thrombo-embolique veineuse.

Pour cette analyse, nous avons retenu tous les patients inclus dans le registre MELISSE (d'une première seconde ou troisième ligne de traitement par IMiDs) et pour lesquels il avait été recueilli par le clinicien, les facteurs de risque de thrombose selon une liste préétablie lors de la mise en place du registre. Les facteurs de risque liés au patient, au myélome et au traitement se sont vus attribués chacun 1 point, en l'absence de pondération préalablement identifiée dans la littérature (tableau II-2).

	Variables	Points
<b>Facteurs de risque liés au patient</b>		
Antécédents personnels ou familiaux de MTEV	ATCD familiaux de MTEV <b>OU</b> personnel de MTEV	1
Comorbidités (facteurs de risque cardiovasculaires, insuffisance rénale, thrombophilie)	Tabac <b>OU</b> IMC élevé <b>OU</b> diabète <b>OU</b> insuffisance cardiaque <b>OU</b> insuffisance respiratoire <b>OU</b> insuffisance rénale chronique <b>OU</b> facteur de risque génétique	1
Traitements concomitants : érythropoïétine, hormonothérapie	érythropoïétine (pas hormonothérapie dans la base)	1
Immobilité (transitoire ou permanente)	Alitement chronique	1
Chirurgie récente (dans les 6 semaines)	Chirurgie récente	1
<b>Facteurs de risque liés au myélome</b>		
Nouveau diagnostic de myélome	Ancienneté diagnostic < 6 mois	1
Masse tumorale	Stade III de la classification de Durie et Salmon	1
Hyperviscosité	-	-
<b>Facteurs de risque liés au traitement</b>		
Présence d'un cathéter veineux central	Présence d'un cathéter veineux central	1
Thalidomide ou lénalidomide	Thalidomide ou lénalidomide (auront tous 1 point)	1
Fortes doses de dexaméthasone	Dexaméthasone haute dose	1
Polychimiothérapie	-	-
Doxorubicine	-	-

**Tableau II-2 : Facteurs de risques thrombotiques et leurs pondérations.** MTEV : maladie thrombo-embolique veineuse ; ATCD : antécédent ; IMC : index de masse corporel.

Un total de 513 patients a été retenu pour cette analyse, 11 patients ayant été exclus en raison de l'absence de facteurs de risque recueillis. Sur ces 513 patients, 239 (47%) avaient été classés en risque faible, 201 (39 %) en risque intermédiaire et 73 (14 %) en risque élevé. Les facteurs de risque sont disponibles dans le tableau II-3. L'analyse des facteurs de risque montre qu'il n'y a pas de réelle corrélation entre le nombre de facteurs de risque et le classement faible, intermédiaire ou haut risque (table 1 de l'article). En effet, si 97 % des patients classés haut risque présentent au moins 3 facteurs de risque, plus de 80 % des patients classés à risque faible ou intermédiaire présentent eux aussi au moins 3 facteurs de risque de thrombose. De la même façon, si seuls 12 % des patients classés à risque intermédiaire ou haut présentent moins de 3 facteurs de risque, seuls 18 % des patients classés à faible risque présentent moins de 3 facteurs de risque. Le classement par les cliniciens en haut, intermédiaire ou faible risque ne semble donc pas reposer sur un nombre « arithmétique » de facteurs de risque. L'analyse descriptive de chaque facteur de risque semble montrer que les cliniciens classent plus fréquemment en haut risque les patients présentant des antécédents personnels de thrombose (52 % versus 1.3 et 7.5 % dans les risques faible ou

intermédiaire), et les patients présentant un alitement chronique (23 % versus 2.9 et 8.5 % dans les risques faible ou intermédiaire) (tableau II-3). A l'inverse, l'ancienneté du diagnostic, le caractère 1ère ligne de chimiothérapie, un traitement par EPO, l'administration de fortes doses de dexaméthasone, l'existence d'un cathéter veineux central ne semblent avoir aucune influence sur le classement du risque. Le choix par le clinicien du type de prophylaxie administrée semble un peu plus cohérent avec leur classement du risque. En effet, on observe bien sur la figure disponible dans l'article que la prescription d'aspirine et l'absence de prophylaxie diminuent en fonction de l'augmentation du risque et que parallèlement les prescriptions d'HBPM et d'AVK augmentent avec le risque. Il reste cependant un pourcentage élevé d'incohérence avec notamment 19 % recevant de l'aspirine alors qu'ils sont considérés à haut risque et 12 % de patients recevant une HBPM ou un AVK alors qu'ils sont considérés à faible risque.

Au total cette étude montre que les cliniciens éprouvent de réelles difficultés à classer le niveau de risque thrombotique de leurs patients et que cette classification relève plus de l'intuitif que de données de la science, dans la mesure où des facteurs tels que les antécédents personnels sont pris en compte alors que d'autres, tels qu'un diagnostic récent, l'EPO ou de fortes doses de dexaméthasone ne le sont pas. Cette absence de classement du niveau de risque induit fréquemment une prescription aléatoire du type de traitement prophylactique.

Les résultats de cette étude ont fait l'objet de l'article n°3 qui sera soumis pour publication à la revue *Thrombosis and Haemostasis* après accord avec les laboratoires LEO Pharma.

		Risque faible (N = 239)	Risque modéré (N = 201)	Risque élevé (N = 73)	Total (N = 513)
Antécédents familiaux ou personnels de maladie thromboembolique	Nombre	239	201	73	513
	Oui	10 ( 4.2%)	20 ( 10.0%)	39 ( 53.4%)	69 ( 13.5%)
Antécédents familiaux	Oui	8 ( 3.3%)	6 ( 3.0%)	4 ( 5.5%)	18 ( 3.5%)
	Antécédents personnels	Oui	3 ( 1.3%)	15 ( 7.5%)	38 ( 52.1%)
Comorbidités	Nombre	239	201	73	513
	Oui	36 ( 15.1%)	71 ( 35.3%)	31 ( 42.5%)	138 ( 26.9%)
IMC élevé	Oui	10 ( 4.2%)	27 ( 13.4%)	15 ( 20.5%)	52 ( 10.1%)
Diabète	Oui	14 ( 5.9%)	21 ( 10.4%)	13 ( 17.8%)	48 ( 9.4%)
Insuffisance cardiaque	Oui	2 ( 0.8%)	12 ( 6.0%)	6 ( 8.2%)	20 ( 3.9%)
Insuffisance respiratoire	Oui	0 ( 0.0%)	7 ( 3.5%)	2 ( 2.7%)	9 ( 1.8%)
Insuffisance rénale chronique	Oui	15 ( 6.3%)	17 ( 8.5%)	10 ( 13.7%)	42 ( 8.2%)
Facteur de risque génétique	Oui	0 ( 0.0%)	0 ( 0.0%)	0 ( 0.0%)	0 ( 0.0%)
Traitement concomitant (EPO)	Nombre	239	201	73	513
	Oui	39 ( 16.3%)	57 ( 28.4%)	14 ( 19.2%)	110 ( 21.4%)
Alitement chronique	Nombre	239	201	73	513
	Oui	7 ( 2.9%)	17 ( 8.5%)	17 ( 23.3%)	41 ( 8.0%)
Chirurgie récente	Nombre	239	201	73	513
	Oui	3 ( 1.3%)	5 ( 2.5%)	2 ( 2.7%)	10 ( 1.9%)
Ancienneté diagnostic < 6 mois	Nombre	239	199	73	511
	Oui	79 ( 33.1%)	61 ( 30.7%)	24 ( 32.9%)	164 ( 32.1%)
Masse tumorale (Stade III Durie et Salmon)	Nombre	239	201	73	513
	Oui	204 ( 85.4%)	165 ( 82.1%)	66 ( 90.4%)	435 ( 84.8%)
Présence d'un cathéter veineux central	Nombre	239	201	73	513
	Oui	18 ( 7.5%)	23 ( 11.4%)	6 ( 8.2%)	47 ( 9.2%)
Thalidomide ou lénalidomide	Nombre	239	201	73	513
	Oui	238 ( 99.6%)	201 (100.0%)	73 (100.0%)	512 ( 99.8%)
Thalidomide	Oui	80 ( 33.5%)	76 ( 37.8%)	29 ( 39.7%)	185 ( 36.1%)
Lénalidomide	Oui	158 ( 66.1%)	125 ( 62.2%)	44 ( 60.3%)	327 ( 63.7%)
Dexaméthasone forte dose	Nombre	239	201	73	513
	Oui	148 ( 61.9%)	115 ( 57.2%)	40 ( 54.8%)	303 ( 59.1%)

**Tableau II-3 : Facteurs de risques thrombotiques des patients de la base de données MELISSE.**

**Article 3 : The physician's ability to classify multiple myeloma receiving immunomodulatory therapy in low, intermediate or high risk of thrombosis in real-life practice is failing.**

Chalayer<sup>1</sup> E, Chapelle<sup>2,3</sup> C, Leleu<sup>4</sup> X, Elalamy<sup>5</sup> I, Laporte<sup>1,2,3</sup> S, Tardy<sup>1,2</sup> B

1 Centre d'investigation Clinique CIC 1408, CHU Saint Etienne, France

2 EA 3065, Groupe de Recherche sur la Thrombose, Saint-Etienne, CHU Saint-Etienne

3 Unité de Recherche Clinique, Innovation, Pharmacologie, Université J Monnet, Saint Etienne, France

4 Hôpital Huriez, Département des Maladies du sang, CHU Lille, France

5, Hôpital Tenon, APHP, France

Dear Sirs,

Patients diagnosed with multiple myeloma (MM) have an increased venous thromboembolic events (VTE) risk. This risk increases in relation to the patient risk factors and the type of chemotherapy. The concept that immunomodulatory drugs (IMiDs) such as thalidomide and lenalidomide might significantly contribute to the increased risk of TE is well recognized [1,2]. Nevertheless, IMiDs are one of the most used therapies in MM and new IMiDs are still developed.

Risk assessment model for the management of VTE risk in MM has been published by the International Myeloma Working Group. They recommend if the patients have no risk factor, or any one risk factor aspirin as thromboprophylaxis, two or more risk factors or any myeloma therapy-related risk factor, low-molecular-weight heparin (LMWH) or full-dose warfarin [3]. Concerning the American Society of Clinical Oncology, they recommended aspirin or LMWH for lower-risk patients and LMWH for higher-risk patients receiving IMiDs-based regimens with chemotherapy and/or dexamethasone [4].

MELISSE is a large French prospective multicentre observational study, designed to evaluate the VTE incidence, the risk factors and the prophylaxis strategy in IMiDs-treated MM in a real-life practice [5]. In this study, the protocol had planned visits with questionnaires to collect VTE events, patients' characteristics, types of treatment and thromboprophylaxis. The eligibility criteria were patients diagnosed with MM, receiving IMiDs (thalidomide or lenalidomide), treated in either first, second or third line of chemotherapy. A total of 524 MM patients were included. The median age was 71 years old. The sex ratio was 0.94 (256 males/273 females). Overall, 63.5% had lenalidomide-based therapy, 46.5% had thalidomide-based therapy and 34% were at first course of therapy. Twenty-one percent of patients had received rEPO (recombinant erythropoietin). Concerning thrombo-

prophylaxis, 84% of patient received a treatment : 303 had aspirin, 87 had LMWH and 46 had vitamin K antagonists (VKA).

VTE incidence was 6% (28 patients), including 2.5% pulmonary embolism (PE) (11 patients). VTE occurred in 7% on aspirin vs 3% on LMWH prophylaxis, and none on vitamin K antagonists (VKA).

In this study, physicians had to define for each patient the VTE risk assessment as low, intermediate or high, based on their evaluation. So with our analysis approach using MELISSE data, we have wanted to know if the physicians evaluation match with the MM risk factors described in guidelines and if this assessment had an impact on the choice of thromboprophylaxis and on the occurrence of VTE. Used risk factors were past medical history of VTE or/and familial thrombophilia, comorbidities (high body mass index, diabetes, cardiac insufficiency, respiratory insufficiency, renal failure or clotting disorders), rEPO, confinement to bed, recent surgery procedure, newly diagnosed MM (<6 months), Durie and Salmon stage III, central venous catheter, IMiDs and high dose dexamethasone.

As the risk assessment was not recorded for 11 patients, the study population of this analysis is 513 patients (table 1). Forty-seven percent of patients were classified by the physician as low risk, 39% as intermediate and 14% as high risk. VTE events were observed at all risk assessment levels. VTE occurred in 6.4% in the low risk group, 5.9% in the intermediate and 3.1% in the high risk group without statistically difference between groups. The number of risk factor does not match very well with risk assessment (table 1). Indeed, while near all patients (97 %) in high risk group presented 3 risk factors at least, more than 82 % of patients presented also 3 VTE risk factors at least in the low risk group and in the intermediate risk group. Some characteristics of patients seem to have more influence on clinicians for the risk classification. For example, patients with personal history of VTE or patients confined to the bed are more often classified in the high risk group. In contrast, other characteristics of patients often recognized as major risk factors such as EPO treatment, MM duration less than 6 months and high doses of dexamethasone seem to have no influence on clinician's classification. The physician's choice in the type of prophylaxis appears a little more correlated with their perception of VTE risk (figure 1). Indeed, as expected the absence of prophylaxis and the amount of aspirin prescription decrease when the VTE risk increase (figure 1) but aspirin is still given in more than 19% of patients considered as high VTE risk (table 1). In the same way, LMWH or full-dose of VKA prophylaxis are mainly given in patients with VTE high risks but are also given in near 12% of patients with low VTE risk (Table 1). This discrepancy between the number of VTE risk factors established by the physicians and their VTE risk stratification is well reflected by the fact that only 15% (76/511) presented less than 3 risk factors whereas 47% of the patients are classified as low VTE risk. Finally, physicians do not always follow their feeling of the risk, as LMWH and full-dose VKA prophylaxis are prescribed in only 40% (109/274) patients of the intermediate and high risk groups.

VTE risk assessment of MM patients is very difficult. There is a huge gap between the notified risk factors and the physicians feeling. One possible reason of this gap is that physicians do not give the same weight to each risk factor. For example, a person suffering from diabetes has not the same VTE risk than a person who has past medical history of VTE. Moreover, the lack of established specific classification on the staging of thrombotic risk receiving IMiDs explains this failure. The actual recommendations are far from providing unanimity. We hope that open debate and there might be a need to build the defined algorithms to help physicians in their choice of VTE prophylaxis regimen in

IMiDs-treated MM and to identify the most pertinent criteria in this field. Such studies could provide specific answers to the doubts that remain and widen our knowledge about the MM-associated TE.

## References

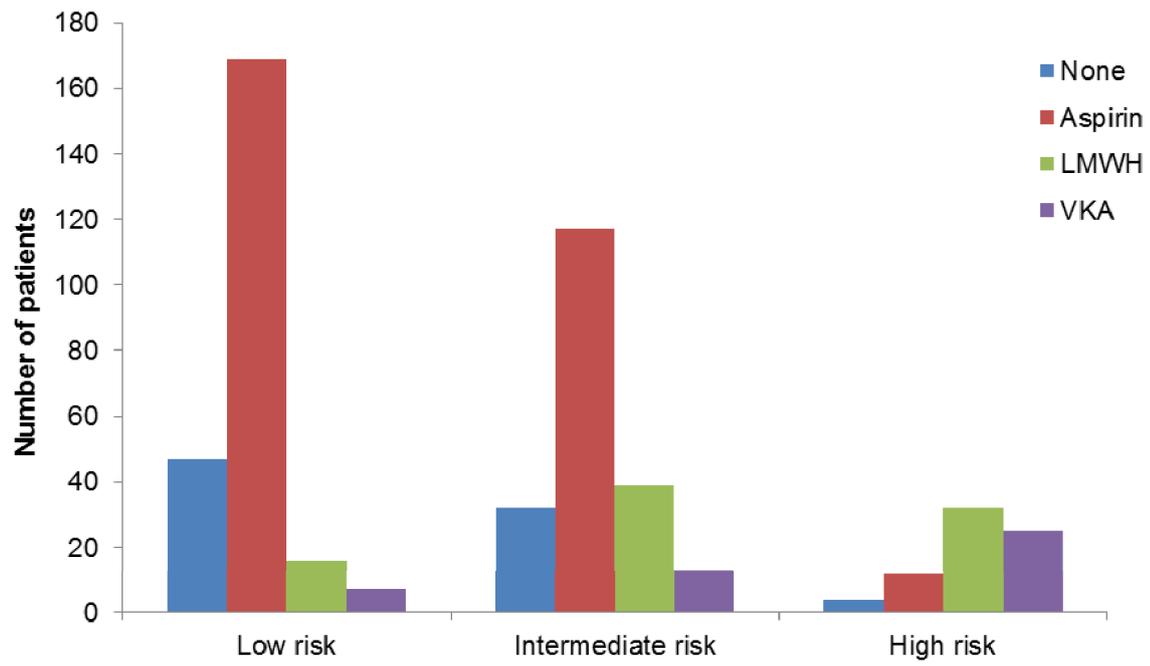
- [1] M. Carrier, G. Le Gal, J. Tay, C. Wu, A.Y. Lee, Rates of venous thromboembolism in multiple myeloma patients undergoing immunomodulatory therapy with thalidomide or lenalidomide: a systematic review and meta-analysis, *J. Thromb. Haemost.* 9 (2011) 653–663.
- [2] E.J. Anaissie, E.A. Coleman, J.A. Goodwin, R.L. Kennedy, K.D. Lockhart, C.B. Stewart, et al., Prophylactic recombinant erythropoietin therapy and thalidomide are predictors of venous thromboembolism in patients with multiple myeloma: limited effectiveness of thromboprophylaxis, *Cancer.* 118 (2012) 549–557.
- [3] A. Palumbo, S.V. Rajkumar, M.A. Dimopoulos, P.G. Richardson, J. San Miguel, B. Barlogie, et al., Prevention of thalidomide- and lenalidomide-associated thrombosis in myeloma, *Leukemia.* 22 (2008) 414–423.
- [4] G.H. Lyman, K. Bohlke, A.A. Khorana, N.M. Kuderer, A.Y. Lee, J.I. Arcelus, et al., Venous Thromboembolism Prophylaxis and Treatment in Patients With Cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline Update 2014, *J. Clin. Oncol.* (2015) JCO.2014.59.7351.
- [5] X. Leleu, P. Rodon, C. Hulin, L. Daley, C. Dauriac, M. Hacini, et al., MELISSE, a large multicentric observational study to determine risk factors of venous thromboembolism in patients with multiple myeloma treated with immunomodulatory drugs, *Thromb. Haemost.* 110 (2013) 844–851.

	Low risk	Intermediate risk	High risk
<b>Number of patients</b>	<b>239 (47%)</b>	<b>201 (39%)</b>	<b>73 (14 %)</b>
<b>Thromboprophylaxis</b>	<b>192 / 239 (80.3%)</b>	<b>169 / 201 (84.1%)</b>	<b>69 / 73 (94.5%)</b>
LMWH	16 (6.7%)	39 (19.4%)	32 (43.8%)
VKA	7 (2.9%)	13 (6.5%)	25 (34.2%)
Aspirin	170 (71.1%)	119 (59.2%)	14 (19.2%)
<b>Risk factor *</b>			
1	1 ( 0.4%)	6 (3.0%)	0 (0.0%)
2	43 (18.0%)	24 (12.1%)	2 (2.7%)
3	106 (44.4%)	58 (29.1%)	14 (19.2%)
4	70 (29.3%)	64 (32.2%)	28 (38.4%)
≥5	19 (7.9%)	47 (23.6%)	29 (39.7%)
<b>VTE</b>	<b>15 / 233 (6.4%)</b>	<b>11 / 186 (5.9%)</b>	<b>2 / 65 (3.1%)</b>
DVT alone	7 (3.0%)	6 (3.2%)	1 (1.5%)
PE alone or PE with DVT	6 (2.6%)	4 (2.1%)	1 (1.5%)
Other	2** (0.9%)	1*** (0.5%)	0 (0.0%)

**Table 1: Characteristics of risk groups.** \* 2 missing data in the intermediate risk group; \*\* Superficial venous thrombosis and cerebral infarct; \*\*\*cerebral infarct ; DVT : Deep venous thrombosis; PE : Pulmonary embolism; VTE : venous thromboembolism

	<b>Low risk (N = 239) Number (%)</b>	<b>Intermediate risk (N = 201) Number (%)</b>	<b>High risk (N = 73) Number (%)</b>	<b>Total (N = 513) Number (%)</b>
<b>Previous history of venous thrombosis</b>	10 (4%)	20 (10%)	39 (53%)	69 (14%)
<b>Family history</b>	8 (3%)	6 (3%)	4 (6%)	18 (4%)
<b>Personnal history</b>	3 (1%)	15 (8%)	38 (52%)	56 (11%)
<b>Associated diseases</b>	36 (15%)	71 (35%)	31 (43%)	138 (27%)
<b>High BMI</b>	10 (4%)	27 (13%)	15 (21%)	52 (10%)
<b>Diabetes</b>	14 (6%)	21 (10%)	13 (18%)	48 (9%)
<b>Cardiac insufficiency</b>	2 (1%)	12 (6%)	6 (8%)	20 (4%)
<b>Pulmonary insufficiency</b>	0 (0%)	7 (4%)	2 (3%)	9 (2%)
<b>Renal insufficiency</b>	15 (6%)	17 (9%)	10 (14%)	42 (8%)
<b>Known genetic risk</b>	0 (0%)	0 (0.0%)	0 (0%)	0 (0%)
<b>Erythropoietin treatment</b>	39 (16%)	57 (28%)	14 (19%)	110 (21%)
<b>Confinement to bed</b>	7 (3%)	17 (9%)	17 (23%)	41 (8%)
<b>Recent surgery</b>	3 (1%)	5 (3%)	2 (3%)	10 (2%)
<b>Myeloma duration &lt; 6 months</b>	79 (33%)	61 (31%)	24 (33%)	164 (32%)
<b>Durie et Salmon stage III</b>	204 (85%)	165 (82%)	66 (90%)	435 (85%)
<b>Central venous Catheter</b>	18 (8%)	23 (11%)	6 (8%)	47 (9%)
<b>Thalidomide ou lenalidomide</b>	238 (100%)	201 (100.0%)	73 (100%)	512 (100 %)
<b>Thalidomide</b>	80 (34%)	76 (38%)	29 (40%)	185 (36%)
<b>Lenalidomide</b>	158 (66%)	125 (62%)	44 (60%)	327 (64%)
<b>High dose of Dexamethasone</b>	148 (62%)	115 (57%)	40 (55%)	303 (59%)

**Table 2 : Characteristics of patients by risk stratification.** High BMI : Body Mass Index upper  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup>.



**Figure 1 : Thromboprophylaxis and risk groups.** LMWH : low molecular weight heparin; VKA : vitamin K antagonists.

### III. Etude médico-économique

#### A. Introduction

Les données actuelles sur le myélome multiple et la MTEV sont très limitées. Elles ne permettent pas de connaître le mécanisme par lequel les traitements par thalidomide augmenteraient le risque de thrombose et d'identifier les patients à risque de MTEV et nécessitant une thromboprophylaxie. A l'heure actuelle, il existe une pression certaine (sociétés savantes et industriels du médicament) poussant les cliniciens à traiter leurs patients par anticoagulants, au motif que ceux-ci augmenteraient l'espérance de vie des patients cancéreux. Cette affirmation est sous-tendue par ailleurs par le fait que l'aspirine n'est pas reconnue comme un traitement préventif de la thrombose veineuse, alors même que la supériorité du traitement par HBPM dans le myélome multiple n'a pu être démontrée<sup>7</sup> et que son coût est environ 80 fois plus cher qu'un traitement par aspirine (cela sans même prendre en compte le coût engendré par la prescription d'une infirmière à domicile pour la réalisation des piqûres que nécessite un traitement par héparine). A contrario, le problème de sûreté des HBPM de longue durée dans le cadre du MM, où les patients cumulent les facteurs de risque hémorragique : thrombopénie, insuffisance rénale, cachexie, etc..., n'est jamais évoqué. Enfin, l'incidence des événements hémorragiques chez ces patients, la plupart du temps n'est pas rapportée.

#### B. Problématiques et études

L'article n°4, publié dans Journal of Thrombosis and Haemostasis consiste en une méta-analyse sur des données publiées, réalisée sur les patients cancéreux recevant une héparine. Nous avons tout d'abord cherché à identifier tous les essais randomisés pertinents publiés et non publiés, comparant les HBPM à un placebo ou un traitement standard chez le patient cancéreux, c'est-à-dire placebo ou aucun traitement chez les patients cancéreux sans ETEV et AVK chez les patients atteints de cancer et ETEV. Une recherche exhaustive de la littérature, à la fois manuelle et assistée par ordinateur, a été réalisée sans aucune restriction sur la langue de publication ou sur les dates. La recherche assistée par ordinateur a été réalisée sur les bases de données électroniques (Medline, CancerLit, Embase, Google Scholar) et la Cochrane Library en utilisant les termes « randomisé » et

« contrôlé » en combinaison avec le terme « cancer » ainsi qu'avec des noms génériques et commerciaux des HBPM. Nous avons également cherché manuellement dans les bibliographies des articles publiés rapportant des résultats d'essais cliniques, de méta-analyses et des revues systématiques afin de repérer des études supplémentaires. Nous avons également examiné les résumés de grands congrès internationaux (American Society of Clinical Oncology (ASCO), European Cancer Organisation (ECCO), International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH), American Society of Hematology (ASH)), et contacté les fabricants d'HBPM pour savoir s'il existait des études non publiées. Lorsque des études ont été publiées à la fois comme un résumé et un article complet, seul l'article a été référencé. Si plus d'un article a été publié pour une même étude, nous avons extrait les informations pertinentes de toutes les publications disponibles. Deux chercheurs ont évalué indépendamment les études pour une éventuelle inclusion, en utilisant les critères prédéfinis suivants : les études devaient être des essais randomisés, contrôlés, incluant des patients atteints de cancer et comparant l'HBPM au placebo ou aucun traitement ou à long terme des AVK chez les patients TE. Le type d'HBPM, la dose, la durée de traitement, ou la durée de suivi n'ont pas été utilisés pour déterminer l'inclusion des études dans la méta-analyse. Les désaccords ont été résolus après discussion.

Concernant l'analyse statistique, il a été utilisé un modèle à effets fixes basé sur le logarithme du rapport de risque et pondéré par l'inverse de la variance pour combiner les résultats des essais individuels. Un modèle à effets aléatoires a été utilisé en cas d'hétérogénéité inexplicée. Un graphique en entonnoir de l'effet traitement par rapport à la précision de l'étude a été créé pour la survie globale, pour détecter un éventuel biais de publication. Les résultats ont été représentés à l'aide d'un forest plot. Cette technique peut être utile pour déterminer si de petites études supplémentaires ont pu être réalisées mais non publiées en raison des résultats défavorables ou négatifs. Tous les calculs statistiques ont été effectués à l'aide d'EasyMA.

Cette analyse montre que les résultats obtenus dépendent des données qui sont prises en compte. En effet, quand seuls les essais utilisant des doses prophylactiques d'HBPM sont prises en compte, le risque relatif (RR) est de 0.47 (intervalle de confiance [CI] 95%, 0.35 - 0.64) en faveur des HBPM sans augmenter le risque hémorragique (RR 1.25; 95% CI 0.78 - 2.00). Cependant, cet effet est principalement attribuable à une seule étude. Quand seuls les essais utilisant une dose intermédiaire d'HBPM sont pris en compte, le RR est de 0.51 (95% CI 0.19 - 1.35). Cette étude montre donc qu'il existe de nombreux facteurs confondants dans ces analyses (type de tumeur, statut du cancer, durée de traitement par HBPM, doses utilisées) et ne permet pas de conclure à un effet des HBPM sur la survie des patients cancéreux.

LETTERS TO THE EDITOR

## The effect of low molecular weight heparin on survival in cancer patients: an updated systematic review and meta-analysis of randomized trials: comment

B. TARDY,\*† E. CHALAYER,\* C. CHAPELLE\* and P. MISMETTI†

\*Inserm, CIC 1408, CHU, Saint-Etienne; and †EA3065, Université Jean Monnet, Saint-Etienne, France

**To cite this article:** Tardy B, Chalayer E, Chapelle C, Mismetti P. The effect of low molecular weight heparin on survival in cancer patients: an updated systematic review and meta-analysis of randomized trials: comment. *J Thromb Haemost* 2014; 12: 1572–3.

See also Sanford D, Naidu A, Alizadeh N, Lazo-Langner A. The effect of low molecular weight heparin on survival in cancer patients: an updated systematic review and meta-analysis of randomized trials. *J Thromb Haemost* 2014; 12: 1076–85. and Sanford D, Lazo-Langner A. The effect of low-molecular-weight heparin on survival in cancer patients: an updated systematic review and meta-analysis of randomized trials: reply. This issue, pp 1574–5.

We read with interest the article by Sanford *et al.* [1], reporting, through a meta-analysis, the effect of low molecular weight heparin (LMWH) on survival in cancer patients. The authors found nine studies that met their inclusion criteria (1-year survival outcomes). Then, after reporting the effects of LMWH on overall survival in patients with cancer, they also extracted data on venous thromboembolism (VTE) for the nine trials. However, in this way, the authors lost numerous studies that could change the results of meta-analysis on VTE. Indeed, using the same methodology to identify the trials, we found five additional studies, including six trials that reported the effects of LMWH on VTE occurrence in cancer patients [2–6]. These five studies included a total of 1430 patients (of whom 715 received LMWH), as 5987 patients (of whom 3188 received LMWH) were included in the meta-analysis of Sanford *et al.* In addition, in the meta-analysis reported by Sanford *et al.*, all VTE events, including symptomatic and incidental events, were taken into account, but these events may vary, at least in their outcomes. In addition to this problem of completeness, there is also, in their meta-analysis, a mixture of patients who received a prophylactic dose of LMWH and of patients

who received an intermediate dose of LMWH. Indeed, in the study of Klerk *et al.* [7] and in the study of Van Doormaal *et al.* [8], the patients received at least 2 weeks of an intermediate dose of nadroparin. Taking into account the studies of Maraveyas *et al.* [3] and Riess *et al.* [4], in which patients also received intermediate doses of dalteparin and enoxaparin, 611 patients received an intermediate dose of LMWH and 3286 received a prophylactic dose of LMWH. This is of great importance, as coagulation activation and thrombin generation are substantially increased in cancer patients, and this thrombotic state is substantially attenuated only by higher LMWH doses [9]. Finally, if all of these data are taken into account, the results of the meta-analysis of trials evaluating the effects of LMWH on VTE in cancer patients are different. Indeed, when only trials using prophylactic doses of LMWH are considered, the pooled relative risk (RR) is 0.47 (95% confidence interval [CI] 0.35–0.64) in favor of LMWH intervention without increasing the risk of major hemorrhage (RR 1.25; 95% CI 0.78–2.00) (Fig. 1). However, this observed effect is mainly attributable to one study (weight: 26.6%) [10]. When only trials using intermediate doses of LMWH are considered, the pooled RR becomes 0.51 (95% CI 0.19–1.35) without increasing the risk of major hemorrhage (RR 0.95; 95% CI 0.55–1.62) (Fig. 1).

Because of the great number of confounding factors, including type of tumor, cancer status, and duration of LMWH treatment, it appears to be crucial to include not only all of the trials performed but also to consider the doses used in these trials.

### Disclosure of Conflict of Interests

The authors state that they have no conflict of interest.

Correspondence: Bernard Tardy, CHU Saint Etienne, Inserm CIC 1408, EA3065, Saint Etienne, France.

Tel.: +33 477 12 07 97; fax: +33 477 12 77 88.

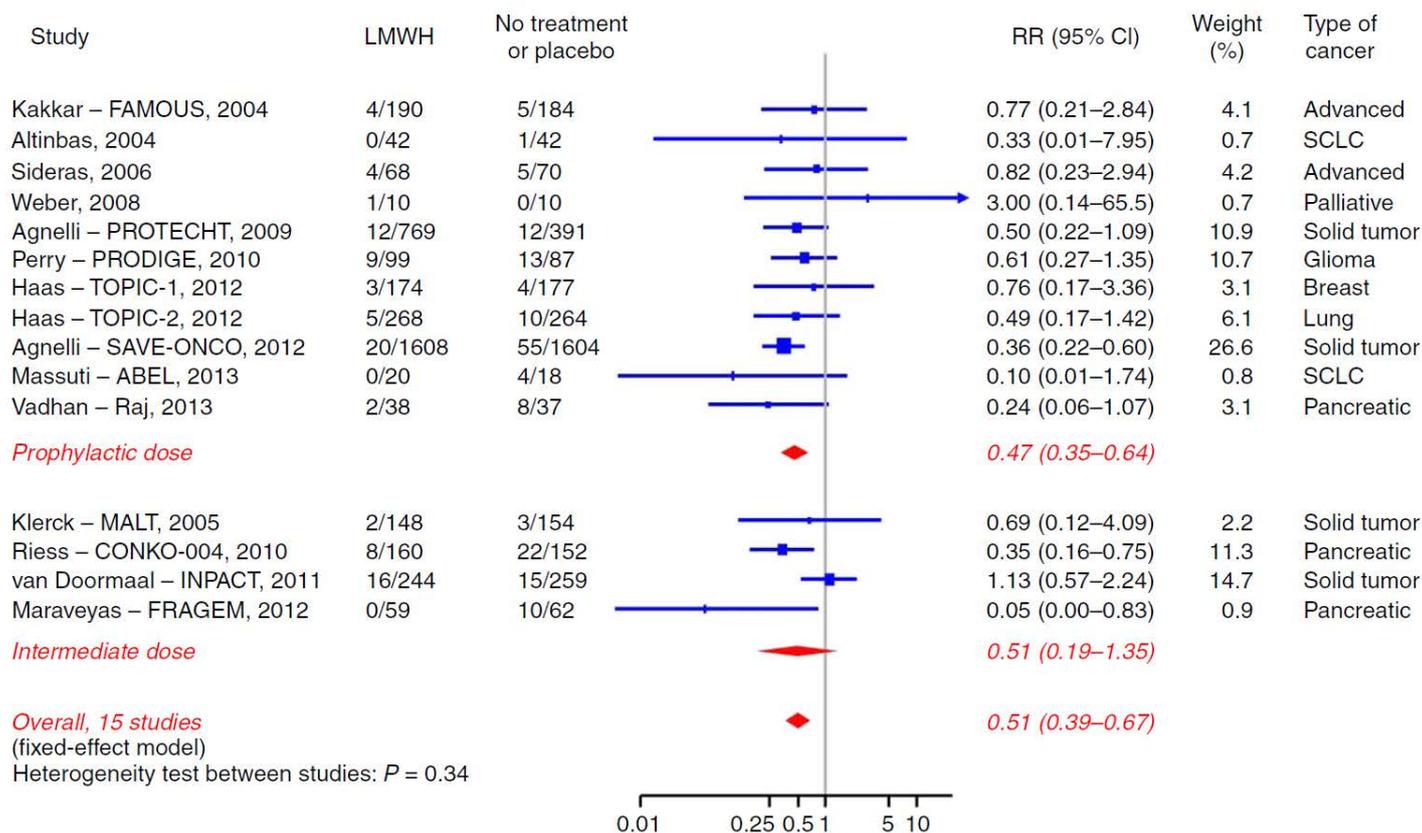
E-mail: bernardtardy@yahoo.fr

DOI: 10.1111/jth.12648

Received 19 June 2014

Manuscript handled by: F. R. Rosendaal

Final decision: F. R. Rosendaal, 20 June 2014



**Fig. 1.** Results of the meta-analysis comparing the effect of low molecular weight heparin (LMWH) with that of placebo or no treatment on the incidence of symptomatic venous thromboembolism in cancer patients. The relative risk (RR) is represented as a vertical line within the bar representing the 95% confidence interval (CI). An RR of < 1 indicates that LMWH is more effective than the comparator. SCLC, small-cell lung cancer.

**References**

- Sanford D, Naidu A, Alizadeh N, Lazo-Langner A. The effect of low molecular weight heparin on survival in cancer patients: an updated systematic review and meta-analysis of randomized trials. *J Thromb Haemost* 2014; **12**: 1076–85.
- Haas SK, Freund M, Heigener D, Heilmann L, Kemkes-Matthes B, von Tempelhoff GF, Melzer N, Kakkar AK; TOPIC Investigators. Low-molecular-weight heparin versus placebo for the prevention of venous thromboembolism in metastatic breast cancer or stage III/IV lung cancer. *Clin Appl Thromb Hemost* 2012; **18**: 159–65.
- Maraveyas A, Waters J, Roy R, Fyfe D, Propper D, Lofts F, Sgouros J, Gardiner E, Wedgwood K, Ettelaie C, Bozas G. Gemcitabine versus gemcitabine plus dalteparin thromboprophylaxis in pancreatic cancer. *Eur J Cancer* 2012; **48**: 1283–92.
- Riess H, Pelzer U, Opitz B, Stauch M, Reitzig P, Hahnfeld S, Müller L, Stieler J, Dörken B, Oettle H. A prospective, randomized trial of simultaneous pancreatic cancer treatment with enoxaparin and chemotherapy: final results of the CONKO-004 trial. *J Clin Oncol (ASCO Annual Meeting Abstracts)* 2010; **28**: Abstract 4033.
- Weber C, Merminod T, Herrmann FR, Zulian GB. Prophylactic anti-coagulation in cancer palliative care: a prospective randomised study. *Support Care Cancer* 2008; **16**: 847–52.
- Vadhan-Raj S, Zhou X, Varadhachary GR, Milind J, Fogelman D, Shroff R, Bueso-Ramos CE, Nguyen M, Wang X, Wolff RA, Abbruzzese JL, Overman MJ. Randomized controlled trial of dalteparin for primary thromboprophylaxis for venous thromboembolism (VTE) in patients with advanced pancreatic cancer (APC): risk factors predictive of VTE. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 2013; **122**: Abstract 580.
- Klerck CP, Smorenburg SM, Otten HM, Lensing AW, Prins MH, Piovella F, Prandoni P, Bos MM, Richel DJ, van Tienhoven G, Büller HR. The effect of low molecular weight heparin on survival in patients with advanced malignancy. *J Clin Oncol* 2005; **23**: 2130–5.
- Van Doormaal FF, Di Nisio M, Otten HM, Richel DJ, Prins M, Buller HR. Randomized trial of the effect of the low molecular weight heparin nadroparin on survival in patients with cancer. *J Clin Oncol* 2011; **29**: 2071–6.
- Trabi L, Kaider A, Schmid R, Kranz A, Quehenberger P, Kyrle PA, Eichenger S. The effects of low molecular weight heparin at two different dosages on thrombin generation in cancer patients. *Thromb Haemost* 2010; **104**: 92–9.
- Agnelli G, George DJ, Kakkar AK, Fisher W, Lassen MR, Mismetti P, Mouret P, Chaudhari U, Lawson K. Semuloparin for thromboprophylaxis in patients receiving chemotherapy for cancer. *N Engl J Med* 2012; **366**: 601–9.

Le deuxième travail, l'article n°5, soumis à Journal of Clinical Oncology est une analyse médico économique du seul essai randomisé réalisé à ce jour sur la thromboprophylaxie chez les patients présentant un MM *de novo* traité par thalidomide et publié dans cette même revue.<sup>7</sup>

Pour cela, nous avons utilisé une approche par modélisation. Nous avons complété les résultats de l'étude de Palumbo<sup>7</sup> par des données issues de la littérature. Nous avons notamment recherché des informations sur la qualité de vie des patients atteints de MM, sur la qualité de vie relative aux traitements reçus et sur la mortalité par pathologie. Concernant les coûts et les durées de séjour, nous avons utilisé à la fois des données locales en contactant le département d'information médicale (DIM) du CHU de St Etienne et des données nationales disponibles auprès de l'agence technique de l'information sur l'hospitalisation (ATIH) de l'année 2013. En effet, les établissements de santé doivent procéder depuis quelques années à l'analyse de leur activité médicale et transmettre aux services de l'État et à l'Assurance Maladie les informations relatives à leur activité. À cette fin il a été mis en œuvre des systèmes d'information qui nous ont permis de récupérer les informations nécessaires à notre étude. Ceux-ci tiennent compte des pathologies et des modes de prise en charge. Pour les séjours hospitaliers en soins de courte durée, cette analyse est fondée sur le recueil systématique d'informations administratives et médicales, qui constituent le résumé de sortie standardisé (RSS). Les informations recueillies font l'objet d'un traitement automatique aboutissant au classement des RSS en un nombre volontairement limité de groupes cohérents associant un point de vue médical mais pas seulement, ceux-ci doivent être également cohérents d'un point de vue économique, selon les coûts engendrés : il s'agit des groupes homogènes de malades (GHM). Il a donc fallu pour notre étude déterminer les GHM de nos patients selon la classification française version 11 (2009), adaptée de la classification américaine des Diagnostic Related Groups. Nous avons tout d'abord retrouvé les catégories majeures de diagnostic (CMD), premier niveau de classement des RSS. Puis une fois déterminé, nous avons établi de GHM des différents événements présentés par nos patients (tableau III-1). Il a ensuite fallu établir le groupe homogène de séjours (GHS) qui introduit une notion tarifaire en rapport avec le financement des établissements de santé. Un GHM correspond à un ou plusieurs GHS selon la grille tarifaire et à une durée moyenne de séjour (DMS). Le DIM nous a permis de récupérer la répartition des GHS parmi les malades.

Evènement	GHM	Libellé
AVC	01M301	Accidents vasculaires intracérébraux non transitoires, niveau 1
AVC	01M302	Accidents vasculaires intracérébraux non transitoires, niveau 2
AVC	01M303	Accidents vasculaires intracérébraux non transitoires, niveau 3
AVC	01M304	Accidents vasculaires intracérébraux non transitoires, niveau 4
AVC	01M30T	Transferts et autres séjours courts pour accidents vasculaires intracérébraux non transitoires
EP	04M101	Embolies pulmonaires, niveau 1
EP	04M102	Embolies pulmonaires, niveau 2
EP	04M103	Embolies pulmonaires, niveau 3
EP	04M104	Embolies pulmonaires, niveau 4
EP	04M10T	Embolies pulmonaires, très courte durée
IDM	05M041	Infarctus aigu du myocarde, niveau 1
IDM	05M042	Infarctus aigu du myocarde, niveau 2
IDM	05M043	Infarctus aigu du myocarde, niveau 3
IDM	05M044	Infarctus aigu du myocarde, niveau 4
IDM	05M04T	Infarctus aigu du myocarde, très courte durée
Thrombose artérielle	05M121	Troubles vasculaires périphériques, niveau 1
Thrombose artérielle	05M122	Troubles vasculaires périphériques, niveau 2
Thrombose artérielle	05M123	Troubles vasculaires périphériques, niveau 3
Thrombose artérielle	05M124	Troubles vasculaires périphériques, niveau 4
Thrombose artérielle	05M12T	Troubles vasculaires périphériques, très courte durée
Major bleeding	06M041	Hémorragies digestives, niveau 1
Major bleeding	06M042	Hémorragies digestives, niveau 2
Major bleeding	06M043	Hémorragies digestives, niveau 3
Major bleeding	06M044	Hémorragies digestives, niveau 4
Major bleeding	06M04T	Transferts et autres séjours courts pour hémorragies digestives
DVT	05M071	Thrombophlébites veineuses profondes, niveau 1
DVT	05M072	Thrombophlébites veineuses profondes, niveau 2
DVT	05M073	Thrombophlébites veineuses profondes, niveau 3
DVT	05M074	Thrombophlébites veineuses profondes, niveau 4
DVT	05M07T	Thrombophlébites veineuses profondes, très courte durée

**Tableau III-1 : Correspondance entre les évènements et les GHM.** GHM : Groupes homogènes de malades

La simulation des évènements a été réalisée pour un nombre total de 10 000 patients en utilisant la technique de bootstrap. Le bootstrap est une méthode statistique de ré-échantillonnage. Elle ne nécessite pas d'autre information que celle disponible dans l'échantillon. Elle crée de « nouveaux échantillons » par tirage dans l'échantillon initial. Chaque patient a été simulé séparément sur une durée de suivi de 183 jours (c'est-à-dire 6 mois), durée basée sur le taux d'incidence de la MTEV dans le MM. La moitié des patients a reçu de l'aspirine et l'autre moitié une HBPM. Nous avons simulé ensuite pour chaque patient la survenue d'un évènement de la liste

suivante : TVP, EP, thrombose artérielle, infarctus du myocarde (IDM), accident vasculaire cérébral (AVC), hémorragie majeure, mort ou sans événement. Le tableau correspondant à la probabilité de réaliser un de ces événements et l'arbre décisionnel correspondant se trouvent dans l'article. Pour tous les événements une date d'apparition de l'évènement est simulée : uniforme de 0 à 3 mois pour l'aspirine et uniforme de 0 à 6 mois pour l'HBPM.<sup>7</sup> Une date de décès est aussi simulée pour les patients décédés : uniforme de de 0 à 110 jours (toutes les morts ont lieu entre le 1er et le 110ème jour et on note une stabilisation par la suite).<sup>42</sup> Pour tous les patients qui ont eu un événement, une survenue de mort après événement est ensuite simulée suivant les probabilités du tableau III-2.

Evènement	IC95%Moins	IC95%Plus
Thrombose veineuse profonde	2.90% <sup>43</sup>	6.80% <sup>43</sup>
Embolie pulmonaire	6.10% <sup>43</sup>	13.30% <sup>43</sup>
Thrombose artérielle	3.40% <sup>44</sup>	3.40% <sup>44</sup>
Infarctus du myocarde	7.40% <sup>45</sup>	7.70% <sup>45</sup>
Accident vasculaire cérébral	8.90% <sup>46</sup>	12.70% <sup>46</sup>

**Tableau III-2 : Probabilités de décès après un évènement indésirable**

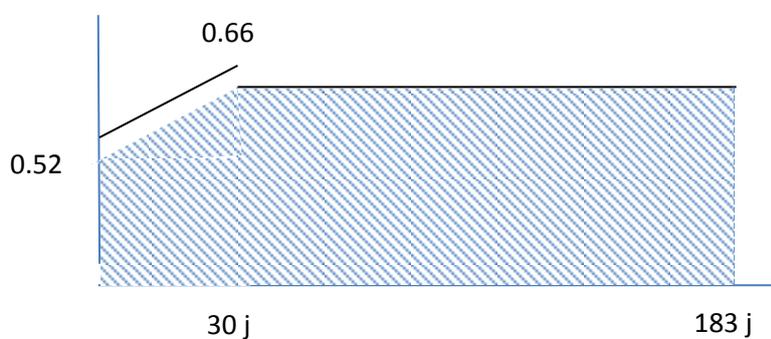
Pour chaque évènement, nous avons simulé le GHM dans lequel est allé le patient. Pour cela nous avons réalisé un tableau de contingence faisant correspondre chaque évènement à plusieurs GHM. Le nombre de séjour de ces GHM sur l'année 2013 nous a permis de calculer la probabilité d'appartenir à chaque GHM. Pour chaque GHM attribué un temps d'hospitalisation a été simulé en utilisant la loi log-normale et l'écart-type de la DMS de chaque GHM comme paramètre. Avec ce temps d'hospitalisation, le coût total de chaque hospitalisation peut être calculé en utilisant la tarification nationale (prise en compte des bornes hautes et bornes basses). Concernant le coût journalier de chaque médicament le Vidal a été utilisé (6.72€/j pour l'HBPM et 0.11€/j pour l'aspirine). Le coût de chaque médicament est calculé sur le temps de suivi auquel on soustrait la durée de l'hospitalisation. Les cas d'arrêt de traitement après événement ou de double traitement ont été pris en compte dans le coût selon le tableau III-3.

	TVP	EP	thrombose artérielle	IDM	AVC	Hémorragie majeure
Aspirine	Arrêt , HBPM	Arrêt, HBPM	2 traitements	Poursuite	Poursuite	Arrêt
HBPM	Poursuite	Poursuite	2 traitements	2 traitements	2 traitements	Arrêt

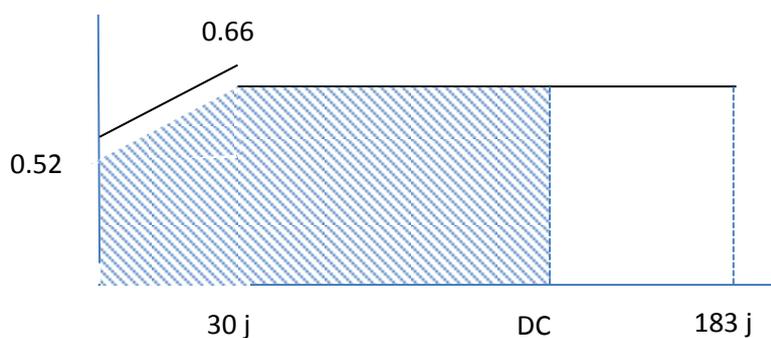
**Tableau III-3 : Modalité de gestion du traitement après un évènement.** TVP : thrombose veineuse profonde ; EP : embolie pulmonaire ; IDM : infarctus du myocarde ; AVC : accident vasculaire cérébral ; HBPM : héparine de bas poids moléculaire.

La qualité de vie (quality-adjusted life years, QALYs), correspond à l'utilité. Les utilités correspondent à l'état de santé donné du patient sur une échelle de 0 à 1, où 0 correspond à la mort et 1 à une santé parfaite. Elles sont mesurées pour la durée de l'étude. Pour les calculer nous avons déterminé l'aire sous la courbe des utilités en fonction du temps pour chaque patient. A cela nous avons soustrait l'utilité liée au médicament et la perte de l'utilité (disutilité) liée à l'hospitalisation lors de l'évènement indésirable (disponible dans l'article).

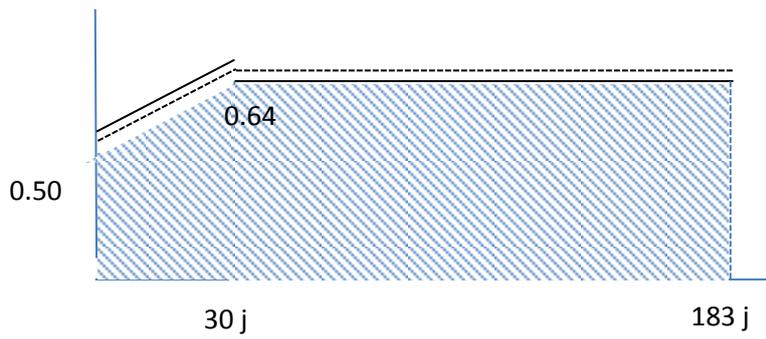
Un patient sans évènement aura le parcours suivant :



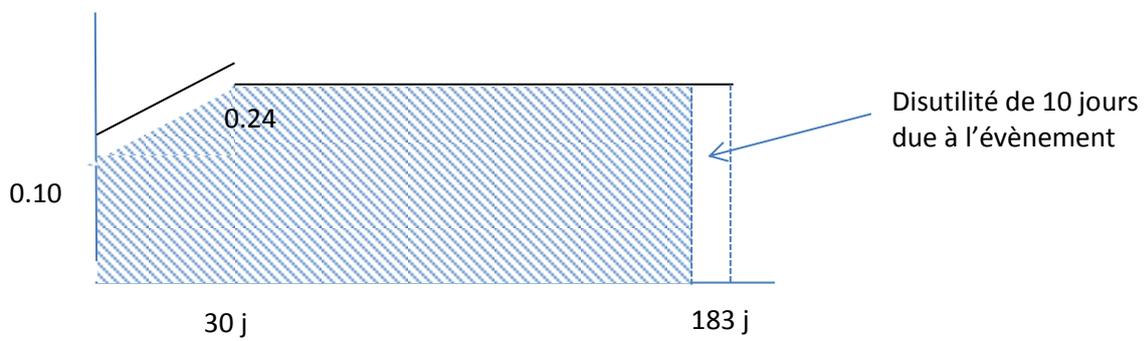
Si le patient décède :



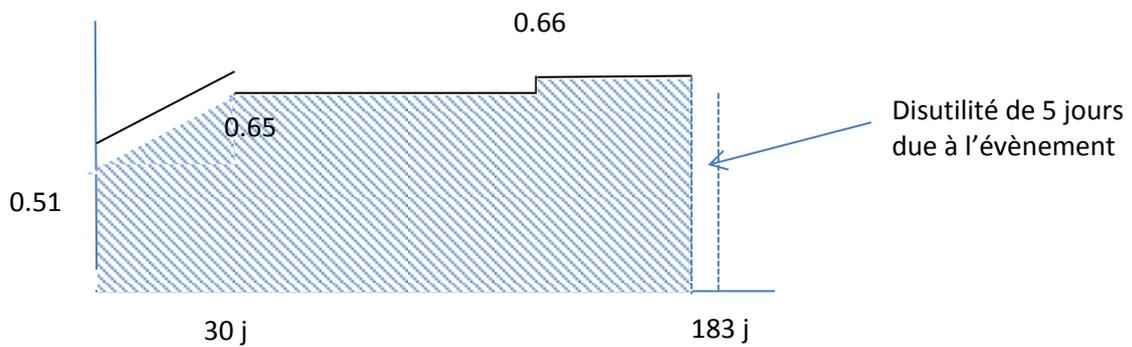
Si le traitement est ici l'HBPM : avec une utilité de 0.98 on a alors le parcours suivant :



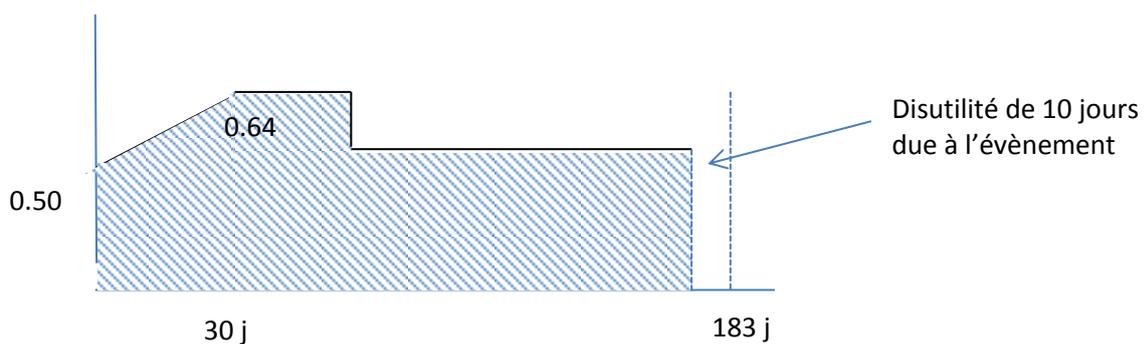
Si le patient présente un évènement qui ne perturbe pas le traitement :



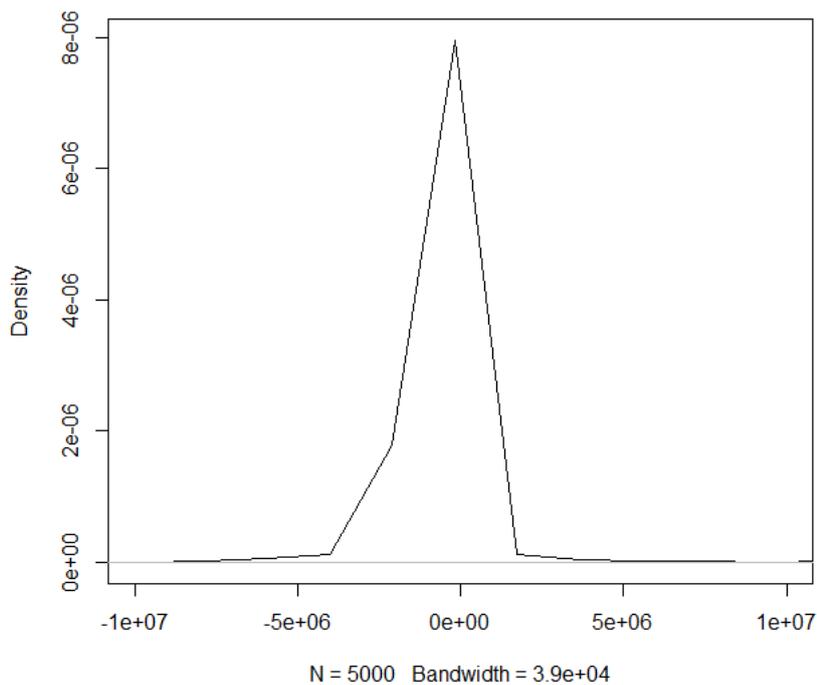
Si le patient présente un évènement qui provoque un arrêt du traitement :



Cas où l'évènement provoque la combinaison des 2 traitements :



Le tableau descriptif de la cohorte simulée est disponible dans l'article. Le nombre de QALYs a été estimé à 0.302 pour l'aspirine contre 0.299 avec l'HBPM. Le gain en termes de QALYs avec l'aspirine est donc d'approximativement un jour. Sur les 6 mois, le coût moyen était de €1,233 par patient dans le groupe HBPM (95% CI, 6.72 to 6,335.45) et de €216 dans le groupe aspirine (95% CI, 0.11 to 10,384.91). Il en résulte un coût supplémentaire de €1,017 par patient traité par HBPM. Le ratio coût-efficacité incremental (ICER) qui correspond à la différence des coûts moyens sur la différence des effets moyens, a été calculé à -425,247.5€ (95% CI, -3,146,297 à -152,294) par QALY en faveur de l'aspirine versus l'HBPM. L'aspirine est donc la stratégie largement dominante. La courbe de densité de l'ICER correspond à la figure III-1. Le nuage de points obtenu par bootstrap autour de la valeur estimée de l'ICER aspirine par rapport à HBPM est disponible dans l'article, de même que le forest plot des analyses de sensibilité.



**Figure III-1 : Courbe de densité de l'ICER.**

La conclusion de cet article est donc édifiante. Non seulement l'utilisation de l'aspirine permet d'économiser des millions d'euros au système de soins, mais on constate également un gain pour le patient au niveau de sa qualité de vie.

**Article n°5 : Cost-effectiveness analysis of low-molecular-weight heparin versus aspirin thromboprophylaxis in patients with multiple myeloma.**

Chalayer Emilie<sup>1</sup>, Bourmaud Aurélie<sup>1,2,3</sup>, Tinquaut Fabien<sup>3</sup>, Chauvin Franck<sup>1,2,3</sup>,  
Tardy Bernard<sup>1</sup>

1 Inserm, CIC1408, F-42055 Saint-Etienne, France

2 EMR 3738, Ciblage Thérapeutique en Oncologie, Université Claude Bernard, F-  
69003 Lyon, France

3 Département de Santé Public, Centre Hygée, Institut de Cancérologie Lucien  
Neuwirth, F- 42270 Saint Priest en Jarez, France

Corresponding author:

Emilie Chalayer,

Hospitalisation Médicale d'Urgence, CHU de Saint-Etienne,

Centre d'investigation clinique – CIC 1408

42055 ST ETIENNE CEDEX 2

Tel : 33 4 77 12 07 97

Fax : 33 4 77 12 05 48

Email : [sdb.e@hotmail.fr](mailto:sdb.e@hotmail.fr)

## Abstract

**Purpose** To assess the cost-effectiveness of LMWH versus aspirin as primary thromboprophylaxis throughout chemotherapy for newly diagnosed multiple myeloma (MM) patients treated with protocols including thalidomide.

**Methods** We used a modeling approach combining data from the only randomized trial evaluating the efficacy of aspirin compared with LMWH as primary thromboprophylaxis for newly diagnosed MM patients and secondary sources for costs, and utility values. We performed a decision-tree analysis and our base case was a hypothetical cohort of patients identical to those randomized. Based on the thromboembolism incidence in MM, we chose a 6-month time frame. The incremental cost-effectiveness ratio was calculated using estimated quality-adjusted life years (QALYs) as the efficacy outcome. The model predicted outcomes for a cohort of 10,000 patients using a bootstrap resampling technique. Incremental costs and effectiveness were estimated for each strategy and the incremental costeffectiveness ratio (ICER) was calculated. One-way sensitivity analyses were performed.

**Results** The number of QALYs was estimated to be 0.302 with aspirin and 0.299 with LMWH. The estimated gain in QALYs with aspirin was therefore approximately one day. Over 6 months, the mean total cost was €1,233 per patient in the LMWH arm (95% CI, 6.72 to 6,335.45) and €216 in the aspirin arm (95% CI, 0.11 to 10,384.91). This resulted in an incremental cost of €1,017 per patient treated with LMWH. The ICER for the aspirin versus LMWH strategy was calculated to be -425,247.5€ (95% CI, -3,146,297 to -152,294) per QALY gained.

**Conclusion** Aspirin rather than LMWH thromboprophylaxis, during the first six months of chemotherapy for MM, is associated with significant cost savings per patient and also with an unexpected slight increase in quality of life.

## Introduction

Venous thromboembolic events (TE) constitute the second most common cause of death in cancer patients.<sup>1</sup> Among hematologic malignancies, multiple myeloma (MM) is associated with the highest risk of thrombosis,<sup>2</sup> particularly during the first six months of chemotherapy.<sup>3,4</sup> In MM patients, TE is associated with a lower survival rate.<sup>5</sup> The risk of TE is directly correlated with the patient's risk factors and the type of chemotherapy. Immunomodulatory drugs (IMiDs, such as thalidomide and lenalidomide), and certain other treatments (dexamethasone and erythropoietin) might significantly increase the risk of TE.<sup>6,7</sup>

American Society of Clinical Oncology guidelines recommend that MM patients receiving IMiDs concomitantly with chemotherapy and/or dexamethasone should receive prophylaxis with either low-molecular weight heparin (LMWH) or low-dose aspirin to prevent venous TE.<sup>8</sup> The International Myeloma Working Group recommends primary thromboprophylaxis with LMWH or full-dose warfarin for newly diagnosed patients treated with drug combinations including thalidomide.<sup>9</sup> Finally, the European Myeloma Network recommends that enoxaparin should be used for patients at high risk of thrombosis.<sup>10</sup>

Recently, Palumbo et al reported the results of the first, and so far only randomized trial evaluating the efficacy of aspirin compared with warfarin or LMWH as primary thromboprophylaxis throughout chemotherapy for newly diagnosed MM patients treated with protocols including thalidomide.<sup>4</sup> This multicenter, open-label, phase III trial showed that the efficacies of aspirin and warfarin were similar to that of LMWH in reducing serious TE, acute cardiovascular events and sudden deaths, even though, overall, LMWH seemed slightly more effective.

Prophylactic use of antithrombotics significantly reduces TE incidence and thereby the length of hospitalization, accounting for a large proportion of the direct medical costs of cancer care. However, thromboprophylaxis clearly has a substantial impact on health care resource consumption too, resulting in a cost increase during recent years. Both LMWH and aspirin strategies appear to be safe and are used in clinical

practice. We hypothesized that the cost of primary thromboprophylaxis could be reduced by limiting the use of LMWH, current practice consisting of continued ambulatory LMWH prophylaxis throughout chemotherapy. The slight superiority of LMWH prophylaxis reported by Palumbo et al<sup>4</sup> is arguable and the cost differential between LMWH and aspirin was not considered. The primary objective of this study was to assess the cost-effectiveness of LMWH versus aspirin, using a modeling approach.

## **Methods**

### ***Approach***

To assess the cost effectiveness of thromboprophylaxis in MM patients, we performed a decision-tree analysis of resumed data. Our base case was a hypothetical cohort of patients identical to those randomized to aspirin, warfarin or LMWH in the Palumbo study,<sup>4</sup> namely patients with newly diagnosed MM treated with protocols including thalidomide. The resumed data used in the model included outcome probabilities derived from the Palumbo study,<sup>4</sup> costs from a French financial administration database<sup>11</sup>, and published mortality<sup>12</sup> and utility values.<sup>13</sup> Based on the TE incidence in MM, we chose a 6-month time frame. The incremental costeffectiveness ratio was calculated using estimated quality-adjusted life years (QALYs) as the efficacy outcome. Due to the short time frame, no discounting rate was applied. The perspective chosen was that of the French National Healthcare Insurance system.

### ***Model***

The decision tree for comparing aspirin (100 mg/d) and LMWH (enoxaparin 40 mg/d) strategies is described in Figure 1. Our model included all the clinical outcomes described in the Palumbo study:<sup>4</sup> pulmonary embolism (PE), deep venous thrombosis (DVT), arterial thrombosis (AT), acute myocardial infarction (AMI), stroke, sudden otherwise unexplained death (presumed to be caused by PE, AMI or stroke) and major bleeding. MM mortality data were extracted from another study<sup>12</sup> comparing MM treatments. Patients were treated initially with aspirin 100 mg/d or with enoxaparin 40 mg/d.

DVT was diagnosed if ultrasound revealed a noncompressible proximal vein or if ascending contrast venography or computed tomography of abdominal or iliofemoral

detected an intraluminal filling defect in a proximal lower limb vein. We assumed that half the subjects experiencing DVT were treated as outpatients. PE was identified by high-probability lung scan, intermediate-probability lung scan in the presence of objectively confirmed DVT, diagnostic spiral computed tomography scan, diagnostic pulmonary angiography, or diagnostic transesophageal echocardiography. AT was diagnosed if Doppler ultrasound or arteriography showed complete arterial occlusion. Cardiovascular events included death with an adjudicated cardiovascular cause or sudden, otherwise unexplained death. AMI was defined by at least two of the following criteria : typical ischemic chest pain, elevation of creatine kinase concentration or its MB fraction, or troponin levels, and new electrocardiographic changes including new or persistent ST-segment and T-wave changes, new bundle branch block, or new Q waves in at least two consecutive leads. Stroke was defined by any new focal neurologic deficit thought to be of vascular origin and lasting over 24 hours, preferably confirmed by computed tomography or magnetic resonance imaging. Major bleeding was defined as fatal bleeding, symptomatic bleeding in a crucial area or organ, or bleeding causing a fall in hemoglobin concentration of 2 g/dL or necessitating transfusion of two units of whole blood or packed red blood cells. After hospitalization, prophylactic or curative antithrombotic treatment was prescribed according to standard practice for each clinical outcome.

### ***Probabilities***

We searched Medline for studies concerning MM and thromboprophylaxis published from 1966 to 2014. The data from the Palumbo study,<sup>4</sup> the only randomized trial comparing aspirin with LMWH and reporting outcomes in great detail, were considered to be the most accurate for our analysis. Previously untreated MM patients enrolled in one of two studies<sup>14,15</sup> were potentially eligible for that study. Exclusion criteria were a clear indication or contraindication for a specific antiplatelet or anticoagulant therapy and active bleeding or a high risk of bleeding. We used the base-case estimate for baseline probabilities. Only patients receiving aspirin (n=220) or LMWH prophylaxis (n=219), as currently recommended in the USA and Europe, were used for the analysis.<sup>8</sup> In the Palumbo study,<sup>4</sup> among the 659 patients analyzed, symptomatic TE, acute cardiovascular events, or sudden death (primary

outcome) occurred in 6.4% of patients in the aspirin group and 5.0% of patients in the LMWH group. The absolute differences were +1.3% (95% CI, -3.0% to 5.7%; P = .544) between the aspirin and LMWH groups. The MM-related mortality rate, 6 months post-thromboprophylaxis initiation, was derived from Kaplan-Meier survival curves in another Palumbo study.<sup>12</sup> Death probabilities after TE were derived from published literature (Table 1).<sup>16-20</sup>

### ***Quality of life and utilities***

Utilities comprise preferences for a given health state, scored on a scale of 0 to 1, where 0 corresponds to death and 1 denotes perfect health. Life expectancy was adjusted for quality of life (utilities) to compute QALYs. Utilities were identified for each health state derived from the Palumbo study,<sup>4</sup> and integrated in the model. We considered the baseline utility for our study to be less than a perfect state of health because all patients in our model already suffered from MM. A systematic review identified some generic preference-based health-related quality of life (HRQoL) studies that were directly related to the population of interest.<sup>21</sup> The utility estimates from HRQoL studies in MM patients receiving intensive therapy range from 0.38 to 0.69, the lowest utility estimates being recorded during treatment periods or immediately after treatment discontinuation, the longer-term HRQoL estimates relating to longer periods after the end of treatment.

The study reported by Uyl-de Groot<sup>13</sup> concerned a population whose characteristics most closely matched those of the Palumbo study<sup>4</sup> population. In that study, utility, estimated by the Euroqol EQ-5D questionnaire, was 0.52 at the start of treatment, increasing to 0.66 one month after treatment discontinuation and remaining at this level up to 6 months.<sup>13</sup> Values for aspirin and LWMH treatments were extracted from two other studies (Table 1).<sup>22,23</sup>

All five outcomes assessed by Palumbo et al<sup>4</sup> were considered, namely PE, DVT, AT, AMI and stroke. For each of these health states, a decrease in utility value was expressed as days of utility lost because of hospitalization, designated as disutility (decomposed method).<sup>24,25</sup> To estimate the number of days lost owing to hospitalization, we used the mean length of hospital stay for each illness, based on national average length-of-stay data for each diagnosis.<sup>11</sup> We considered that DVT

was treated in an outpatient setting in 50% of cases<sup>26</sup> and assumed that patients with DVT who were treated at home had half the disutility of patients treated in hospital.<sup>24</sup> Concerning thromboprophylaxis complications, the mean length of hospital stay for major bleeding was estimated from those reported for intracranial and gastrointestinal bleeding. Other utilities were derived from published data and are presented in Table 1. When multiple events occurred simultaneously in the same individual, the disutility used was the longest base-case estimate. The restricted mean time in each health state was computed from the clinical database using the Kaplan-Meier method. QALYs were then obtained as a weighted sum and subtraction of average times in each health state, using mean utilities and disutilities as weights.

### **Costs**

The cost estimation was conducted from the perspective of the French Health National Insurance system. We used the national reimbursement database as of March 2013 to estimate costs for hospitalization, visits to a general practitioner, home nursing, laboratory investigations and radiologic procedures.<sup>11,27</sup> Patients experiencing PE, AT, AMI, stroke or major bleeding were attributed the full hospitalization fee, adjusted on the national hospital case-mix of these complications. Costs for physician visits and medical procedures were added as necessary. We assumed that half the patients with DVT were treated as outpatients and the other half as inpatients, incurring the full costs of hospitalization for DVT. Drug costs related to a hospital stay were considered to be included in the hospitalization fee. Drug costs of LMWH and aspirin for ambulatory patients were estimated using the average wholesale prices based on the 2013 Vidal drug compendium. No additional costs related to drug administration were included for LMWH thromboprophylaxis, as LMWH can be self-injected<sup>28</sup> and platelet monitoring is no longer recommended in France. Costs related to major bleeding were estimated from mean hospital stays for intracranial and gastrointestinal bleeding (Table 1).

### **Analysis**

The model predicted outcomes for a cohort of 10,000 patients (5,000 for per therapeutic strategy) using a bootstrap resampling technique. Incremental costs and effectiveness were estimated for each strategy and the incremental costeffectiveness ratio (ICER) was calculated.

One-way sensitivity analyses were performed on probabilities and costs to assess the effect of varying baseline estimates within certain ranges on effectiveness, costs and ICER. Uncertainty was addressed probabilistically. We assigned distributions to all variables, probabilities and utilities being based on uniform distribution. Event occurrence dates were distributed uniformly from day 0 to month 6 for the aspirin group and from day 0 to month 3 for the LMWH group. Case-mixes for each cause of hospitalization were distributed log-normally. Parameter values were drawn at random from the assigned distributions using a bootstrap simulation with 5,000 iterations. All analyses were performed using R-software (3.1.1).

## Results

### Base-case analysis

In a hypothetical cohort of 10,000 patients, the model predicted 553 (5.53%) serious TE or sudden deaths during the first 6 months : 320 (6.40%) in the aspirin group and 233 (4.66%) in the LMWH group. The overall mortality rate was 8.62%; 8.48% in the aspirin group and 8.62% in the LMWH group (Table 2). Aspirin therapy was associated with a higher frequency of DVT events (34 additional cases), PE (95 vs. 0 cases), strokes (25 additional cases) and major bleeding events (9 additional cases), but a lower frequency of AMI (64 fewer cases). Events generally occurred sooner with LMWH than with aspirin. The cost distribution is presented in Table 3. The number of QALYs was estimated to be 0.302 with aspirin and 0.299 with LMWH (Table 3). The estimated gain in QALYs with aspirin was therefore 0.003 (approximately one day). Over 6 months, the mean total cost was €1,233 per patient in the LMWH arm (95% CI, 6.72 to 6,335.45) and €216 in the aspirin arm (95% CI, 0.11 to 10,384.91). This resulted in an incremental cost of €1,017 per patient treated with LMWH (Table 3). The ICER for the aspirin versus LMWH strategy was calculated to be -425,247.5€ (95% CI, -3,146,297 to -152,294) per QALY gained (Table 3).

The uncertainty surrounding the expected incremental costs and effectiveness is shown in Figure 2. The scatter plot is located mainly in the southeast quadrant. Aspirin is significantly less costly than LMWH. There was no statistical evidence of

any difference in efficacy between the treatment groups, as the scatter plot crosses the effectiveness line.

### **One-way sensitivity analyses**

No threshold for incremental effectiveness or costs was identified in one-way analyses. Aspirin was consistently associated with more QALYs and lower costs (Figure 3).

### **Discussion**

Thromboprophylaxis during MM chemotherapy is advised if IMiDs are used for the first 6 months of treatment. This economic study is the first to evaluate the costeffectiveness of thromboprophylaxis in MM patients. Aspirin thromboprophylaxis was associated with an ICER of -425,247.50 € per QALY, suggesting that the use of aspirin is probably a dominant strategy versus the LMWH strategy. Health outcomes were almost identical between the two strategies but the use of LMWH was associated with highly significant extra costs, an important consideration as prophylaxis of this MM complication accounts for a large part of direct medical costs. The cost of daily aspirin intake was low (0.11 €/d) compared to that of daily LMWH administration (6.72 €/d). Cumulative daily drug costs contributed substantially to the total cost of LMWH thromboprophylaxis (94% versus 32% for aspirin). The cost of LMWH therapy would be even higher if administration by nursing home staff and platelet count monitoring were taken into consideration. The other costs of thromboprophylaxis were dominated by hospitalization costs, equivalent in the two groups. The cost of the LMWH strategy seems too high in terms of the potential health benefit procured by LMWH when used in routine practice to prevent TE. Quality of life is also a major issue, particularly in relation to an incurable disease like MM. Aspirin use was associated with a slight increase in QALYs compared to LMWH use within the 6-month time frame.

These findings do not support current guidelines. For example, the European Myeloma Network advocates with the highest grade recommendation, (1A),<sup>4</sup> use of enoxaparin in patients at high risk of thrombosis, yet aspirin and LMWH are similarly effective as TE prophylaxis and no specific classification of thrombotic risk in patients

with newly diagnosed MM has been validated. Furthermore, our study showed an increase in QALYs in the aspirin arm compared to the LMWH arm.

This finding is strengthened by the likelihood that our analysis underestimated the probability of major bleeding related to LMWH thromboprophylaxis. Although no major bleeding was recorded in LMWH-treated patients in our analysis, and unfortunately no other MM study has reported bleeding risk under LMWH, a study in lung cancer patients found a major bleeding incidence of 2.5% in the LMWH arm.<sup>29</sup> Such an incidence would have decreased QALYs in the LMWH arm and enhanced the difference between aspirin and LMWH prophylactic strategies. Similarly, the earlier occurrence of TE with LMWH compared to aspirin impacted QALY in our model. This impact was considered neither in the Palumbo study nor in guidelines. One limitation of our evaluation is that no published study has compared utilities for oral versus injectable treatment, obliging us to use utilities extracted from two different studies.<sup>22,23</sup> However, in view of the burden of daily injections of LMWH during several weeks, clearly an inconvenience for patients compared to aspirin administration, the utility difference between the two thromboprophylactic strategies may be underestimated. This limitation potentially diminished the difference in QALYs seen between the aspirin and LMWH arms.

A further limitation of our study is that the probabilities of death after TE were derived from published literature on each TE and were not estimated for the same MM population, such data being unavailable. No difference in survival benefit was seen between the two arms.

Hospitalization costs are predominantly determined by length of stay. Mean hospital stays in the USA are shorter<sup>24</sup> than in France, but in our study, the major economic impact of TE concerned costs associated with LMWH treatment rather than with hospitalization.

Concerning the incidence of TE, other published studies reported higher rates than that observed in the Palumbo trial.<sup>4</sup> In several previous epidemiological studies in patients receiving no thromboprophylaxis, the reported incidence of TE ranged from 14 to 26% in MM patients treated with thalidomide plus dexamethasone<sup>9,30</sup> and from

10 to 20% in patients receiving thalidomide plus melphalan.<sup>9</sup> Taking into account the design of these earlier studies assessing the incidence of venous TE in MM, the Palumbo study data appeared to be the best available, even though this study was unblinded and did not include independent validation of clinical events. It is nevertheless the only randomized trial in MM patients published to date and also assessed current MM chemotherapy strategies, so the patients included seem truly representative of today's MM patients, reinforcing the relevance of our results. In France, MM is diagnosed in approximately 5,000 patients annually, of whom at least 80% are likely to be offered chemotherapy.<sup>31</sup> According to standard treatment protocols, IMiDs are indicated in all MM patients. In France, this would imply an IMiD-treated population of approximately 4,000 patients. With an estimated mean cost of € 1233, based on our study, LMWH thromboprophylaxis in 4,000 patients would involve an additional cost of € 4,932,000 per year. If aspirin prophylaxis were used instead, this would lead to total annual cost savings of € 4,068,400, corresponding to a major cost reduction. Whether society is willing to pay the extra cost of LMWH prophylaxis, while not preventing any additional TE, is debatable. Further studies permitting the identification of high thrombotic risk in patients with *de novo* MM appear to be warranted.

## **Conclusion**

This study indicated that aspirin rather than LMWH thromboprophylaxis, during the first six months of chemotherapy for MM, is associated with significant cost savings per patient and also with an unexpected slight increase in quality of life. These observations could be taken into account in future guidelines on antithrombotic prophylaxis in MM patients.

## References

1. Khorana AA, Francis CW, Culakova E, et al.: Thromboembolism is a leading cause of death in cancer patients receiving outpatient chemotherapy. *J Thromb Haemost* 5(3):632–4. 2007
2. Blom JW, Doggen CJM, Osanto S, et al.: Malignancies, prothrombotic mutations, and the risk of venous thrombosis. *JAMA* 293(6):715–22. 2005
3. Rajkumar SV, Jacobus S, Callander NS, et al.: Lenalidomide plus high-dose dexamethasone versus lenalidomide plus low-dose dexamethasone as initial therapy for newly diagnosed multiple myeloma: an open-label randomised controlled trial. *Lancet Oncol* 11(1):29–37. 2010
4. Palumbo A, Cavo M, Bringhen S, et al.: Aspirin, Warfarin, or Enoxaparin Thromboprophylaxis in Patients With Multiple Myeloma Treated With Thalidomide: A Phase III, Open-Label, Randomized Trial. *J Clin Oncol* 29(8):986–93. 2011
5. Kristinsson SY, Pfeiffer RM, Björkholm M, et al.: Thrombosis is associated with inferior survival in multiple myeloma. *Haematologica* 97(10):1603–7. 2012
6. Carrier M, Le Gal G, Tay J, et al.: Rates of venous thromboembolism in multiple myeloma patients undergoing immunomodulatory therapy with thalidomide or lenalidomide: a systematic review and meta-analysis. *J Thromb Haemost* 9(4):653–63. 2011
7. Anaissie EJ, Coleman EA, Goodwin JA, et al.: Prophylactic recombinant erythropoietin therapy and thalidomide are predictors of venous thromboembolism in patients with multiple myeloma: limited effectiveness of thromboprophylaxis. *Cancer* 118(2):549–57. 2012

8. Lyman GH, Bohlke K, Falanga A.: Venous thromboembolism prophylaxis and treatment in patients with cancer: American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline update. *J Oncol Pract Am Soc Clin Oncol* 11(3):e442–4. 2015
9. Palumbo A, Rajkumar SV, Dimopoulos MA, et al.: Prevention of thalidomide and lenalidomide-associated thrombosis in myeloma. *Leukemia* 22(2):414–23. 2008
10. Engelhardt M, Terpos E, Kleber M, et al.: European Myeloma Network recommendations on the evaluation and treatment of newly diagnosed patients with multiple myeloma. *Haematologica* 99(2):232–42. 2014
11. French financial administration database. <http://atih.sante.fr>. 2013
12. Palumbo A, Bringhen S, Caravita T, et al.: Oral melphalan and prednisone chemotherapy plus thalidomide compared with melphalan and prednisone alone in elderly patients with multiple myeloma: randomised controlled trial. *The Lancet* 367(9513):825–31. 2006
13. Uyl-de Groot CA, Buijt I, Gloudemans IJM, et al.: Health related quality of life in patients with multiple myeloma undergoing a double transplantation. *Eur J Haematol* 74(2):136–43. 2005
14. Cavo M, Tacchetti P, Patriarca F, et al.: Bortezomib with thalidomide plus dexamethasone compared with thalidomide plus dexamethasone as induction therapy before, and consolidation therapy after, double autologous stem-cell transplantation in newly diagnosed multiple myeloma: a randomised phase 3 study. *The Lancet* 376(9758):2075–85. 2010
15. Palumbo A, Bringhen S, Rossi D, et al.: Bortezomib-melphalan-prednisone-thalidomide followed by maintenance with bortezomib-thalidomide compared with bortezomib-melphalan-prednisone for initial treatment of multiple myeloma:

- a randomized controlled trial. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol* 28(34):5101–9. 2010
16. Naess IA, Christiansen SC, Romundstad P, et al.: Incidence and mortality of venous thrombosis: a population-based study. *J Thromb Haemost* 5(4):692–9. 2007
17. Grip O, Kuoppala M, Acosta S, Wanhainen A, et al.: Outcome and complications after intra-arterial thrombolysis for lower limb ischaemia with or without continuous heparin infusion. *Br J Surg* 101(9):1105–12. 2014
18. Chung S-C, Gedeborg R, Nicholas O, et al.: Acute myocardial infarction: a comparison of short-term survival in national outcome registries in Sweden and the UK. *Lancet Lond Engl* 383(9925):1305–12. 2014
19. Corso G, Bottacchi E, Giardini G, et al.: Epidemiology of stroke in northern Italy: the Cerebrovascular Aosta Registry, 2004-2008. *Neurol Sci Off J Ital Neurol Soc Ital Soc Clin Neurophysiol* 34(7):1071–81. 2013
20. Crooks CJ, Card TR, West J.: Defining upper gastrointestinal bleeding from linked primary and secondary care data and the effect on occurrence and 28 day mortality. *BMC Health Serv Res* 12:392. 2012
21. Picot J, Cooper K, Bryant J, et al.: The clinical effectiveness and costeffectiveness of bortezomib and thalidomide in combination regimens with an alkylating agent and a corticosteroid for the first-line treatment of multiple myeloma: a systematic review and economic evaluation. *Health Technol Assess Winch Engl* 15(41):1–204. 2011
22. Man-Son-Hing M, Laupacis A, O'Connor AM, et al.: Patient Preference-based Treatment Thresholds and Recommendations: A Comparison of Decision

- analytic Modeling with the Probability-tradeoff Technique. *Med Decis Making* 20(4):394–402. 2000
23. Marchetti M, Pistorio A, Barone M, et al.: Low-molecular-weight heparin versus warfarin for secondary prophylaxis of venous thromboembolism: a costeffectiveness analysis. *Am J Med* 111(2):130–9. 2001
24. Aujesky D, Smith KJ, Cornuz J, et al.: Cost-effectiveness of low-molecularweight heparin for secondary prophylaxis of cancer-related venous thromboembolism. *Thromb Haemost* 93(3):592–9. 2005
25. Blondon M.: Fondaparinux for Isolated Superficial Vein Thrombosis of the Legs: A Cost-Effectiveness Analysis. *Chest* 141(2):321. 2012
26. Barnes GD, Gafoor S, Wakefield T, et al.: National trends in venous disease. *J Vasc Surg* 51(6):1467–73. 2010
27. French insurance administration. <http://www.ameli.fr>. 2013
28. Mengiardi S, Tsakiris DA, Lampert ML, et al.: Drug use problems with selfinjected low-molecular-weight heparins in primary care. *Eur J Clin Pharmacol* 67(2):109–20. 2011
29. Verso M, Gussoni G, Agnelli G.: Prevention of venous thromboembolism in patients with advanced lung cancer receiving chemotherapy: a combined analysis of the PROTECHT and TOPIC-2 studies: Letters to the Editor. *J Thromb Haemost* 8(7):1649–51. 2010
30. Cavo M, Zamagni E, Cellini C, et al.: Deep-vein thrombosis in patients with multiple myeloma receiving first-line thalidomide-dexamethasone therapy. *Blood* 100(6):2272–2272. 2002
31. French cancer register.  
[http://www.invs.sante.fr/applications/cancers/projections2010/donnees\\_localisation/myelome\\_multiple.pdf](http://www.invs.sante.fr/applications/cancers/projections2010/donnees_localisation/myelome_multiple.pdf)

## **AUTHORS' DISCLOSURES OF POTENTIAL CONFLICTS OF INTEREST**

The authors report no potential conflicts of interest.

## **AUTHOR CONTRIBUTIONS**

Conception and design of study : CE and TB

Provision of study materials or patients : non applicable

Collection and assembly of data : CE

Data analysis and interpretation : CE, BA, TF, CF, TB

Manuscript writing : CE, BA, TF, CF, TB

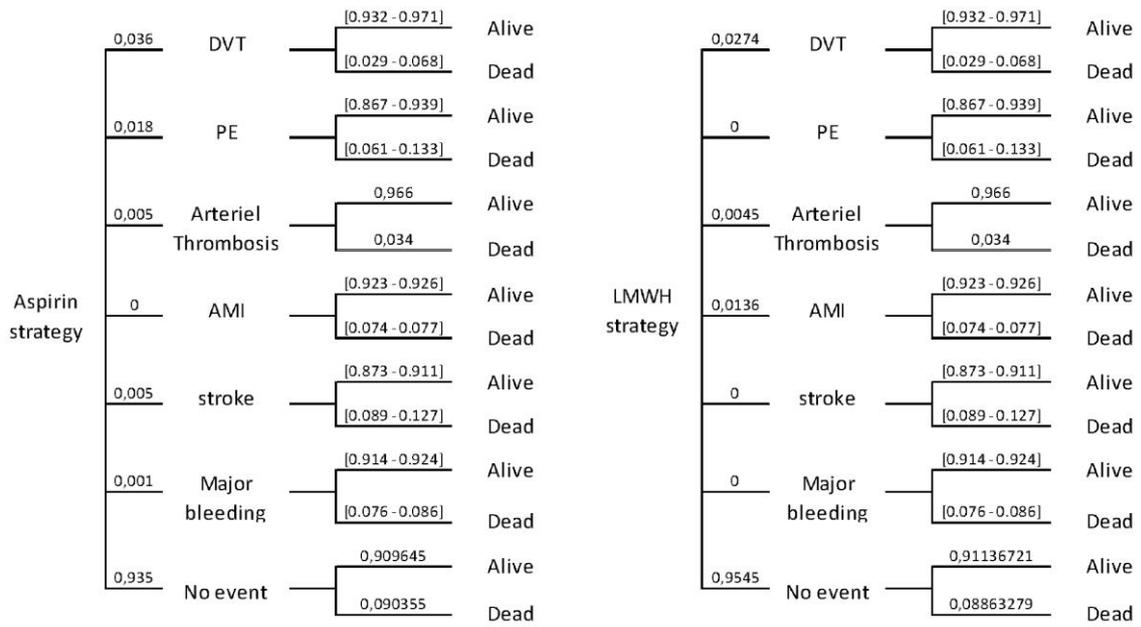
Final approval of manuscript : CE, BA, TF, CF, TB

**Figure legends:**

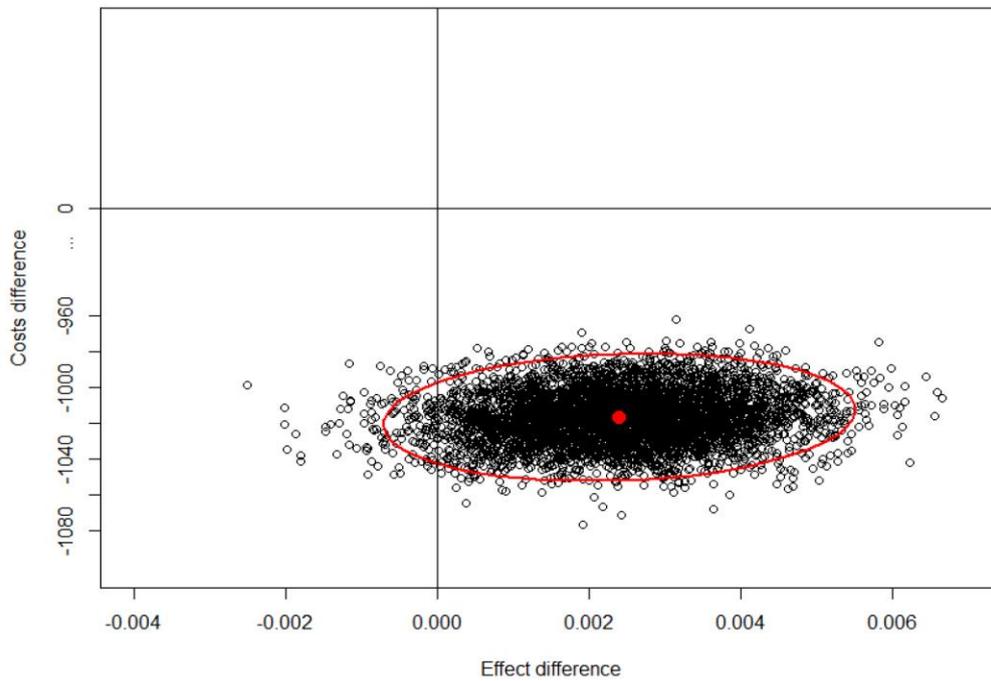
**Figure 1 : Decision tree.** DVT : deep venous thrombosis, PE : pulmonary embolism, AT : arterial thrombosis, AMI : acute myocardial infarction, LMWH : low-molecular-weight heparin.

**Figure 2 : Cost-effectiveness plane.** Bootstrapped costs and effects for costs per patient, showing the incremental cost effectiveness of the aspirin strategy compared to the LMWH strategy (5,000 bootstrap replications). Additional costs are indicated on the y-axis and additional effects on the x-axis.

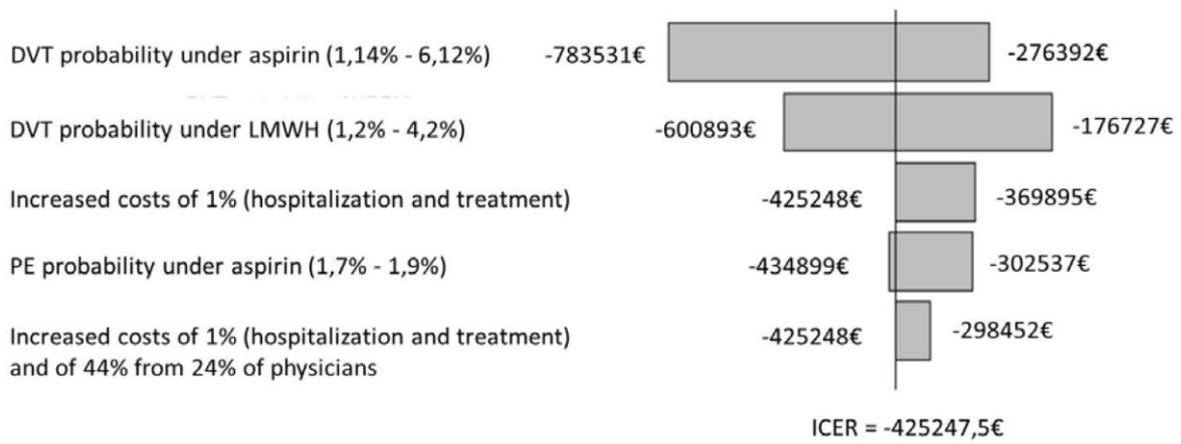
**Figure 3 : Sensitivity analyses.**



**Figure 1: Decision tree.** DVT: deep venous thrombosis, PE: pulmonary embolism, AT: arterial thrombosis, AMI: acute myocardial infarction, LMWH: low-molecular-weight heparin.



**Figure 2: Cost-effectiveness plane.** Bootstrapped costs and effects for costs per patient, showing the incremental cost effectiveness of the aspirin strategy compared to the LMWH strategy (5,000 bootstrap replications). Additional costs are indicated on the y-axis and additional effects on the x-axis.



**Figure 3: Sensitivity analyses.**

**Table 1. Probabilities, utilities, disutilities and costs used in the analysis.**

<b>Probabilities</b>	<b>Base case estimate (range)</b>	<b>References/ source</b>
<b>Deep venous thrombosis</b>		
Probability of DVT with aspirin	0.0363	Palumbo et al. <sup>4</sup>
Probability of DVT with LMWH	0,0274	Palumbo et al. <sup>4</sup>
<b>Pulmonary embolism</b>		
Probability of PE with aspirin	0,0181	Palumbo et al. <sup>4</sup>
Probability of PE with LMWH	0	Palumbo et al. <sup>4</sup>
<b>Arterial thrombosis</b>		
Probability of arteriel thrombosis with aspirin	0,0045	Palumbo et al. <sup>4</sup>
Probability of arteriel thrombosis with LMWH	0,0045	Palumbo et al. <sup>4</sup>
<b>Acute myocardial infarction</b>		
Probability of AMI with aspirin	0	Palumbo et al. <sup>4</sup>
Probability of AMI with LMWH	0,0136	Palumbo et al. <sup>4</sup>
<b>Stroke</b>		
Probability of stroke with aspirin	0,0045	Palumbo et al. <sup>4</sup>
Probability of stroke with LMWH	0	Palumbo et al. <sup>4</sup>
<b>Sudden death</b>		
Probability of sudden death with aspirin	0,0045	Palumbo et al. <sup>4</sup>
Probability of sudden death with LMWH	0,0046	Palumbo et al. <sup>4</sup>
<b>Major bleeding</b>		
Probability of major bleeding with aspirin	0,00136	Palumbo et al. <sup>4</sup>
Probability of major bleeding with LMWH	0	Palumbo et al. <sup>4</sup>
<b>Mortality from any cause</b>		
Probability of mortality with aspirin	0,08	Palumbo et al. <sup>12</sup>
Probability of mortality with LMWH	0,08	Palumbo et al. <sup>12</sup>
<b>Utilities</b>		
Death	0	
Multiple Myeloma	0.52 at diagnosis 0.66 at one month	Uyl de Groot et al. <sup>13</sup>
Treatment with heparin	0.992 (0.98-1)	Marchetti et al. <sup>23</sup>
Treatment with aspirin	0.995 (0.994-1)	Man-Son-Hing et al. <sup>22</sup>
<b>Disutilities (days)</b>		
Deep venous thrombosis	9.78 (5-17.9)	French financial administration database and <a href="http://www.ameli.fr">http://www.ameli.fr</a> <sup>11,27</sup>
Pulmonary embolish	11.32 (8.5-18.1)	French financial administration database <sup>11</sup>
Arteriel thrombosis	9.78 (5-17.9)	French financial administration database <sup>11</sup>
Acute myocardial infarction	7.79 (4.7-18.6)	French financial administration database <sup>11</sup>
Stroke	12.33 (8.7-15.9)	French financial administration database <sup>11</sup>
Major bleeding	10.07 (3.58-25.4)	French financial

		administration database <sup>11</sup>
<b>Costs in 2013 euros</b>		
<b>Inpatient management</b>		
Deep venous thrombosis	3 544,8 € (1778,5-7318.0)	French financial administration database <sup>11</sup>
Pulmonary embolism	4 313,2 € (2998.2-7103,2)	French financial administration database <sup>11</sup>
Arterial thrombosis	3 544,8 € (1778,5-7318.0)	French financial administration database <sup>11</sup>
Acute myocardial infarction	2 637,4 € (1813,5 - 5514,5)	French financial administration database <sup>11</sup>
Stroke	5 252,5 € (3013,9-9624.5)	French financial administration database <sup>11</sup>
Major bleeding	3 754,1€ (1605,6-7387,0)	French financial administration database <sup>11</sup>
<b>Outpatient management</b>		
<i>Enoxaparin therapy</i>		
Daily pharmacy costs	6.72	Vidal Book
Costs for monitoring and administration	0	
<i>Aspirin therapy</i>		
Daily pharmacy costs	0.11	Vidal Book
Physician visit	23	<a href="http://www.ameli.fr">http://www.ameli.fr</a> <sup>21</sup>
compressive ultrasonography	75.6	<a href="http://www.ameli.fr">http://www.ameli.fr</a> <sup>21</sup>

**Table 2: Health outcomes.** LMWH: low-molecular-weight heparin, DVT: deep venous thrombosis, PE: pulmonary embolism, AMI: acute myocardial infarction, AT: arterial thrombosis.

		<b>Aspirin arm</b>	<b>LMWH arm</b>	<b>Total</b>
		<b>N=5000 (%)</b>	<b>N=5000(%)</b>	
Clinical events	DVT	182 (3.64%)	148 (2.96%)	330 (3.3%)
	PE	95 (1.9%)	0 (0%)	95 (0.95%)
	AMI	0 (0%)	64 (1.28%)	64 (0.64%)
	AT	18 (0.36%)	21 (0.42%)	39 (0.39%)
	Stroke	25 (0.5%)	0 (0%)	25 (0.25%)
	Major bleeding	9 (0.18%)	0 (0%)	9 (0.09%)
Final status	No event	4671 (93.42%)	4767 (95.34%)	9438 (94.38%)
	Dead	438 (8.76%)	424 (8.48%)	862 (8.62%)
	Alive	4562 (91.24%)	4576 (91.52%)	9138 (91.38%)

**Table 3: Cost distribution and Cost effectiveness results.** \* In 2013 euros. LMWH: low molecular weight heparin, QALYs: quality-adjusted life-years, SD: standard deviation, ICER: incremental cost-effectiveness ratio.

<b>Costs distribution*</b>	<b>Aspirin arm</b>	<b>LMWH arm</b>	<b>Incremental</b>
Hospitalization	718 198 (66.6%)	366 931 (6%)	
Treatment	344 171 (31.9%)	5 787 094 (93.9%)	
Monitoring	16 762 (1.6%)	10649 (0.2%)	
<b>Total</b>	<b>1 079 131 (100%)</b>	<b>6 164 674 (100%)</b>	
<b>Result</b>			
QALYs	0.302	0.299	<b>0.003</b>
Mean cost* (SD)	215.8 (897.78)	1232.9 (517.29)	<b>-1017.1</b>
<b>ICER</b>			<b>-425247.5 (-146297;-52294)</b>

## IV. Etude physiopathologique

**Protocole METRO :** Etude de la génération de Thrombine au cours des 3 premières cures de chimiothérapies pour myélome multiple *de novo* : étude multicentrique.

### A. Introduction

Comme nous l'avons dit précédemment, les données sur le MM et la MTEV sont très limitées et ne permettent pas de connaître le mécanisme par lequel les IMiDS augmenteraient le risque de thrombose et d'identifier les patients à risque nécessitant une thromboprophylaxie. Sur le plan thérapeutique, le seul essai randomisé réalisé n'a pas montré de différence significative en terme de prévention de la survenue d'accidents thrombotiques entre les groupes warfarine, aspirine et enoxaparine (8.2 % versus 6.4% versus 5 %).<sup>7</sup> De plus l'étude médico économique que nous avons réalisée sur les données de cette étude, pointe les dépenses faramineuses engendrées par l'utilisation de l'enoxaparine, sans gain concernant la qualité de vie des patients et pire encore, il en ressort même une diminution de celle-ci. Ceci explique qu'il n'est pas possible à l'heure actuelle de proposer une stratégie thérapeutique prophylactique de la MTEV dans le MM.

L'objectif principal de cette étude est donc de comparer la génération de thrombine par thrombinographie au cours des 3 premières cures, avec ou sans thalidomide, chez tous les patients traités pour MM *de novo*, afin d'établir si cette technique peut servir de biomarqueur prédictif de survenue de la MTEV dans le MM et ainsi identifier les patients relevant d'une prophylaxie antithrombotique.

D'autre part, les objectifs secondaires sont :

- d'établir les facteurs de risque de thrombose (évolution dans le temps, traitement par thalidomide, lénalidomide, bortézomid, cyclophosphamide, corticostéroïdes à fortes doses et EPO, traitement prophylactique par aspirine ou héparine) si le taux d'évènements thromboemboliques observé dans l'étude le permet.

- de mieux connaître ce mécanisme prothrombogène en recherchant si cette augmentation du risque thrombotique peut être liée à une résistance acquise au TFPI (Tissue Factor Pathway Inhibitor), liée notamment à un déficit transitoire en protéine S, hypothèse d'autant plus séduisante

qu'il existe au cours du MM un déficit partiel et transitoire en protéine S, mais insuffisant cependant pour le relier directement aux thromboses.<sup>17</sup>

## B. Patients et méthodes

### Patients :

Il s'agit d'une étude de cohorte prospective multicentrique à visée physiopathologique dans laquelle ont été inclus 70 patients entre décembre 2011 et avril 2015. Les patients inclus présentaient un MM *de novo* requérant une polychimiothérapie et répondaient aux critères d'inclusion (affiliés ou ayants droit d'un régime de sécurité sociale, plus de 18 ans, ayant signé le consentement éclairé) et de non-inclusion (mineurs protégés, âgés de moins de 18 ans, insuffisance rénale justifiant d'une hémodialyse, nécessité d'un traitement anticoagulant curatif, suivi à 3 mois impossible, espérance de vie inférieure à 6 mois). Les centres ayant participé à l'étude sont Saint Etienne, Lyon et Dijon. Chaque patient a été suivi sur le plan clinique et thérapeutique avant ses 4 premières cures et a bénéficié d'une prise de sang à chaque visite (figure IV-1). Les 8 patients non inclus à Saint Etienne ainsi que les raisons de leur non inclusion ont été notés sur un registre. Pour chaque patient, ont été recueillis les antécédents et facteurs de risque cardiovasculaire et thromboembolique personnels et familiaux, la prise d'un traitement anticoagulant ou anti agrégant plaquettaire préventif et ses modifications, le protocole de chimiothérapie choisi en Réunion de Concertation Pluridisciplinaire d'Hématologie en conformité avec les recommandations de la Société Française d'Hématologie, le calendrier des cures, les caractéristiques du Myélome (stade ISS, type d'immunoglobuline), les événements thromboemboliques (thrombose profonde des membres supérieurs et inférieurs, thrombose sur chambre implantable, embolie pulmonaire, thrombose portale, accident vasculaire cérébral, infarctus du myocarde et thrombose artérielle périphérique) et les tests d'imagerie réalisés. Le protocole a été validé par la Délégation de la Recherche Clinique et de l'Innovation, par l'AFSSAPS et par le Comité de Protection des Personnes Sud-Est. L'étude a été déclarée sur ClinicalTrials.gov (NCT01508416).

### Méthode :

\* A partir des 2 tubes S-Monovette (Sarstedt) ont été préparés :

- le plasma riche en plaquettes (PRP) par simple centrifugation à 140 G pendant 10 minutes à température ambiante. 600 µL de PRP sont récupérés pour réaliser immédiatement le test de génération de thrombine (TGT) en PRP.

- le plasma pauvre en plaquettes (PPP) par double centrifugation à 2200 G, 15 minutes, 2 fois, du reliquat des tubes S-Monovette. La fraction de PPP est congelée immédiatement à -70°C, soit 3 aliquotes de 500µl pour la réalisation des TGT en PPP.

\* A partir des 2 tubes citratés a été préparé :

- le PPP par double centrifugation à 2200 G 15 minutes chaque fois et congélation immédiate à -70°C, 5 aliquotes de 500µl pour la réalisation des dosages de résistance au TFPI et 2 aliquotes de 250µl pour la réalisation des dosages de protéine S.

Seul le test de génération de thrombine sur PRP frais a été réalisé immédiatement. Ce test n'a donc pu être faisable que pour les patients stéphanois. Le test sur PPP et les dosages de résistance au TFPI et de la protéine S sont réalisés de manière groupée, centralisée et dans le même temps pour un patient donné. Les calibrations et contrôles spécifiques de chacune des méthodes de dosage sont réalisés pour chaque série de mesures. L'ensemble des dosages biologiques est réalisé en aveugle du type de chimiothérapie administrée et de la survenue ou non d'une complication thromboembolique.

Les TGT en PRP frais et en PPP congelé, sont réalisés suivant la technique décrite par Hemker et al<sup>26</sup> (méthode CAT), dont le principe est la conversion d'un substrat fluorochrome spécifique de la thrombine en présence de faibles concentrations de facteur tissulaire (1pM), afin d'être sensible aux variations de TFPI. La lecture en cinétique de la thrombine générée est effectuée sur le fluoroscan Ascent fourni par la société Thermo Lab Systems. Le calcul de la génération de thrombine est effectué par rapport à la mesure d'un calibrant constitué de thrombine inactivée par le logiciel Thrombinoscope BV commercialisé par Synapse.

La résistance au TFPI (rTFPI) est mesurée par un test de génération de thrombine (méthode CAT, annexe 2) réalisé en l'absence et en présence de TFPI humain recombinant. Le TGT est réalisé en PPP en présence de facteur tissulaire 1pM et de phospholipides 4µM (PPP reagent LOW, Diagnostica Stago). Deux tracés sont enregistrés en simultané :

- Le TGT initial
- Le TGT en présence de TFPI humain recombinant, concentration finale 50 ng/ml.

Le calcul du rapport du potentiel global de thrombine (ETP) et du temps de latence (LT) mesuré en présence et en l'absence de TFPI permet de quantifier, pour chaque échantillon de

plasma, la réponse de celui-ci à l'activité du TFPI. Chez le volontaire sain, la concentration de TFPI choisie (50 ng/ml) entraîne l'inhibition de 60 à 70 % d'ETP et un allongement de 4.5 à 5 fois du temps de latence. Une résistance au TFPI est définie par un pourcentage d'inhibition de l'ETP par le TFPI inférieur à 30%.

Les dosages de la PS sont réalisés par mesure de l'activité de la PS avec le kit Staclot protéine S (Diagnostica Stago) et PS antigène par méthode Elisa asserachrom PS (Diagnostica Stago).

## **Analyse statistique**

A notre connaissance, il n'existe pas de données publiées utilisables sur la génération de thrombine chez des patients présentant un myélome. C'est pourquoi nous proposons cette première étude dans le but d'étudier l'évolution de la génération de thrombine dans ce type de population. Faute d'hypothèse de calculs fiables, il nous est donc impossible de calculer un nombre de sujets nécessaires.

Dans un premier temps, la population incluse est décrite à l'aide des statistiques suivantes :

- Pour les variables quantitatives : nombre d'observations disponibles, moyenne, écart type, médiane, 1er et 3ème quartiles, minimum et maximum ;
- Pour les variables qualitatives : fréquences absolues et relatives (exprimées en %).

Afin d'évaluer la génération de thrombine, l'ETP est décrit pour chaque temps de mesure notamment à l'aide de représentations graphiques à type de courbes et par une ANOVA pour mesures répétées ou un test de Friedman en fonction de la distribution de la variable. Si ce test montre une différence significative, des tests post-hoc seront réalisés.

La fréquence des évènements thromboemboliques veineux, ainsi que son intervalle de confiance à 95%, sont estimés sur la totalité de la population. Si le nombre d'évènements le permet, l'élaboration d'un modèle multivarié sera envisagée afin d'identifier les facteurs potentiellement prédictifs d'un tel évènement. Pour cela, des analyses univariées seront mises en œuvre (variable de prévalence >3% et une p-valeur <0.15 intégrées dans le modèle multivarié). Le modèle multivarié sera construit selon un modèle de Cox ou de régression logistique en fonction du nombre d'évènements observés et du nombre de perdus de vue. Les Odds Ratio et leur intervalle de confiance à 95% seront ainsi estimés. Toute variable significative au seuil de 5% sera considérée comme facteur prédictif.

Des corrélations entre TFPI et protéine S sont également recherchées, notamment dans la population traitée par Thalidomide. Pour cela, des nuages de points seront utilisés et associés à des coefficients de corrélation de Pearson ou de Spearman en fonction de la Normalité. Les résultats seront considérés comme significatifs au seuil de 5%.

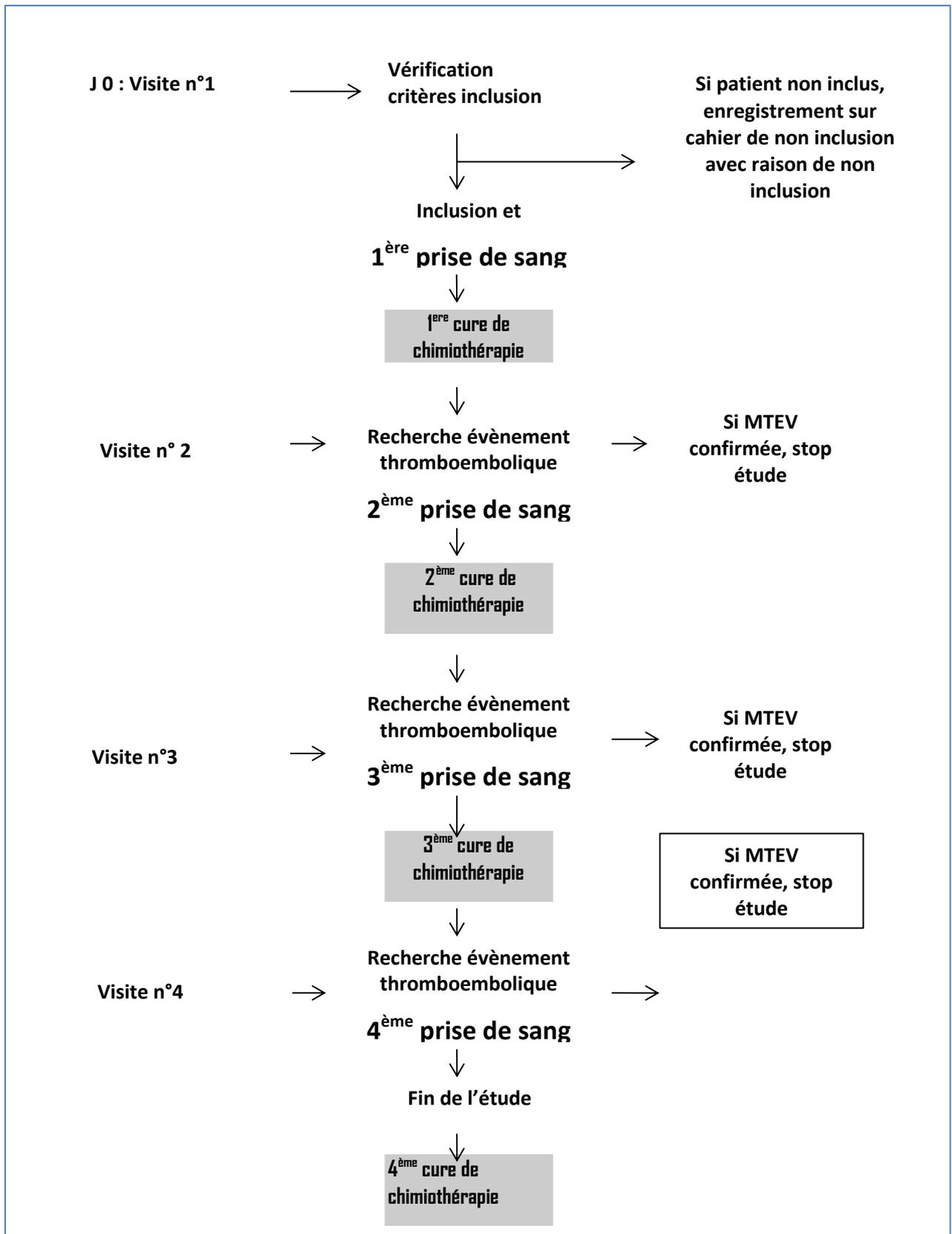


Figure IV-1 : Schéma de l'étude. MTEV : maladie thrombo-embolique veineuse.

## C. Résultats préliminaires

A ce jour, seuls les résultats de tests de génération de thrombine sur PRP et PPP des patients stéphanois sont disponibles. Les analyses sur le reste des échantillons congelés n'ont pas encore été réalisées. Il n'a pas non plus été réalisé d'étude statistique à ce jour, le protocole ne prévoyant pas d'analyse intermédiaire.

Sur les 36 patients inclus à Saint Etienne, un a été exclu car il était sous warfarine à dose curative pour une arythmie complète par fibrillation auriculaire pendant l'étude (critère de non inclusion).

L'âge médian à l'inclusion était de 66 ans (40 à 88 ans). Le sexe ratio était de 0.75 (15 hommes, 20 femmes). Sur les 35 patients étudiés, 17 patients étaient sous bortézomid thalidomide dexaméthasome (VTD), 7 sous bortézomid melphalan prednisone (VMP), 4 sous thalidomide melphalan prednisone (MPT), 4 sous bortézomid dexaméthasome (VD), 2 sous bortézomid lenalidomide dexaméthasome (VRD) et 1 sous bortézomid cyclophosphamide dexaméthasome (VCD). Onze patients ont reçu un traitement par érythropoïétine (EPO).

Concernant la thromboprophylaxie, à l'inclusion 23 patients n'avaient aucun traitement, 8 étaient déjà sous héparine préventive et 4 sous aspirine. Le jour de l'inclusion, un traitement par aspirine a été débuté pour 11 patients et une héparine préventive pour 4 patients. Les types d'héparine utilisés étaient l'énoxaparine, la tinzaparine, la calciparine et également le fondaparinux. La thromboprophylaxie a été modifiée en cours de traitement pour 8 patients (3 ont eu un changement de type d'héparine, 2 ont été mis sous héparine à la place de l'aspirine et 2 sous aspirine à la place de l'héparine et 1 a été mis sous héparine curative pour un passage en arythmie). Les patients recevant du thalidomide ont tous bénéficié d'une thromboprophylaxie (14 par aspirine et 7 par héparine). Les 2 patients sous lénalidomide ont bénéficié d'un traitement par héparine préventive.

Trois (8.6%) patients ont présenté un accident thrombotique : une thrombose veineuse profonde (TVP), une TVP associée à une embolie pulmonaire (EP) et une EP isolée. Il s'agissait de 2 femmes et 1 homme de 39, 59 et 66 ans. Ces 3 patients bénéficiaient d'un traitement par VTD et l'un d'entre eux recevait en plus de l'EPO. Tous les 3 recevaient de l'aspirine en prévention. L'évènement est survenu pour 2 patients entre la visite n°4 et la visite de fin d'étude soit après 12 semaines de traitement et pour 1 patient entre la 1ère et la 2ème visite à 7 jours du début du traitement (tableau IV-3).

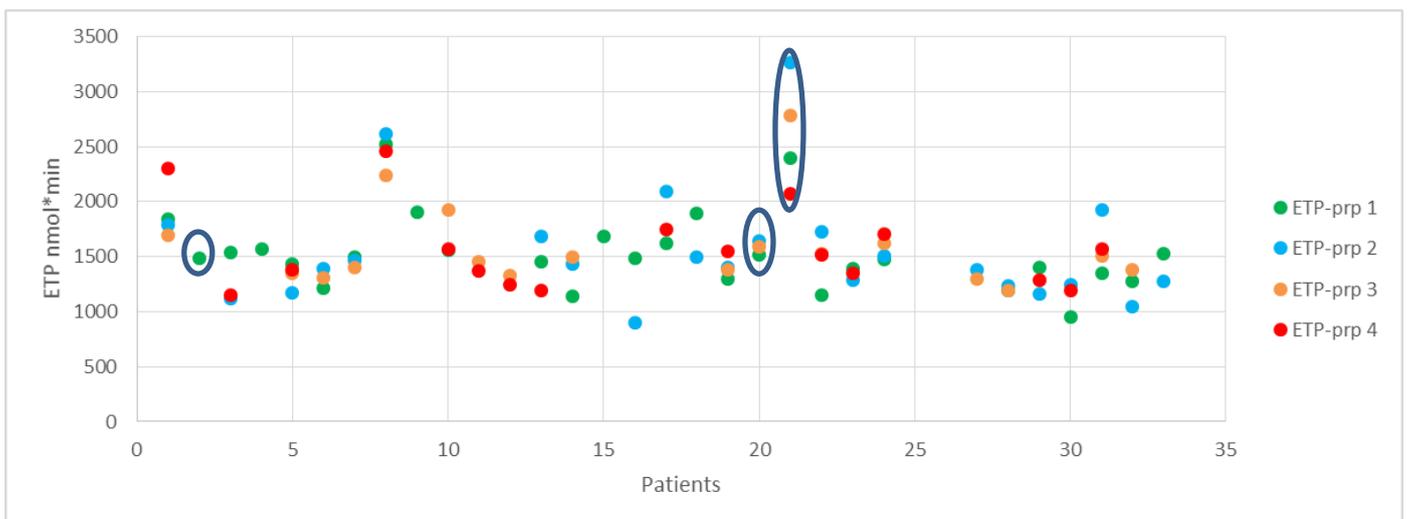
## 1) Test de génération de thrombine en plasma riche en plaquettes

Les tests de génération de thrombine (TGT) ont été réalisés par la méthode CAT (Hemker) en plasma riche en plaquettes (PRP) frais en présence de facteur tissulaire 1pM (Innovin dilution finale 1/6000) avant chacune des 4 premières cures de chimiothérapie (méthode en annexe 1). Les valeurs d'ETP et de pic de thrombine sont présentées dans le tableau IV-1 et les figures IV-2 et IV-3. Ces résultats ont été comparés aux mesures d'ETP réalisées au laboratoire chez 40 volontaires sains (figure IV-4).

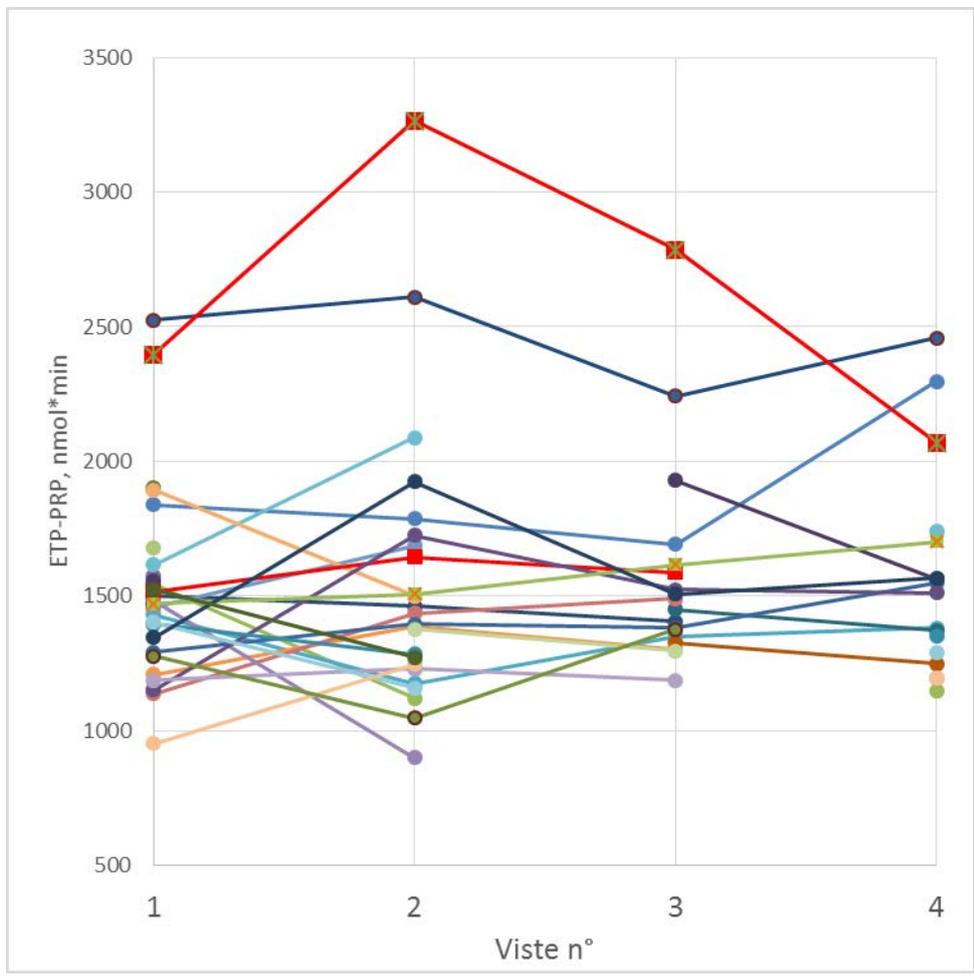
La variation maximale de l'ETP constatée est de 1787 à 2298 nM.min (511) chez les patients n'ayant pas présenté de thrombose (il s'agissait d'un patient sous héparine préventive).

Visite n°	1	2	3	4
<b>ETP nmol*min</b>				
Moyenne	1524	1534	1529	1484
Min - max	953 – 2397	972 - 3265	872 - 2785	926 – 2457
Médiane (Q1 :Q3)	1482 (1347 :1574)	1392 (1234 :1676)	1484 (1328 :1589)	1373 (1250 :1566)
<b>Pic, nmol</b>				
Moyenne	120	130	135	123
Min - max	60 – 242	59 – 274	88 – 220	50 – 217
Médiane (Q1 :Q3)	118 (95 :138)	119 (97 :155)	129 (112 :148)	108 (102 :150)

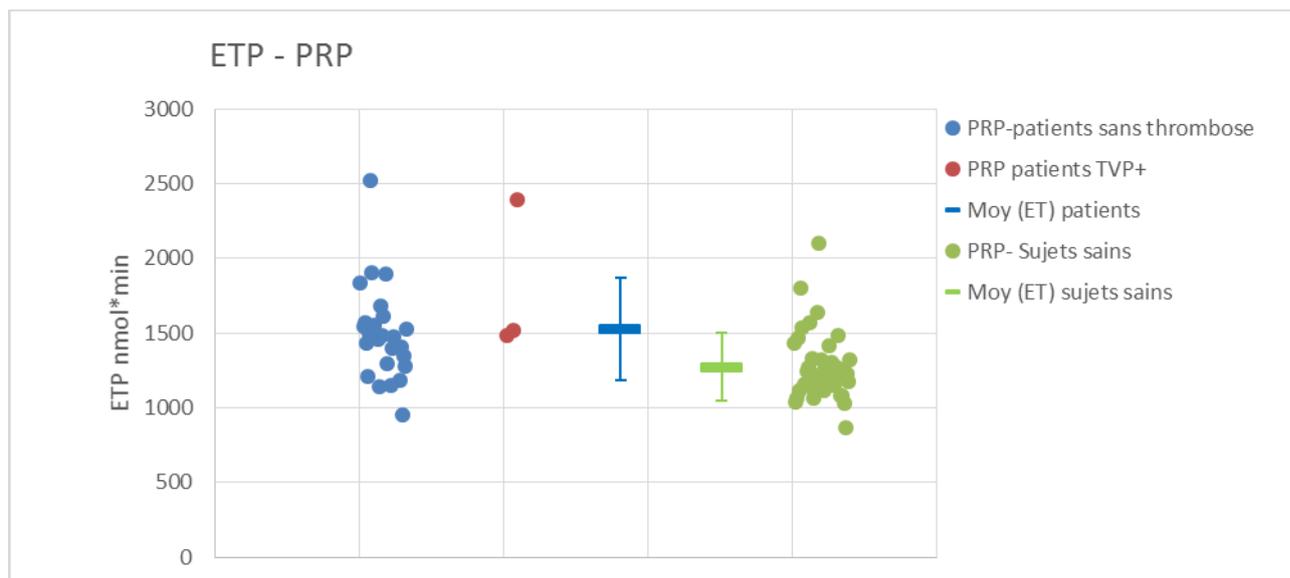
**Tableau IV-1 : Génération de thrombine en PRP (FT Innovin 1/6000, env. 1pM) au cours des 4 visites pré-chimiothérapie.**



**Figure IV-2 : Génération de thrombine en PRP (FT Innovin 1/6000, env. 1pM) : comparaison de l'ETP mesuré pour chaque patient au cours des 4 visites pré-chimiothérapie. Les patients ayant thrombosé sont signalés par une ellipse.**



**Figure IV-3 : Génération de thrombine en PRP (FT Innovin 1/6000, env. 1pM) : ETP mesuré pour chaque patient au cours des 4 visites pré-chimiothérapie.**



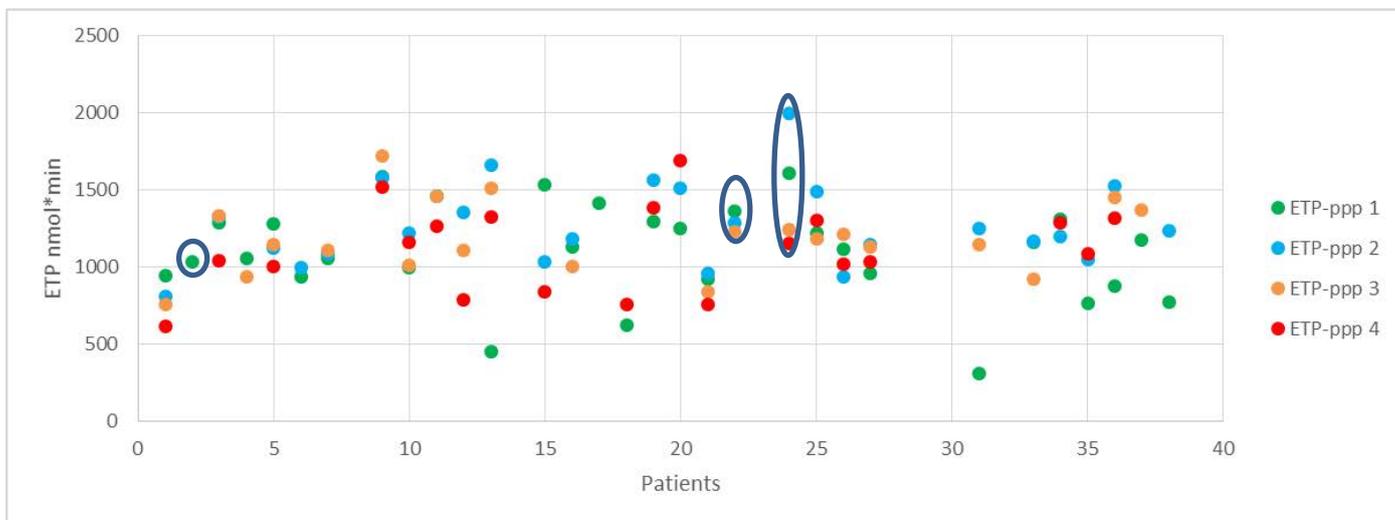
**Figure IV-4 : Mesure de l'ETP en PRP pour n=32 patients avant la 1ère cure de chimiothérapie (visite n° 1, pas de traitement anticoagulant pendant les 8h précédant le prélèvement) comparée à l'ETP mesuré sur une cohorte de 40 sujets sains.**

## 2) Test de génération de thrombine en plasma pauvre en plaquettes

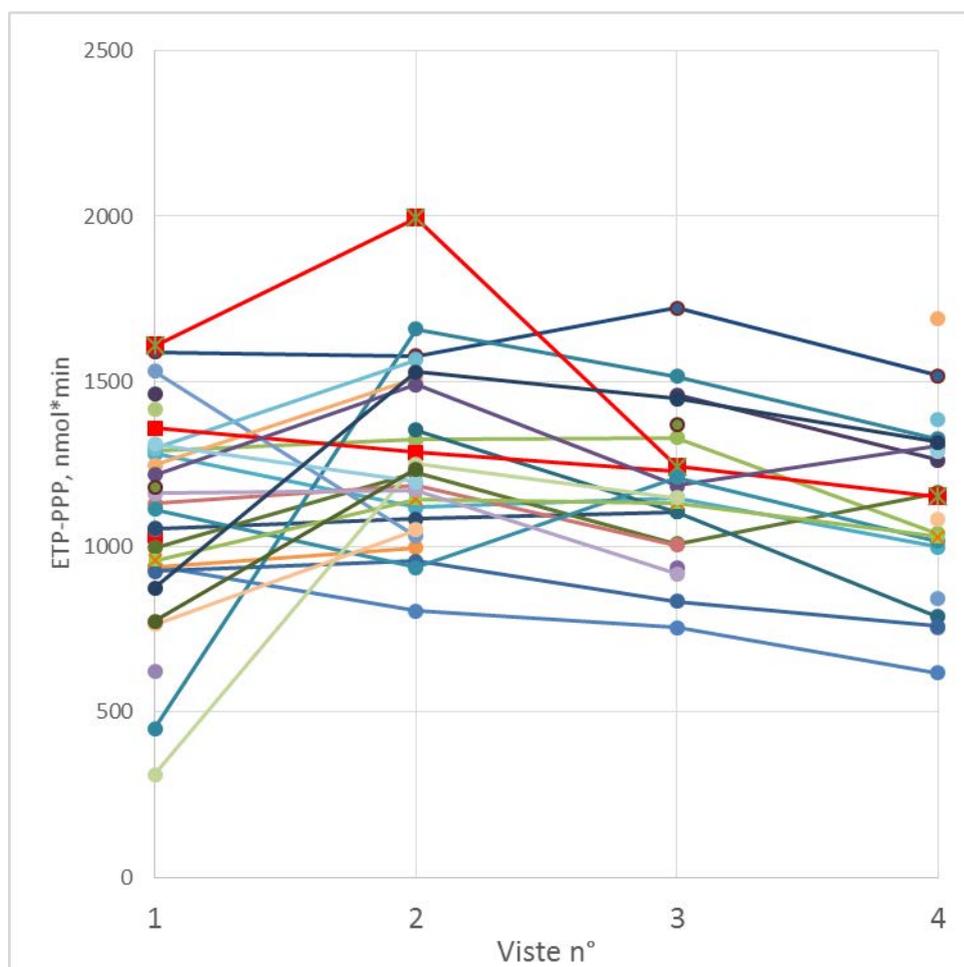
Les TGT ont été réalisés par la méthode CAT (Hemker) en plasma pauvre en plaquettes (PPP) décongelé en présence de facteur tissulaire 1pM (PPP reagent LOW, Diagnostica Stago) avant chacune des 4 premières cures de chimiothérapie. Les valeurs d'ETP et de pic de thrombine sont présentées dans le tableau IV-2 et les figures IV-5 et IV-6. Ces résultats ont été comparés aux mesures d'ETP réalisées au laboratoire chez 40 volontaires sains (figure IV-7).

Visite n°	1	2	3	4
<b>ETP nmol.min</b>				
Moyenne	1147	1217	1182	1083
Min - max	624 – 1609	204 - 1985	392 - 1515	618 – 1689
Médiane (Q1 :Q3)	1145 (968 :1296)	1196 (1052 :1353)	1148 (971 :1286)	1036 (882 :1301)
<b>Pic, nmol</b>				
Moyenne	141	153	140	126
Min - max	54 – 215	17 – 249	32 – 248	48 – 197
Médiane (Q1 :Q3)	142 (107 :177)	153 (119 :199)	140 (107 :169)	134 (94 :165)

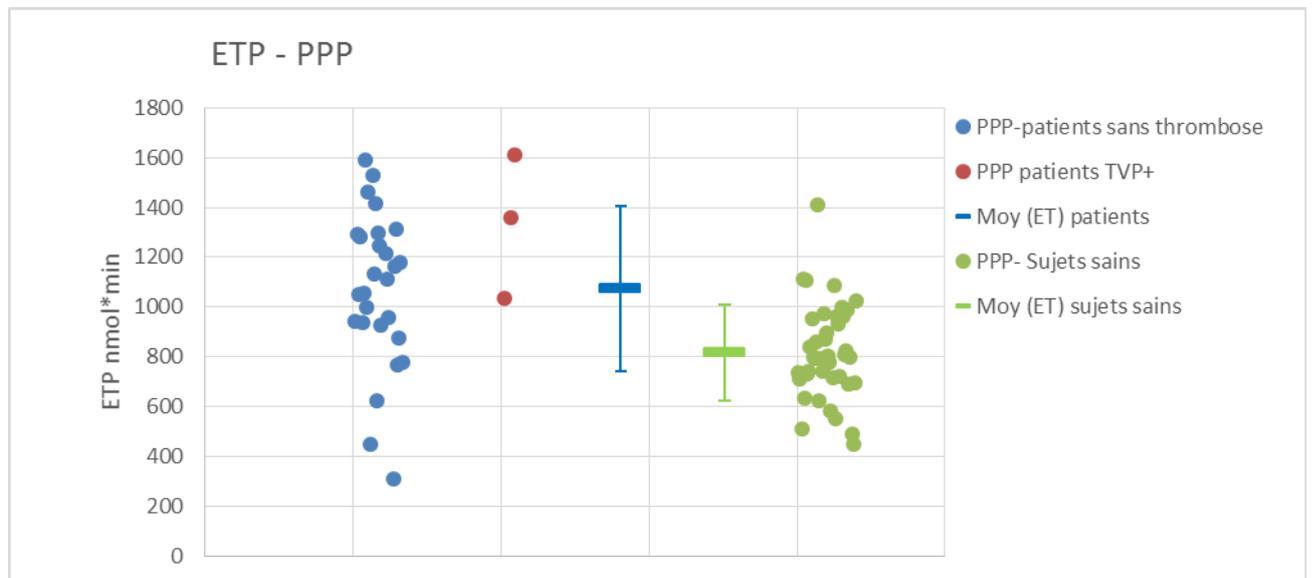
**Tableau IV-2 : Génération de thrombine en PPP (FT Innovin 1/6000, env. 1pM) au cours des 4 visites pré-chimiothérapie.**



**Figure IV-5 : Génération de thrombine en PPP (FT 1pM) : comparaison de l'ETP mesuré pour chaque patient au cours des 4 visites pré-chimiothérapie. Les patients ayant thrombosé sont signalés par une ellipse.**



**Figure IV-6 : Génération de thrombine en PRP (FT Innovin 1/6000, env. 1pM) : ETP mesuré pour chaque patient au cours des 4 visites pré-chimiothérapie.**



**Figure IV-7 : Mesure de l'ETP en PPP pour n=32 patients avant la 1ère cure de chimiothérapie (visite n° 1, pas de traitement anticoagulant pendant les 8h précédant le prélèvement) comparée à l'ETP mesuré sur une cohorte de 40 sujets sains.**

### 3) TGT des patients ayant présenté un évènement thrombotique

Trois (8.6%) patients ont présenté un évènement thrombotique, 2 thromboses veineuses profondes (TVP) et une TVP associée à une embolie pulmonaire (EP). Il s'agit de 2 femmes et 1 homme de 39, 59 et 66 ans (tableau IV-3). Ces 3 patients bénéficiaient d'un traitement par VTD et l'un d'entre eux recevait en plus de l'EPO. Tous les 3 recevaient de l'aspirine en prévention. L'évènement est survenu pour 2 patients entre la visite n°4 et la visite de fin d'étude soit après au moins 12 semaines de traitement et pour 1 patient entre la 1ère et la 2ème visite à 1 semaine du début du traitement.

Patient n°	1	2	3
<b>Evènement thrombotique</b>	Embolie pulmonaire	Thrombose veineuse profonde et embolie pulmonaire	Thrombose veineuse profonde
<b>Délai survenue</b>	7 jours (entre visite 1 et 2)	3 mois et 5 jours (entre visite 4 et visite fin d'étude)	3 mois et 23 jours (entre visite 4 et visite fin d'étude)
<b>Chimiothérapie</b>	VTD	VTD	VTD
<b>Thromboprophylaxie</b>	Aspirine	Aspirine	Aspirine
<b>Visite n°1 :</b>			
PRP : ETP (nmol.min)	1482	1515	2397
Pic (nmol)	103	83	207
PPP : ETP (nmol.min)	1035	1360	1609
Pic (nmol)	105	186	191
<b>Visite n°2 :</b>			
PRP : ETP (nmol.min)		1646	3265
Pic (nmol)		110	221
PPP : ETP (nmol.min)		1285	1995
Pic (nmol)		175	202
<b>Visite n°3 :</b>			
PRP : ETP (nmol.min)		1589	2785
Pic (nmol)		148	182
PPP : ETP (nmol.min)		1228	1242
Pic (nmol)		172	114
<b>Visite n°4 :</b>			
PRP : ETP (nmol.min)			2070
Pic (nmol)			149
PPP : ETP (nmol.min)			1152
Pic (nmol)			109

**Tableau IV-3 : Caractéristiques des patients ayant présenté un évènement thrombotique et mesure de leurs générations de thrombine.** VTD : bortézomide thalidomide dexaméthasone ; PRP : plasma riche en plaquettes ; ETP : potentiel de thrombine endogène ; PPP : plasma pauvre en plaquettes.

Analyse en PRP : Concernant les patients ayant présenté une thrombose, un a présenté une thrombose entre la visite n°1 et la visite n°2, il n'y a donc eu qu'un seul prélèvement et l'évolution n'est pas évaluable. Son ETP était à 1482 nM.min. Le 2ème patient a présenté un ETP moyen pendant l'étude à 1584 nM.min (1516 à 1646) donc sans variation notable et le 3ème a présenté un ETP moyen pendant l'étude à 2629 nM.min (2070 à 3265). Pour ce dernier patient le dernier ETP avant la thrombose était le plus bas noté, 2070 nM.min (tableau IV-3).

En utilisant l'ETP en PRP de la visite n°1 le plus bas des patients ayant thrombosé comme limite de sélection à une thromboprophylaxie, il aurait fallu traiter 14 patients (4 patients n'ont pas

été évalués en PRP et 2 ont reçu leur héparine préventive dans les 24h précédant le prélèvement et ne sont donc pas interprétables).

Le patient ayant thrombosé entre la visite n°1 et la visite n°2 avait un pic de thrombine à 102.7 nM. Le 2ème patient a présenté un pic moyen pendant l'étude à 113.4 nM (83,0 à 147.6) et le 3ème a présenté un pic moyen pendant l'étude à 189.8 nM (149.3 à 221.1).

Analyse en PPP : Concernant les patients ayant thrombosé, celui qui avait thrombosé entre la visite n°1 et la visite n°2, avait un ETP à 1035 nM.min. Le 2ème patient, lui avait un ETP moyen pendant l'étude à 1291 nM.min (1228 à 1360) donc sans variation notable et le 3ème a présenté un ETP moyen pendant l'étude à 1500 nM.min (1152 à 1995). Pour ce dernier patient le dernier ETP avant la thrombose était le plus bas noté, 1152 nM.min.

En utilisant l'ETP en PPP de la visite n°1 le plus bas des patients ayant thrombosé comme limite de sélection à une thromboprophylaxie, il aurait fallu traiter 21 patients.

Le patient ayant thrombosé entre la visite n°1 et la visite n°2 avait un pic de thrombine à 105 nM. Le 2ème patient a présenté un pic moyen pendant l'étude à 177.6 nM (172.4 à 185.6) et le 3ème a présenté un pic moyen pendant l'étude à 154.3 nM (108.2 à 202.4).

## D. Discussion et conclusion

L'incidence de la MTEV au cours du MM varie de façon très importante selon les études de 0 à 58 %.<sup>3</sup> Cette incidence est plus élevée en cas de MM *de novo* et lors de traitement notamment par thalidomide ou lénalidomide en combinaison avec des corticoïdes ou avec d'autres agents de chimiothérapie.<sup>3,4,7</sup> Dans notre étude, l'analyse préliminaire réalisée sur les patients stéphanois présentant un MM *de novo* montre un taux d'incidence de la MTEV à 8,6%. Les patients ayant présenté une thrombose recevaient tous le même schéma de traitement par VTD (bortézomid thalidomide et dexaméthasone) soit une incidence chez ces patients-là à 17.6%. Par ailleurs, ce risque semble moins important pour le lénalidomide mais seulement 2 patients ont reçu ce traitement en première ligne dans notre étude. En analyse multivariée, nous avons montré dans l'étude sur la base de données MELISSE, que seul l'EPO augmentait le risque relatif de MTEV chez les MM *de novo* sous thalidomide. Dans l'étude, 4 de nos patients recevaient un traitement par VTD associé à une EPO, un de ces patients a présenté une thrombose. Il semble donc que les données

épidémiologiques de notre étude soient en accord avec celles décrites dans la littérature.<sup>4</sup> Concernant la thromboprophylaxie, l'héparine a été utilisée chez un tiers de nos patients, selon l'évaluation de l'hématologue le prenant en charge, bien que nous ayons démontré dans notre analyse de MELISSE que la classification du risque thrombotique des médecins prenant en charge les MM, relevait plus de l'intuitif que de données scientifiques et induisait donc des prescriptions aléatoires de traitement prophylactique.

La physiopathologie de la thrombose dans le cancer est un processus complexe et encore mal expliqué. La capacité des cellules tumorales à produire leurs propres facteurs procoagulants et à stimuler les propriétés prothrombotiques d'autres cellules, s'ajoute à l'activité procoagulante induite par les traitements anti-tumoraux dans la pathogenèse de la thrombose de ces patients. Le thalidomide est un traitement immunomodulateur et anti-angiogénique qui entraîne la modification de l'équilibre entre les métalloprotéinases matricielles (MMP) et leurs inhibiteurs (TIMP) via la Cyclooxygénase-2 (Cox2),<sup>38</sup> et pourrait perturber les interactions entre les cellules plasmocytaires et les cellules du stroma médullaire. Il inhibe les facteurs pro-angiogéniques tel que le VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) et le bFGF (basic-Fibroblast Growth Factor) sécrétés par les plasmocytes myélomateux et par les cellules stromales, inhibant ainsi la prolifération des cellules endothéliales,<sup>38</sup> mécanisme d'autant plus intéressant qu'une hypervascularisation caractérise l'ensemble de la moelle osseuse des patients présentant un MM.<sup>39</sup> Le mécanisme du thalidomide à l'origine de l'hypercoagulabilité dans le MM est rapporté dans la littérature à l'état prothrombotique induit par son activité anti-angiogénique, mais ces données ne sont en fait pas établies et ses effets directs sur la coagulation sont inconnus. La dernière étude canadienne sur le sujet conclue toujours à un état d'hypercoagulabilité des patients présentant un MM sous thalidomide, sans pouvoir corrélérer leurs marqueurs au risque thrombotique.<sup>47</sup> A l'inverse des tests de coagulation classiques, la thrombinographie permet une vision globale de la quantité totale de travail enzymatique que la thrombine générée est capable de fournir pendant sa vie et donc d'améliorer l'estimation biologique du risque thrombotique transférable en pratique clinique. Il a été notamment montré que l'ETP pourrait être utilisé pour sélectionner des patients à haut risque de récurrence thrombotique après un premier événement dans la population générale<sup>48,49</sup> et également chez les patients cancéreux.<sup>50,51</sup> D'autres études ont également montré l'intérêt de la mesure du pic de thrombine ou du lag-time en plus de l'ETP.<sup>52</sup> La thrombinographie fait actuellement l'objet de nombreuses études sur des prélèvements sanguins mais se développent également des études quantifiant la capacité de génération de thrombine des cellules tumorales.<sup>2</sup> La thrombinographie n'avait fait par contre l'objet que d'une seule étude, à la méthodologie insuffisante, sur la génération de thrombine au cours du MM qui ne permettait pas d'établir des conclusions n'ayant porté que sur un collectif faible et sur

des échantillons ayant été prélevés de façon aléatoire dans le temps.<sup>24</sup> Dans notre étude, il semble qu'il existe chez certains de nos patients l'état d'hypercoagulabilité décrit dans le MM. En effet à titre de comparaison, la mesure de l'ETP médian réalisée au laboratoire avec la même technique sur PRP d'une cohorte de 40 sujets sains de 18 à 43 ans est de 1215 nM (1143-1324) versus 1482 nM (1347-1574) chez nos MM et ce avant même le début de toute chimiothérapie. Il en est de même en PPP (798 versus 1145 nM) (cf annexe 3). Il a été montré que les variations intra individuel de l'ETP étaient minimales.<sup>53</sup> Chez nos patients, il est également constaté peu de variation de l'ETP d'une manière générale. La mise sous thalidomide ne semble pas augmenter la génération de thrombine mais cela reste à confirmer par l'analyse statistique. Seulement un patient ayant thrombosé, et présentant un ETP très élevé pour lequel un bilan de thrombophilie est en cours, a présenté une variation très importante (2070 à 3265 nM) ce qui ne plaide donc pas en faveur d'une anomalie présente antérieurement au MM.

L'observation d'un état d'hypercoagulabilité chez certains patients pourrait permettre de guider l'utilisation d'une thromboprophylaxie. A titre d'exemple, en utilisant le chiffre de l'ETP de la visite n°1, le plus bas des patients ayant thrombosé, il aurait fallu traiter de façon prophylactique 14 patients, permettant de limiter pour les autres patients cette prophylaxie antithrombotique inutile, voire dangereuse au regard du risque hémorragique. Reste à savoir ensuite quelle prophylaxie utiliser et si elle doit être utilisée chez tous les MM *de novo* traités ou seulement chez ceux recevant du thalidomide et si elle doit être instaurée d'emblée systématiquement et pour une durée de plusieurs mois comme cela est fait à l'heure actuelle... Par ailleurs, on pourrait également imaginer de discuter un changement de schéma de chimiothérapie en cours de traitement, en cas de risque thrombogène trop important.

Une des limites de notre étude est l'utilisation en pratique courante de prophylaxie par héparine dans le MM, n'ayant pas permis de réaliser les dosages chez tous ces patients, car certains ayant reçu leur traitement dans les heures précédant le prélèvement de l'étude. En effet, il a été montré que l'héparine même à dose prophylactique diminue la génération de thrombine.<sup>54</sup> A notre connaissance, il n'y a qu'une étude sur la génération de thrombine où il a été réalisé des tests avant puis après mise sous aspirine, mais où la dose utilisée n'est pas précisée.<sup>55</sup> Il n'a été constaté dans cette étude aucun changement significatif dans les paramètres de génération de thrombine avant puis après 14 jours de traitement par aspirine. Il a par contre été noté que le lag time et le temps au pic de thrombine après 90 jours de traitement étaient réduits.

En conclusion, la stratification du risque thrombotique du cancer et notamment du MM à partir de nouveaux biomarqueurs pourrait représenter l'avenir et notre étude pourrait donc être la première à démontrer que la génération de thrombine est un biomarqueur prédictif de survenue de thrombose veineuse dans le MM et permettrait de détecter les patients à risque et nécessitant une prophylaxie. Cette étude pourrait donc permettre de réaliser un essai de phase III comparant l'efficacité de différentes thromboprophylaxie en permettant la sélection d'une sous population à risque d'évènement thromboembolique.

## V. Etude pharmacologique

**Protocole METRO B :** Effets d'une injection de Tinzaparine à dose prophylactique (4.500 UI anti Xa) sur la génération de thrombine chez des patients atteints de myélome multiple, des patients atteints de lymphome et des patients hospitalisés pour une pathologie médicale aiguë.

### A. Introduction

Parmi les cancers hématologiques, l'incidence de la MTEV est la plus élevée dans le myélome multiple, cette incidence le place dans les premiers rangs des cancers les plus thrombogènes, après les cancers du pancréas (8.1%), des reins (5.6%), des poumons (5.1%) et des ovaires (5.6%).<sup>3,56</sup> Cette incidence semble plus élevée en cas de MM *de novo*, lors de chimiothérapie notamment traitement par thalidomide ou lénalidomide et en cas d'utilisation d'EPO.<sup>4,5</sup>

La disparité dans les recommandations des sociétés savantes quant à la prise en charge de ces patients, rend compte d'une absence de démonstration claire quant à l'efficacité des HBPM dans ce domaine et ceci est particulièrement souligné par 3 études :

Dans un premier essai randomisé portant sur 667 patients atteints de MM et traités par thalidomide, aucune différence statistique significative en termes de prévention de la survenue d'accidents thrombotiques n'a été montrée entre les groupes warfarine (1.5 mg), aspirine (100 mg/j) et HBPM à doses prophylactiques (8.2 % versus 6.4% versus 5 %).<sup>7</sup>

Dans la deuxième étude randomisée portant sur 342 patients atteints de myélome et traités par lénalidomide, il ne fut pas trouvé de différence statistiquement significative en termes d'incidence de la MTEV entre les patients sous HBPM prophylactique et ceux sous aspirine (100 mg/j) (incidence de 2.27% dans le groupe aspirine et de 1.20% dans le groupe HBPM; 95% intervalle de confiance, -1.69-3.83; P = .452).<sup>57</sup>

Enfin, l'absence d'efficacité en terme de prévention de la MTEV d'un traitement par HBPM prophylactique a été retrouvée en analyse multi variée dans une cohorte portant sur 604 patients.<sup>4</sup>

Les résultats des études suscitées sont surprenants car ils semblent remettre en cause l'efficacité des HBPM à doses prophylactiques dans une population de patients atteints d'un cancer

considéré comme l'un des plus « thrombogène ». En effet, ces études montrent une efficacité similaire de l'aspirine et des HBPM alors même que l'aspirine n'a pas montré d'efficacité en termes de prophylaxie antithrombotique quel que soit le type de population considéré (patients médicaux avec ou sans cancer, patients chirurgicaux avec ou sans cancer).<sup>58</sup> A l'extrême, même s'il n'existait pas de groupe placebo dans ces études, tout se passe comme si les patients n'avaient reçu aucune prophylaxie anti thrombotique. Ces données sont également en contradiction avec les résultats d'une méta-analyse récente évaluant l'efficacité des HBPM chez les patients atteints de cancer traités par chimiothérapie ambulatoire (9 essais randomisés ayant inclus 3538 patients). Dans cette méta analyse, l'incidence de la MTEV chez les patients atteints de cancer est réduite significativement par les HBPM.<sup>59</sup> Par ailleurs, alors que cette efficacité des HBPM s'accompagne dans cette méta analyse d'une augmentation (non significative) du risque d'hémorragie grave (de 2 à 3.5 % selon l'HBPM utilisée), il est remarquable de noter qu'aucun cas d'hémorragie grave n'a été retrouvé sur le collectif de 385 patients atteints de myélome et traités pendant au moins 3 mois par HBPM dans les 2 seuls essais randomisés réalisés.<sup>7,57</sup>

L'ensemble de ces éléments cliniques conduisent donc à évoquer une possible « résistance » des patients atteints de MM aux HBPM aux doses prophylactiques recommandées. Cette hypothèse est renforcée par une étude biologique montrant que la dose prophylactique d'énoxaparine 40 mg n'offrait pas une protection préventive optimale chez des patients présentant un cancer.<sup>60</sup> En effet, en évaluant par des paramètres biologiques l'état prothrombotique de patients atteints de différents types de cancer (dont 4 myélomes), il a été objectivé sur une cohorte de 49 patients, d'une part que la réduction du pic de génération de thrombine après injection sous cutanée de 40 mg d'énoxaparine (dose prophylactique) était inférieure à celle d'une dose de 80 mg (dose curative) dès 6h après l'injection d'HBPM et que d'autre part il n'existait plus de réduction du pic de génération de thrombine 24 heures après l'injection de 40 mg d'énoxaparine alors qu'il existait toujours une réduction significative du pic après la dose de 80 mg.<sup>60</sup> Malheureusement dans cette étude, aucun prélèvement sanguin n'a été réalisé après la 6ème heure.

Nous nous proposons donc, dans un premier temps de rechercher si cette résistance aux HBPM à doses prophylactiques existe sur le plan biologique et si elle est particulière au MM au sein des cancers hématologiques. Pour répondre à cette question, nous avons choisi d'évaluer par la génération de thrombine mesurée par thrombinographie chez des patients ayant un MM et recevant une HBPM en décrivant son évolution sur 24h. En effet, elle correspond in vitro à l'état pro

thrombotique du patient et est corrélée à l'augmentation du risque de MTEV.<sup>48,52</sup> Nous rechercherons également s'il existe une différence entre l'évolution de la génération de thrombine chez les patients présentant un MM, un lymphome agressif et chez des patients médicaux.

## B. Patients et méthodes

### Patients :

Il s'agit d'une étude de cohorte prospective à visée pharmacologique dans laquelle vont être inclus 18 patients. L'étude a été débutée cette année. Actuellement, 3 patients ont été inclus. Les patients répondent aux critères d'inclusion (affiliés ou ayants droit d'un régime de sécurité sociale, plus de 18 ans, ayant signé le consentement éclairé, poids corporel compris entre 40 et 100kg) et de non-inclusion (majeurs protégés, insuffisance rénale avec clairance de la créatinine < 30 ml/min, nécessité d'un traitement anticoagulant curatif, compte plaquettaire inférieur à 80G/L, lésion organique susceptible de saigner, traumatisme sévère dans les 6 semaines précédant l'inclusion, antécédent de thrombopénie induite par l'héparine ou de maladie hémorragique) et présentent soit:

- un myélome multiple *de novo* avec indication de traitement type thalidomide ou lénalidomide ou EPO (groupe 1) entre la 1ère et la 4ème cure de chimiothérapie
- un lymphome agressif traité par chimiothérapie (groupe 2) entre la 1ère et la 4ème cure de chimiothérapie
- une pathologie médicale aiguë à type de décompensation respiratoire ou cardiaque aiguë et ne présentant pas d'hémopathie maligne ou de cancer actif, âgés de plus de 40 ans et hospitalisés au moins trois jours (groupe 3)

Les patients sont inclus à Saint Etienne. Ils reçoivent pendant leur hospitalisation une dose sous cutanée de 4500 UI de tinzaparine. Les prises de sang sont réalisées à 12h (H0), 15h (H3), 20h (H8) puis le lendemain à 6h (H18) et 12h (H24). Le critère d'évaluation est le potentiel endogène de thrombine (ETP ou Aire sous la courbe) mesuré par thrombinographie. L'ETP est comparé dans les 3 groupes. Les patients non inclus ainsi que les raisons de non inclusion ont été notés sur un registre. Pour chaque patient ont été recueillis les antécédents et facteurs de risque cardiovasculaire et thromboembolique personnels et familiaux, la prise d'un traitement anticoagulant ou anti agrégant plaquettaire préventif et ses modifications, le protocole de chimiothérapie choisi en Réunion de Concertation Pluridisciplinaire d'Hématologie en conformité avec les recommandations de la Société Française d'Hématologie, le numéro de l'intercure, les caractéristiques de l'hémopathie ou de la

pathologie médicale. Le protocole a été validé par la Délégation de la Recherche Clinique et de l'Innovation, par l'AFSSAPS et par le Comité de Protection des Personnes Sud-Est.

### **Méthode :**

A partir des 2 tubes S-Monovette (Sarstedt) contenant du citrate 0.106M, sont préparés :

- le plasma riche en plaquettes (PRP) par simple centrifugation à 140 G pendant 10 minutes à température ambiante. 500 µL de PRP sont récupérés pour réaliser immédiatement le test de génération de thrombine (TGT) en PRP. Les variations de TGT liées à la numération plaquettaire sont insignifiantes lorsque le compte plaquettaire est supérieur à 50giga/L, aussi, dans un souci de simplification de la méthode et de raccourcissement des délais de réalisation, la numération plaquettaire n'est pas ajustée à 150 giga/L.
- le plasma pauvre en plaquettes (PPP) par double centrifugation à 2200 G, 15 minutes, 2 fois, du reliquat des tubes S-Monovette. La fraction de PPP est récupérée et congelée immédiatement à -70°C, soit 3 aliquotes de 500µl pour la réalisation des TGT en PPP.

Seul le test de génération de thrombine sur PRP frais est réalisé immédiatement. Les tests de génération de thrombine en PPP seront réalisés dans un second temps. Les tests de génération de thrombine sont réalisés suivant la technique décrite par Hemker (méthode CAT, annexe 1), en présence de faibles concentrations de facteur tissulaire (1pM), afin d'être sensibles aux variations de l'inhibiteur de la voie du facteur tissulaire.

La lecture en cinétique de la thrombine générée, est effectuée sur le fluoroscan Ascent fourni par la société Thermo Lab Systems. Le calcul de la génération de thrombine est effectué par le logiciel Thrombinoscope BV commercialisé par Synapse.

### **Analyse statistique**

L'objectif de la modélisation en pharmacologie est de mettre au point une représentation réaliste du devenir et de l'effet d'un médicament dans l'organisme et de prévoir les concentrations (pharmacocinétique) et les effets (pharmacodynamique) qui seront observés. Dans ce type d'analyse, la pharmacocinétique, la pharmacodynamique ainsi que la variabilité inter et intra individuelle sont

modélisées selon des équations mathématiques. Les équations sont décomposées en paramètres pharmacocinétiques ou pharmacodynamiques qui représentent les différentes étapes du devenir et de l'effet du médicament. Cette approche permet d'analyser globalement les données obtenues sur un ensemble d'individus sans identifier chacun des sujets et en tenant compte de la variabilité entre les individus. Pour comparer les aires sous la courbe entre les 3 groupes de patients, compte tenu du faible nombre de patients et d'une distribution non normale des données biologiques, nous utiliserons une méthode non paramétrique de type test de Kruskal-Wallis.

Peu de données concernant la génération de thrombine chez les patients cancéreux recevant une HBPM sont publiées. Compte tenu des objectifs de cette étude et de son caractère préliminaire, 6 patients par groupe semblent suffisant notamment pour d'une part établir le profil de génération de thrombine dans chacun des 3 groupes de patients et d'autre part rechercher l'existence d'un phénomène de résistance dans le groupe myélome.

Les résultats seront considérés comme significatifs au seuil de 5%.

### C. Résultats préliminaires

Il s'agit de résultats très préliminaires puisqu'à ce jour seul 2 patients présentant un lymphome (Patient n°1 : tableau V-1 et figure V-1 ; patient n°2 : tableau V-2 et figure V-2) et 1 patient présentant un myélome multiple (tableau V-3 et figure V-3) ont été inclus.

Temps prélèvement	H0 (12h05)	H3 (15h01)	H8 (19h46)	H18 (6h30)	H24 (11h59)
Lagtime	9,0	39,7	9,7	9,7	11,9
ETP	1898	-1	1878	2030	1703
Pic de thrombine	136,5	2,2	126,3	130,2	125,8
Temps au pic	18,3	56,7	20,4	22,4	23,7
vélocité	14,6	0,1	11,8	10,2	10,7

**Tableau V-1 : Résultats de la génération de thrombine du patient n°1 (lymphome). ETP :** potentiel endogène de thrombine.

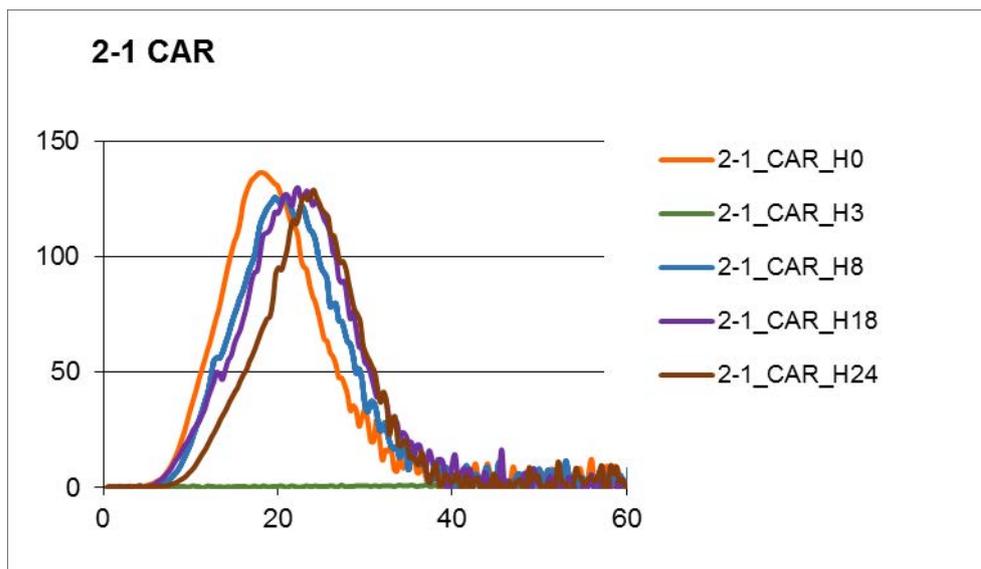


Figure V-1 : Résultats de la génération de thrombine du patient n°1 (lymphome).

Temps prélèvement	H0 (12h00)	H3 (15h00)	H8 (19h45)	H18 (6h)	H24 (12h00)
Lagtime	12,9	34,4	17,1	8,7	13,3
ETP	1910	1584	1776	1865	1932
Pic de thrombine	117,1	80,4	98,1	92,0	136,0
Temps au pic	27,6	50,1	32,9	25,4	27,0
vélocité	8,0	5,1	6,3	5,5	10,0

Tableau V-2 : Résultats de la génération de thrombine du patient n°2 (lymphome). ETP : potentiel endogène de thrombine.

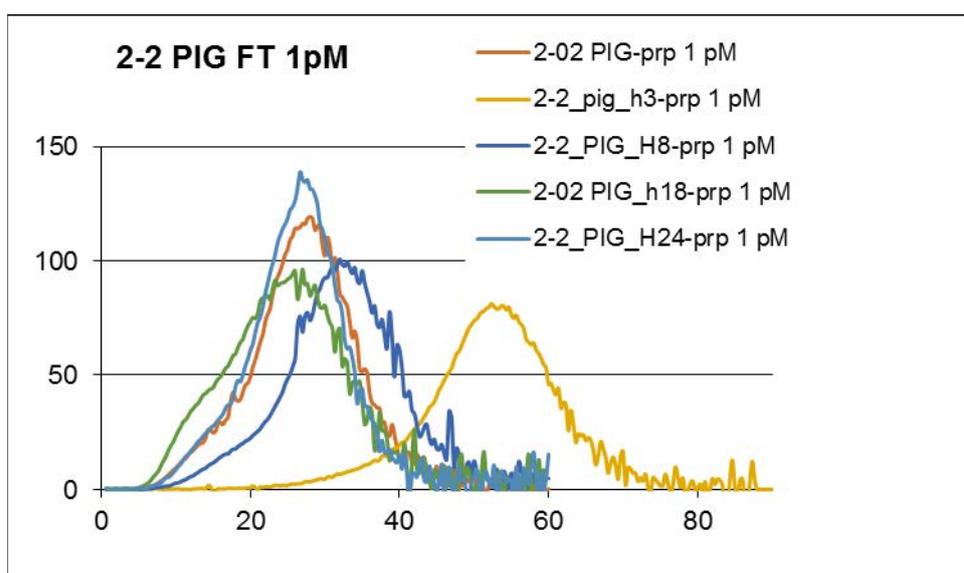
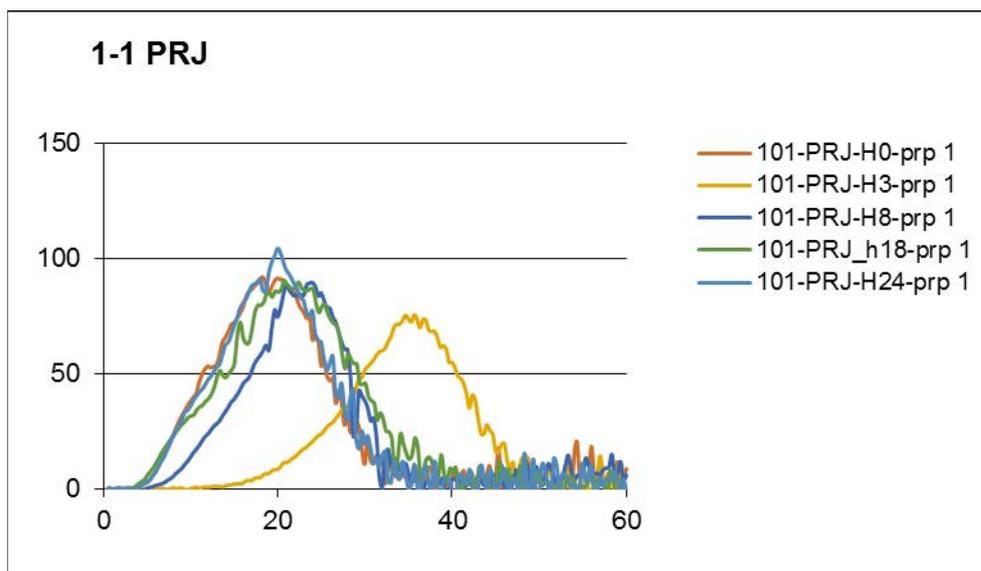


Figure V-2 : Résultats de la génération de thrombine du patient n°2 (lymphome).

Temps prélèvement	H0 (12h00)	H3 (15h00)	H8 (19h45)	H18 (6h)	H24 (12h00)
Lagtime	7,0	21,2	9,9	6,6	7,0
ETP	1444	1220	1256	1644	1481
Pic de thrombine	91,0	74,0	88,7	89,7	96,7
Temps au pic	19,3	35,3	22,9	21,9	19,7
vélocité	7,4	5,2	6,8	5,9	7,6

**Tableau V-3 : Résultats de la génération de thrombine du patient n°3 (Myélome multiple).** ETP : potentiel endogène de thrombine.



**Figure V-3 : Résultats de la génération de thrombine du patient n°3 (Myélome multiple).**

## D. Discussion et conclusion

L'HBPM testée est la tinzaparine à la dose de 4500 UI anti Xa. Le choix de cette HBPM et de cette posologie repose sur plusieurs arguments. Une étude pharmacocinétique a montré qu'à l'inverse de l'énoxaparine à 40 mg/j, il n'y avait pas « d'accumulation » de la tinzaparine (4.500 UI) chez les patients présentant une altération de la fonction rénale (clairance de la créatinine entre 20 et 50 ml/mn), situation que l'on rencontre dans plus de 50 % des cancers.<sup>61</sup> Par ailleurs, nous savons que le facteur tissulaire synthétisé par les cellules tumorales est un puissant inducteur de l'angiogénèse tumorale en induisant la production de VEGF et en inhibant celle de la thrombospondine. L'inhibiteur du facteur tissulaire (TFPI) inhibe l'angiogénèse tumorale.<sup>62,63</sup> Les HBPM favorisent la synthèse de TFPI par les cellules endothéliales et cet effet est nettement plus prononcé avec la tinzaparine notamment par le biais des fragments de haut poids moléculaire qui lui sont spécifiques au sein des

HBPM.<sup>64</sup> Cette activité anti-angiogénique de la tinzaparine lui confère donc un rôle potentiel de 1er choix par rapport aux autres HBPM dans le traitement du MM. De plus, par comparaison aux autres HBPM y compris l'énoxaparine, l'inhibition de l'activation de la coagulation induite in vitro par des cellules néoplasiques est significativement plus importante avec la tinzaparine.<sup>65</sup> Là encore, cette activité biologique anti thrombotique supérieure de la tinzaparine par rapport aux autres HBPM lui confère un rôle potentiel de 1er choix.

L'efficacité similaire des HBPM aux doses prophylactiques et de l'aspirine à 100 mg/j, l'absence d'accidents hémorragiques majeurs sous HBPM chez les patients atteints de myélome<sup>7</sup> et la possible non réduction du pic de génération de thrombine 24 après l'injection d'HBPM<sup>60</sup> nous a conduit à nous interroger sur l'existence d'une résistance aux HBPM aux doses usuelles préventives au cours du myélome. A ce stade, nous nous proposons donc d'évaluer la cinétique de la génération de thrombine au cours des 24 premières heures suivant une injection unique sous cutanée d'HBPM à dose prophylactique avec un dosage à H0 (base), H3 (pic) puis H12, H18 et H24 (pour la cinétique d'élimination) chez les patients atteints de MM à haut risque thrombotique c'est-à-dire bénéficiant d'un traitement par thalidomide, lénalidomide ou érythropoïétine,<sup>4</sup> chez les patients atteints de lymphome agressif, considérés comme les cancers hématologiques les plus thrombogènes après le MM avec une incidence de 4,8% à 1 an,<sup>56</sup> et chez des patients médicaux de type de décompensation respiratoire ou cardiaque aiguë. Dans notre étude, une diminution significative du pic de thrombine devra être observée au cours du temps. En cas de résistance aux HBPM, la diminution du pic de thrombine va s'amender rapidement pour revenir au niveau du pic constaté à H0 et cela avant H24 montrant que l'efficacité des HBPM n'est pas de 24H chez ces patients.

En conclusion, si cette résistance était démontrée sur le plan biologique, il conviendrait d'évaluer si celle-ci est particulière au myélome, d'une part au sein des cancers hématologiques et d'autre part par rapport aux patients hospitalisés pour une pathologie médicale, puis d'évaluer par la suite sur le plan clinique par un essai randomisé si cette résistance est amendée par une dose d'HBPM intermédiaire entre la dose prophylactique et la dose curative.

## VII. BILAN, DISCUSSION ET PERSPECTIVES

Ce travail de thèse multidisciplinaire a permis de remettre en question un certain nombre de points sur les données actuelles concernant la maladie thrombo-embolique veineuse dans le myélome multiple. En effet, actuellement, les sociétés savantes dans ce domaine proposent des recommandations sur la base de données scientifiques qui nous semblent incomplètes, non fondées ou d'interprétation erronée.

Tout d'abord les études épidémiologiques de cette thèse nous ont permis de montrer que :

- Le groupe à plus haut risque de maladie thromboembolique est constitué des patients présentant un myélome multiple *de novo*, traité par une association de chimiothérapie dont le thalidomide et recevant de l'EPO comme traitement de support.
- il n'y a pas de données permettant d'assimiler la conduite à tenir concernant le thalidomide à celle du lénalidomide, ce d'autant plus que les patients ne reçoivent du lénalidomide en première ligne, que dans le cadre de protocole thérapeutique de recherche.
- Les facteurs de risque habituels de la maladie thromboembolique sont pris en défaut lors de l'établissement par les hématologues de la catégorie de risque de leurs patients.
- Le sur risque thromboembolique artériel n'est pas établi.

Ensuite, les études médico-économiques nous ont permis d'affirmer que:

- Il est nécessaire d'interpréter avec une grande prudence les méta analyses affirmant une augmentation de survie des patients cancéreux traités par HBPM. En effet, ces études regroupent des patients dont les types de cancer, état d'avancement de la maladie, traitements utilisés et doses d'héparine sont très différents avec comme risque une conduite générale inadaptée pour des groupes spécifiques de patients.
- La généralisation de l'utilisation d'héparine prophylactique chez les patients présentant un myélome multiple *de novo* représente un réel problème sanitaire et social. D'une part cela coûte des millions d'euros au système de santé français, d'autre part, cela s'accompagne d'une diminution de la qualité de vie des patients et ce sans diminuer leur risque thrombotique.

Concernant l'étude physiopathologique, les résultats préliminaires semblent montrer que :

- La génération de thrombine des patients présentant un myélome multiple est plus élevée que celle d'une cohorte de sujets sains, ceci reflétant bien le risque thromboembolique accru de ces patients.

- L'évolution de la génération de thrombine n'apporterait pas d'élément supplémentaire pour détecter le délai d'apparition de l'évènement thrombotique.
- La génération de thrombine de chaque patient avant le début de sa chimiothérapie pourrait permettre d'adapter la thromboprophylaxie choisie, si l'étude nous permet de préciser des « normes » en fonction du traitement.

Concernant l'étude pharmacologique, les résultats préliminaires semblent montrer que :

- L'existence d'une résistance aux héparines. En effet, l'efficacité de l'héparine à dose préventive habituelle serait insuffisante dans des pathologies comme le myélome multiple, mais peut-être également dans d'autres cancers hématologiques comme les lymphomes agressifs.

Les questions en suspens sont :

- Le lénalidomide est-il moins à risque que le thalidomide ou cet effet est-il lié à son utilisation en seconde ligne ?
- L'utilisation de l'aspirine peut-elle être assimilée à l'utilisation d'un placebo chez ces patients, dans le cadre de cette prévention de la maladie thrombo-embolique ?

La poursuite des travaux de cette thèse permettra d'aboutir à de nouveaux projets dans le but d'une part de réaliser :

- un algorithme de classification adapté des patients présentant un myélome multiple, en groupe de risque permettant le choix d'une thromboprophylaxie
- un nouvel essai randomisé sur la thromboprophylaxie à doses adaptées des patients à risque de maladie thromboembolique, sélectionnés notamment par leur génération de thrombine.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Streiff MB. Diagnosis and initial treatment of venous thromboembolism in patients with cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol* 2009;27(29):4889–94.
2. Marchetti M, Diani E, ten Cate H, Falanga A. Characterization of the thrombin generation potential of leukemic and solid tumor cells by calibrated automated thrombography. *Haematologica* 2012;97(8):1173–80.
3. Carrier M, Le Gal G, Tay J, Wu C, Lee AY. Rates of venous thromboembolism in multiple myeloma patients undergoing immunomodulatory therapy with thalidomide or lenalidomide: a systematic review and meta-analysis. *J Thromb Haemost* 2011;9(4):653–63.
4. Anaissie EJ, Coleman EA, Goodwin JA, et al. Prophylactic recombinant erythropoietin therapy and thalidomide are predictors of venous thromboembolism in patients with multiple myeloma: limited effectiveness of thromboprophylaxis. *Cancer* 2012;118(2):549–57.
5. Palumbo A, Rajkumar SV, Dimopoulos MA, et al. Prevention of thalidomide- and lenalidomide-associated thrombosis in myeloma. *Leukemia* 2008;22(2):414–23.
6. Cavo M, Zamagni E, Cellini C, et al. Deep-vein thrombosis in patients with multiple myeloma receiving first-line thalidomide-dexamethasone therapy. *Blood* 2002;100(6):2272–2272.
7. Palumbo A, Cavo M, Bringhen S, et al. Aspirin, Warfarin, or Enoxaparin Thromboprophylaxis in Patients With Multiple Myeloma Treated With Thalidomide: A Phase III, Open-Label, Randomized Trial. *J Clin Oncol* 2011;29(8):986–93.
8. Baz R, Li L, Kottke-Marchant K, et al. The role of aspirin in the prevention of thrombotic complications of thalidomide and anthracycline-based chemotherapy for multiple myeloma. *Mayo Clin Proc* 2005;80(12):1568–74.
9. Zervas K, Dimopoulos MA, Hatzicharissi E, et al. Primary treatment of multiple myeloma with thalidomide, vincristine, liposomal doxorubicin and dexamethasone (T-VAD doxil): a phase II multicenter study. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol ESMO* 2004;15(1):134–8.
10. Musallam KM, Dahdaleh FS, Shamseddine AI, Taher AT. Incidence and prophylaxis of venous thromboembolic events in multiple myeloma patients receiving immunomodulatory therapy. *Thromb Res* 2009;123(5):679–86.
11. Bennett CL, Schumock GT, Desai AA, et al. Thalidomide-associated deep vein thrombosis and pulmonary embolism. *Am J Med* 2002;113(7):603–6.
12. Facon T, Mary JY, Hulin C, et al. Melphalan and prednisone plus thalidomide versus melphalan and prednisone alone or reduced-intensity autologous stem cell transplantation in elderly patients with multiple myeloma (IFM 99-06): a randomised trial. *Lancet Lond Engl* 2007;370(9594):1209–18.
13. Gieseler F, Ungefroren H, Settmacher U, Hollenberg MD, Kaufmann R. Proteinase-activated receptors (PARs) - focus on receptor-receptor-interactions and their physiological and pathophysiological impact. *Cell Commun Signal CCS* 2013;11:86.

14. Spek CA, Versteeg HH, Borensztajn KS. Anticoagulant therapy of cancer patients: Will patient selection increase overall survival? *Thromb Haemost* 2015;114(3):530–6.
15. Elice F, Fink L, Tricot G, Barlogie B, Zangari M. Acquired resistance to activated protein C (aAPCR) in multiple myeloma is a transitory abnormality associated with an increased risk of venous thromboembolism. *Br J Haematol* 2006;134(4):399–405.
16. Zangari M, Berno T, Zhan F, Boucher KM, Tricot G, Fink L. Activated protein C resistance as measured by residual factor V after Russell’s viper venom and activated protein C treatment analyzed as a continuous variable in multiple myeloma and normal controls. *Blood Coagul Fibrinolysis Int J Haemost Thromb* 2011;22(5):420–3.
17. Auwerda JJA, Sonneveld P, Maat MPM de, Leebeek FWG. Prothrombotic coagulation abnormalities in patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Haematologica* 2007;92(2):279–80.
18. van Marion AMW, Auwerda JJA, Lisman T, et al. Prospective evaluation of coagulopathy in multiple myeloma patients before, during and after various chemotherapeutic regimens. *Leuk Res* 2008;32(7):1078–84.
19. Shen Y, Zhou X, Wang Z, et al. Coagulation profiles and thromboembolic events of bortezomib plus thalidomide and dexamethasone therapy in newly diagnosed multiple myeloma. *Leuk Res* 2011;35(2):147–51.
20. Uaprasert N, Voorhees PM, Mackman N, Key NS. Venous thromboembolism in multiple myeloma: current perspectives in pathogenesis. *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990 2010;46(10):1790–9.
21. Minnema MC, Fijnheer R, De Groot PG, Lokhorst HM. Extremely high levels of von Willebrand factor antigen and of procoagulant factor VIII found in multiple myeloma patients are associated with activity status but not with thalidomide treatment. *J Thromb Haemost JTH* 2003;1(3):445–9.
22. Auwerda JJA, Yuana Y, Osanto S, et al. Microparticle-associated tissue factor activity and venous thrombosis in multiple myeloma. *Thromb Haemost* 2011;105(1):14–20.
23. Gieseler F. Pathophysiological considerations to thrombophilia in the treatment of multiple myeloma with thalidomide and derivatives. *Thromb Haemost* 2008;99(6):1001–7.
24. Petropoulou AD, Gerotziafas GT, Samama MM, Hatmi M, Rendu F, Elalamy I. In vitro study of the hypercoagulable state in multiple myeloma patients treated or not with thalidomide. *Thromb Res* 2008;121(4):493–7.
25. Johnson DC, Corthals S, Ramos C, et al. Genetic associations with thalidomide mediated venous thrombotic events in myeloma identified using targeted genotyping. *Blood* 2008;112(13):4924–34.
26. Hemker HC, Giesen P, AlDieri R, et al. The calibrated automated thrombogram (CAT): a universal routine test for hyper- and hypocoagulability. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2002;32(5-6):249–53.
27. Tardy-Poncet B, Piot M, Chapelle C, et al. Thrombin generation and heparin-induced thrombocytopenia. *J Thromb Haemost JTH* 2009;7(9):1474–81.

28. Tardy-Poncet B, Tardy B, Laporte S, et al. Poor anticoagulant response to tissue factor pathway inhibitor in patients with venous thrombosis. *J Thromb Haemost* 2003;1(3):507–10.
29. Bombeli T, Piccapietra B, Boersma J, Fehr J. Decreased anticoagulant response to tissue factor pathway inhibitor in patients with venous thromboembolism and otherwise no evidence of hereditary or acquired thrombophilia. *Thromb Haemost* 2004;91(1):80–6.
30. Dahm A, Rosendaal FR, Andersen TO, Sandset PM. Tissue factor pathway inhibitor anticoagulant activity: risk for venous thrombosis and effect of hormonal state. *Br J Haematol* 2006;132(3):333–8.
31. Tardy-Poncet B, Piot M, Brunet D, et al. TFPI resistance related to inherited or acquired protein S deficiency. *Thromb Res* 2012;130(6):925–8.
32. Moreau P, Attal M, Facon T. Frontline therapy of multiple myeloma. *Blood* 2015;125(20):3076–84.
33. Vidal 2015. Thalidomide celgene. 2013;
34. RÉSUMÉ DES CARACTÉRISTIQUES DU PRODUIT. Thalidomide. <http://www.ema.europa.eu>. 2013;
35. Zhu YX, Kortuem KM, Stewart AK. Molecular mechanism of action of immune-modulatory drugs thalidomide, lenalidomide and pomalidomide in multiple myeloma. *Leuk Lymphoma* 2013;54(4):683–7.
36. Dredge K, Marriott JB, Macdonald CD, et al. Novel thalidomide analogues display anti-angiogenic activity independently of immunomodulatory effects. *Br J Cancer* 2002;87(10):1166–72.
37. Teo SK. Properties of thalidomide and its analogues: implications for anticancer therapy. *AAPS J* 2005;7(1):E14–9.
38. Leleu X, Micol JB, Guieze R, et al. Thalidomide : mécanismes d'action et indications en hématologie. *Rev Médecine Interne* 2005;26(2):119–27.
39. Vacca A, Ribatti D, Presta M, et al. Bone marrow neovascularization, plasma cell angiogenic potential, and matrix metalloproteinase-2 secretion parallel progression of human multiple myeloma. *Blood* 1999;93(9):3064–73.
40. Lyman GH, Bohlke K, Khorana AA, et al. Venous Thromboembolism Prophylaxis and Treatment in Patients With Cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline Update 2014. *J Clin Oncol* 2015.59.7351.
41. Engelhardt M, Terpos E, Kleber M, et al. European Myeloma Network recommendations on the evaluation and treatment of newly diagnosed patients with multiple myeloma. *Haematologica* 2014;99(2):232–42.
42. Palumbo A, Bringhen S, Caravita T, et al. Oral melphalan and prednisone chemotherapy plus thalidomide compared with melphalan and prednisone alone in elderly patients with multiple myeloma: randomised controlled trial. *The Lancet* 2006;367(9513):825–31.

43. Naess IA, Christiansen SC, Romundstad P, Cannegieter SC, Rosendaal FR, Hammerstrøm J. Incidence and mortality of venous thrombosis: a population-based study. *J Thromb Haemost* 2007;5(4):692–9.
44. Grip O, Kuoppala M, Acosta S, Wanhainen A, Åkeson J, Björck M. Outcome and complications after intra-arterial thrombolysis for lower limb ischaemia with or without continuous heparin infusion. *Br J Surg* 2014;101(9):1105–12.
45. Chung S-C, Gedeborg R, Nicholas O, et al. Acute myocardial infarction: a comparison of short-term survival in national outcome registries in Sweden and the UK. *Lancet* 2014;383(9925):1305–12.
46. Corso G, Bottacchi E, Giardini G, et al. Epidemiology of stroke in northern Italy: the Cerebrovascular Aosta Registry, 2004-2008. *Neurol Sci Off J Ital Neurol Soc Ital Soc Clin Neurophysiol* 2013;34(7):1071–81.
47. Kovacs MJ, Davies GA, Chapman J-AW, et al. Thalidomide-prednisone maintenance following autologous stem cell transplant for Multiple Myeloma: effect on thrombin generation and procoagulant markers in NCIC CTG MY.10. *Br J Haematol* 2015;168(4):511–7.
48. Hron G, Kollars M, Binder BR, Eichinger S, Kyrle PA. Identification of patients at low risk for recurrent venous thromboembolism by measuring thrombin generation. *JAMA J Am Med Assoc* 2006;296(4):397–402.
49. Besser M, Baglin C, Luddington R, van Hylckama Vlieg A, Baglin T. High rate of unprovoked recurrent venous thrombosis is associated with high thrombin-generating potential in a prospective cohort study. *J Thromb Haemost JTH* 2008;6(10):1720–5.
50. Ay C, Dunkler D, Simanek R, et al. Prediction of Venous Thromboembolism in Patients With Cancer by Measuring Thrombin Generation: Results From the Vienna Cancer and Thrombosis Study. *J Clin Oncol* 2011;29(15):2099–103.
51. Al Dieri R, de Laat B, Hemker HC. Thrombin generation: What have we learned? *Blood Rev* 2012;26(5):197–203.
52. Tripodi A, Legnani C, Chantarangkul V, Cosmi B, Palareti G, Mannucci PM. High thrombin generation measured in the presence of thrombomodulin is associated with an increased risk of recurrent venous thromboembolism. *J Thromb Haemost JTH* 2008;6(8):1327–33.
53. Dargaud Y, Francillon S, Negrier C. Intraindividual thrombin generation measurement variability in healthy adults over a one year period. *Thromb Res* 2009;124(2):237–8.
54. Gionis MN, Ioannou CV, Katsamouris AN, et al. The study of the thrombin generation mechanism and the effect of low molecular weight heparin as thromboprophylaxis in patients undergoing total knee and hip replacement. *Thromb Res* 2013;132(6):685–91.
55. Tobin WO, Kinsella JA, Kavanagh GF, et al. Longitudinal assessment of thrombin generation potential in response to alteration of antiplatelet therapy after TIA or ischaemic stroke. *J Neurol* 2013;260(2):590–6.
56. Khorana AA, Francis CW, Culakova E, Kuderer NM, Lyman GH. Thromboembolism is a leading cause of death in cancer patients receiving outpatient chemotherapy. *J Thromb Haemost JTH* 2007;5(3):632–4.

57. Larocca A, Cavallo F, Bringhen S, et al. Aspirin or enoxaparin thromboprophylaxis for patients with newly diagnosed multiple myeloma treated with lenalidomide. *Blood* 2012;119(4):933–9; quiz 1093.
58. Brighton TA, Eikelboom JW, Mann K, et al. Low-dose aspirin for preventing recurrent venous thromboembolism. *N Engl J Med* 2012;367(21):1979–87.
59. Di Nisio M, Porreca E, Ferrante N, Otten H-M, Cuccurullo F, Rutjes AWS. Primary prophylaxis for venous thromboembolism in ambulatory cancer patients receiving chemotherapy. *Cochrane Database Syst Rev* 2012;2:CD008500.
60. Traby L, Kaider A, Schmid R, et al. The effects of low-molecular-weight heparin at two different dosages on thrombin generation in cancer patients: A randomised controlled trial. *Thromb Haemost* 2010;104(1):92–9.
61. Mahé I, Aghassarian M, Drouet L, et al. Tinzaparin and enoxaparin given at prophylactic dose for eight days in medical elderly patients with impaired renal function: a comparative pharmacokinetic study. *Thromb Haemost* 2007;97(4):581–6.
62. Holroyd EW, Delacroix S, Larsen K, et al. Tissue factor pathway inhibitor blocks angiogenesis via its carboxyl terminus. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012;32(3):704–11.
63. Zhang Q, Zhang Y, Wang SZ, et al. Reduced expression of tissue factor pathway inhibitor-2 contributes to apoptosis and angiogenesis in cervical cancer. *J Exp Clin Cancer Res* 2012;31:1.
64. Amirkhosravi A, Mousa SA, Amaya M, Francis JL. Antimetastatic effect of tinzaparin, a low-molecular-weight heparin. *J Thromb Haemost JTH* 2003;1(9):1972–6.
65. Gerotziafas GT, Galea V, Mbemba E, et al. Effect of Low Molecular Weight Heparins and Fondaparinux upon Thrombin Generation Triggered by Human Pancreatic Cancer Cells BXPC3. *Curr Vasc Pharmacol* 2012;

## Annexe 1 : Génération de thrombine sur plasma riche en plaquettes.

### Génération de thrombine sur plasma riche en plaquettes

Applicable par :	Date d'application :	Référence :	Version :	Nombre total de pages
LABORATOIRE GRT	01/11/2013	GRT.MO.CATPRP	2	4

#### 1. Objet

Ce mode opératoire a pour but de définir le mode de réalisation du test de génération de thrombine dans le plasma riche en plaquettes par méthode CAT (calibrated automated thrombography)

#### 2. Domaine d'application

Cette procédure doit être connue des techniciens, étudiants et ingénieurs réalisant ce dosage

#### 3. Références bibliographiques

Hemker HC, Pathophysiol Haemost Thromb 2003;33:4–15. Calibrated Automated Thrombin Generation Measurement in Clotting Plasma

#### 4. Echantillons concernés

Plasma riche en plaquettes : sang prélevé sur S-monovettes Sarstedt citrate 0.106M. Le PRP est obtenu par centrifugation à 160g 10 min, à température ambiante, seuls les 2/3 supérieurs du plasma conservés.

Le PRP doit être utilisé dans les 2H suivant le prélèvement

#### 5. Abréviations

TGT : test de génération de thrombine

CAT : méthode Calibrated Automated Thrombography (Hemker)

LT: temps de latence; ETP: potentiel global de thrombine (Aire sous la courbe) ; P : Pic de thrombine ; TTP : temps au pic

PRP : plasma riche en plaquettes

FT : facteur tissulaire

## 6. Matériel

Fluoroskan Ascent (Thermolab system) équipé du logiciel « Thrombinoscope » et d'une paire de filtres 390 / 460 nm

Microplaques Immulon 2HB, fond rond transparent (Diagnostica Stago, ref 86175)

## 7. Réactifs

**Tampon HBS**, pH 7,35 Hépès 20mM, NaCl 140 mM, BSA 5g/L

**FluCa kit**, Diagnostica Stago ref 86197

**CaCl<sub>2</sub> 1 M**

**Dade Innovin**, Siemens Behring ref B4212-50

**Trombin calibrator**, Diagnostica Stago ref 86192

## 8. Principe

La thrombinographie permet de suivre quantitativement la cinétique de génération de la thrombine pour établir le potentiel du système de coagulation des sujets étudiés.

La coagulation est déclenchée par recalcification en présence d'une faible concentration en facteur tissulaire recombinant humain. Un substrat fluorigène de la thrombine, Z-Gly-Gly-Arg-AMC, est utilisé. Les mesures sont réalisées sur Fluorimètre Ascent (Thermo Labsystems) à l'aide du logiciel Thrombinoscope® (Synapse).

Un calibrant (thrombine complexée à l' $\alpha$ 2-macroglobuline, d'activité environ 600 nM) est mesuré en parallèle pour chaque spécimen de plasma pour corriger les effets de consommation du substrat ainsi que l'influence des facteurs propres au plasma : couleur, opacité. Il permet la conversion des unités de fluorescence obtenues en concentration molaire de thrombine active.

## 9. Déroulement de l'analyse

### 1. Préparation des réactifs

#### 1. Tampon HBS

Pour 100 ml d'eau distillée, peser 0.477 g d'Hépès (Sigma-PM238.3) + 0.818 g de NaCl (PM 58.44). Ajuster le pH à 7.35 avec NaOH 10 N. Transférer 100 ml de tampon dans un flacon à col large. Peser 0.5 g d'albumine BSA (Sigma ref.A3912) et déposer à la surface du tampon. Laisser dissoudre lentement au réfrigérateur avant de mélanger pour éviter la formation de mousse. Conserver au congélateur à -80°C en fractions de 5ml.

#### 2. Solution CaCl<sub>2</sub> 1 M

Pour 100 ml d'eau distillée, peser 14.702 g de CaCl<sub>2</sub>, 2H<sub>2</sub>O (PM : 147), laisser dissoudre puis homogénéiser par vortex. Conserver au congélateur en fractions de 2 ml dans tubes stériles .

#### 3. FluCa-kit Diagnostica Stago ref 86197

Préchauffer 1.6 ml (1 flacon) de Fluo-buffer au bain-marie à 37°C, 15 min minimum. Juste avant la mesure (temps de préchauffage de la plaque), rajouter 40  $\mu$ l de Flu-substrat, vortexer immédiatement, conserver à 37°C jusqu'à utilisation.

#### 4. FT : Innovin

Un flacon repris par 10 ml d'eau distillée à température ambiante ; attendre 30 min puis mélanger par vortex. Conserver au congélateur à -80° en fraction de 100µL

#### 5. Trombin calibrator Diagnostica Stago ref 86192

Un flacon repris par 1ml eau distillée 10 min avant utilisation, homogénéiser par retournement du flacon 5 à 10 fois. **Ne pas congeler.**

## 2. Préparation des échantillons de plasma

### 1. Patients

Préparer 600 µL de plasma riche en plaquettes frais (délai prélèvement-mesure < 2H)

### 2. Contrôles

*Pool PRP témoin* : pool de 50 plasmas issus de donneurs de sang EFS, prélevés sur citrate 0.105M, centrifugation à 160 g 10 min, compte plaquettaire ajusté à  $150 \cdot 10^9$ , aliquoté sous 500 µl en microtubes 1.5ml, conservation à -80°C. Décongélation 5 min à 37°C, 30 min avant début de manip. Effectuer une dilution au 1/10 en tampon HBS dans un microtube 1.5ml. Homogénéiser par retournement délicat du microtube.

Un échantillon de pool témoin dilué testé dans chaque série de mesures.

## 3. Mode opératoire (cf Thrombogram guide p14-21)

### 3. Préparation extemporanée des réactifs :

#### 1. Solution de rinçage du fluorimètre :

Dans un tube en verre 10 ml, mesurer 4.5 ml eau distillée + 0.5 ml CaCl<sub>2</sub> 1M, placer 30 min au bain-marie à 37°.

#### 2. Solution Substrat (FluCa) :

Préchauffer 1.6 ml (1 flacon) de Fluo-buffer au bain-marie à 37°C, 15 min minimum. Juste avant la mesure (temps de préchauffage de la plaque), rajouter 40 µl de Flu-substrat, vortexer immédiatement, conserver à 37°C jusqu'à utilisation.

#### Facteur tissulaire : Innovin dilué 1/1000

Décongeler 1 aliquot d'Innovin 5 min au bain-marie à 37°C. Effectuer la dilution au 1/1000 en tampon HBS, procéder en 2 étapes :

- 1- dil 1/10 : 20 µL Innovin + 180 µL tampon HBS, homogénéiser par vortex
- 2- dil 1/100 : 20 µL solution Innovin diluée + 1980 µL tampon HBS

On obtient une solution à 6pM, soit en concentration finale dans le milieu réactionnel : 1 pM

Préincuber la solution au bain-marie à 37°C, 15 min ; stabilité 1H à 37°C.

### 4. Paramétrage du fluorimètre :

- **Vérifier l'activité du Trombin calibrator**, si un lot différent est utilisé, corriger les données, **sauvegarder** et **redémarrer** le programme
- Etablir le plan de plaque : chaque échantillon en triple, calibrant en double.
- Paramétrage : Agitation : 10 sec ; Lecture : 60 à 90 min (fonction du type de plasma testé), intervalle : 15 sec
- Rincer le dispensateur avec de l'eau distillée (5 à 10 ml), s'assurer qu'il soit opérationnel et que le jet ne soit pas dispersé

## 5. Pipetage des réactifs et du plasma

Préchauffer à 37°C une microplaque à fond rond. Déposer le réactif puis le plasma sur la paroi, au fond des puits, pipette inclinée à 45°. Effectuer le pipetage « entre 2 traits » pour éviter la formation de bulles. Déposer :

- 20 µl d'Innovin dilué 1/1000 dans les puits « mesure »
- 20 µl de Thrombin calibrator dans les puits « calibrant »
- 80 µl de plasma dans chaque puits

Vérifier l'absence de bulles, éventuellement, les percer avec une aiguille

## 6. Démarrage du test

Placer la plaque dans le Fluorimètre (plate IN)= T0

Préparer la solution FluCa : ajouter 40 µl de Substrat Fluo dans le tube Fluo-buffer préchauffé à 37°, vortexer immédiatement

**A T 8 min**, rincer le système avec la solution de rinçage préalablement réchauffée au BM à 37°, puis amorcer la solution FluCa (suivre les indications de la machine)

**A T 10 min**, lancer la mesure par addition de 20 µl de FluCa

Remettre l'embout préleveur dans un tube d'eau distillée pour éviter les bouchages

Fermer le couvercle du Fluoriscan

## 4. Résultats

### 1. Edition des résultats

En fin de mesure, sauvegarder les résultats

Ouvrir la version 5.0 du logiciel Analysis (MDP : CAT). Rechercher le dernier fichier mesuré : chemin d'accès : C- program files- thrombinoscope v3-user-MP-Rawdata- fichier au format « MP-date ».

Ouvrir le fichier, vérifier les différents graphes, enregistrer au format .xls sur clé USB.

Transférer ces résultats sur un fichier excel, calculer les paramètres TGT : LT, Pic de thrombine, ETP et temps au pic de chaque échantillon de plasma.

Graphiques : sélectionner la colonne des temps et les colonnes de mesure souhaitées

Dans l'assistant graphique : choisir Nuage de points avec lissage sans marquage des données

Enregistrer le nouveau fichier au format .xls

### 2. Contrôle de qualité :

Reporter les résultats de LT, ETP, ttP et vélocité mesurés sur le pool PRP témoin dans le fichier « cont intermanip » (G:\TGT\controles TGT\cont intermanip) Vérifier la validité de la manip : mesures dans la fourchette moy + ou- 2ET

### 3. Impression des résultats :

Sous 2 formes :

- Tableau excel comportant pour chaque échantillon testé : LT et ttP (min), ETP et Peak (nmol Thrombin) et vélocité calculée par la formule :  $P / (ttP-LT)$
- Graphes « thrombogram » individuels ou superposés des échantillons

## Annexe 2 : Recherche de résistance au TFPI par thrombinographie.

### Recherche de résistance au TFPI par thrombinographie (ETP- rTFPI)- protocole METRO

Applicable par :	Date d'application :	Référence :	Version :	Nombre total de pages
LABORATOIRE GRT	09/09/2015	GRT.MO.ETP-rTFPI	1	4

#### 10. Objet

Ce mode opératoire a pour but de définir le mode de réalisation du test de recherche de résistance au TFPI dans le plasma pauvre en plaquettes par méthode CAT (calibrated automated thrombography)

#### 11. Domaine d'application

Cette procédure doit être connue des techniciens, étudiants et ingénieurs réalisant ce dosage

#### 12. Echantillons concernés

Plasma pauvre en plaquettes prélevé sur citrate 0.105 M ou S-monovettes Sarstedt citrate 0.106M, obtenu après double centrifugation, seuls les 2/3 supérieurs du plasma conservés.

Plasma conservé à -80°, en fractions de 600 µl, décongelé 15 mn à 37° et utilisé dans les 2H suivant la décongélation

#### 13. Abréviations

CAT: méthode Calibrated Automated Thrombography (Hemker)

LT: temps de latence; ETP: potentiel global de thrombine (Aire sous la courbe) ; P : Pic de thrombine ; TTP : temps au pic

TFPI : Tissue factor pathway inhibitor

#### 14. Matériel

Fluoroskan Ascent (Thermolab system) équipé du logiciel « Thrombroscope » et d'une paire de filtres 390 / 460 nm

Microplaques Immulon 2HB, fond rond transparent (Diagnostica Stago, ref 86175)

## 15. Réactifs

### **CaCl<sub>2</sub> 1 M**

**Tampon HBS**, pH 7,35 Hépès 20mM, NaCl 140 mM, BSA 5g/L

**PPP Reagent 1 pM**, Diagnostica Stago ref 86194

**Trombin calibrator**, Diagnostica Stago ref 86192

**FluCa kit**, Diagnostica Stago ref 86197

**TFPI Humain recombinant**, American diagnostica, ref 4900PC

## 16. Principe

La mesure du profil thrombinographique (méthode CAT) réalisée en absence et en présence TFPI humain recombinant permet la mise en évidence d'une résistance au TFPI.

Le test de génération de thrombine est réalisé en PPP en présence de facteur tissulaire (1pM) et de phospholipides (4µM). 3 tracés sont enregistrés en simultané :

- TGT initial (PPP + FT 1pM)
- TGT en présence de TFPI humain recombinant (PPP + FT 1pM + TFPI [C] finale 50 ng/ml)
- calibrant (PPP + Thrombin calibrator)

La coagulation est déclenchée par addition d'un mélange de chlorure de calcium et du substrat fluorigène de la thrombine, Z-Gly-Gly-Arg-AMC. Les mesures sont réalisées sur Fluorimètre Ascent (Thermo Labsystems) à l'aide du logiciel Thrombinoscope® (Synapse).

Le calcul du rapport du potentiel global de thrombine (ETP) et du temps de latence (LT) mesuré en présence et en absence de TFPI permet de quantifier, pour chaque échantillon de plasma, l'activité anticoagulante du TFPI. Chez le volontaire sain, la concentration de TFPI choisie (50 ng/ml) entraîne l'inhibition de 60 à 70 % d'ETP et un allongement de 4.5 à 5 fois du LT.

## 17. Déroulement de l'analyse

### 5. Préparation des réactifs QSP 2 patients, 4 prélvts/pat.

#### 4. Solution CaCl<sub>2</sub> 1 M

Pour 100 ml d'eau distillée, peser 14.702 g de CaCl<sub>2</sub>, 2H<sub>2</sub>O (PM : 147), laisser dissoudre puis homogénéiser par vortex. Conserver au congélateur en fractions de 2 ml dans tubes stériles

#### 5. Tampon HBS-BSA

Pour 100 ml d'eau distillée, peser 0.477 g d'Hépès (Sigma-PM238.3) + 0.818 g de NaCl (PM 58.44). Ajuster le pH à 7.35 avec NaOH 10 N. Transférer 100 ml de tampon dans un flacon à col large. Peser 0.5 g d'albumine BSA (Sigma ref.A3912) et déposer à la surface du tampon. Laisser dissoudre lentement au réfrigérateur avant de mélanger pour éviter la formation de mousse. Conserver au congélateur à -80°C en fractions de 5mL

#### 6. PPP Reagent LOW 1 pM, Diagnostica Stago ref 86194

Un flacon repris par 1 ml eau distillée, mélanger doucement et utiliser immédiatement. **Ne pas vortexer. Utiliser dans l'heure qui suit la préparation.**

#### 7. Trombin calibrator, Diagnostica Stago ref 86192

Un flacon repris par 1ml eau distillée 5 min avant utilisation, mélanger par retournement du flacon. Conserver au réfrigérateur 6H maxi. **Ne pas congeler.**

## 8. FluCa-kit, Diagnostica Stago ref 86197

Préchauffer 2.0 ml de Fluo-buffer au bain-marie à 37°C, 15 min. Juste avant la mesure (temps de préchauffage de la plaque), rajouter 50 µl de Flu-substrat, vortexer immédiatement, conserver à 37°C jusqu'à utilisation.

## 9. TFPI humain recombinant : Ref 4900 PC – American Diagnostica inc. (USA)

lot 090925 exp 2012-12-14, fractions congelées de 500 ng (20 µl)

cf MO Résistance au TFPI par TTD- AOL06 pour la préparation des fractions congelées

Décongélation rapide : 2 min au BM à 37°C

Ajouter 80 µL de tampon HBS, **vortex 1800T- 10 sec** → 100 µL TFPI [C] 5 µg.mL<sup>-1</sup>

## 10. PPP LOW ± TFPI

Dans 2 microtubes polypropylène

- tube 1 : mesurer **380 µl** de PPP Reagent, ajouter **24 µl** de tampon HBS/BSA → PPP LOW-HBS
- tube 2 : mesurer **560 µl** de PPP Reagent, ajouter **36 µl** de TFPI 5 µg.mL<sup>-1</sup> → PPP LOW-TFPI

Mélanger par vortex **doux** (1400T) 10 sec

## 6. Préparation des échantillons de plasma

### 11. Patients

Décongeler 1 aliquot de 600 µL de PPP de chaque visite/patient en le plaçant au bain-marie à 37°C, pendant 10 min. Utiliser dans les 2 heures suivant la décongélation.

### 12. Contrôles

*Pool plasma témoin* : pool de 50 plasmas (lot 130114) issus de donneurs de sang EFS, prélevés sur citrate 0.105M, double centrifugation 2500g, 15 min, aliquoté sous 600 µl en microtubes 1.5ml, conservation à -80°C. Un échantillon de pool témoin testé dans chaque série de mesures

## 7. Mode opératoire

### 13. Préparation extemporanée des réactifs :

#### 1. Solution Substrat (FluCa) :

Préchauffer 2.0 ml de Fluo-buffer au bain-marie à 37°C, 15 min minimum (ajouter 400 µl dans un flacon contenant 1.6 ml). Juste avant la mesure (temps de préchauffage de la plaque), rajouter 50 µl de Flu-substrat, vortexer immédiatement, conserver à 37°C jusqu'à utilisation.

#### 14. Paramétrage du fluorimètre :

**Calibration** : Vérifier et modifier si besoin (changement de lot) la valeur de l'activité du calibrator : menu « Setting ». Redémarrer le logiciel après modification des valeurs du calibrant.

#### 2. Etablir le plan de plaque :

Utiliser le modèle « METRO-rTFPI ». 7 puits par échantillon : TGT initial et calibrant en double détermination, TGT-TFPI en triple détermination.

#### 3. Paramétrer le Fluorimètre :

Agitation : 10 sec

Lecture : 90 mn, intervalle : 20 sec

#### 4. Rincer le dispenseur

avec de l'eau distillée (5 à 10 ml), s'assurer qu'il soit opérationnel et que le jet ne soit pas dispersé

## 5. Pipetage des réactifs et du plasma

Il s'effectue entre 2 traits pour éviter la formation de bulles, déposer réactifs et plasma sur la paroi, au fond des puits, pipette inclinée à 45°.

Déposer :

20 µl de PPP LOW-HBS dans les puits « TGT initial »

20 µl de PPP LOW-TFPI dans les puits « TGT-TFPI »

20 µl de Thrombin calibrator dans les puits «calibrant »

80 µl de plasma dans chaque puits

Vérifier l'absence de bulles.

## 6. Démarrage du test :

Placer la plaque dans le Fluorimètre (plate IN)= **T0**

Préparer la solution FluCa : ajouter 50 µl de Substrat Fluo dans le tube contenant 2 mL de fluo-buffer préchauffé à 37°, vortexer immédiatement

**A T 8 min**, rincer le système avec la solution de rinçage préalablement réchauffée au BM à 37°, puis amorcer la solution FluCa (suivre les indications de la machine)

**A T 10 min**, lancer la mesure par addition de 20 µl de FluCa

Remettre l'embout préleveur dans un tube d'eau distillée pour éviter les bouchages

Fermer le couvercle du Fluoroscan

## 8. Résultats

### 15. Edition des résultats

En fin de mesure, sauvegarder les résultats

Ouvrir la version 5.0 du logiciel Analysis (MDP : CAT). Rechercher le dernier fichier mesuré : chemin d'accès : C- program files- thrombinoscope v3-user-MP-Rawdata- fichier au format « EC-date ».

Ouvrir le fichier, vérifier les différents graphes, enregistrer au format .xls sur clé USB.

Transférer ces résultats sur un fichier excel, calculer les ratios « LT TFPI/ LT HBS », « ETP TFPI/ETP initial » et le % d'inhibition d'ETP de chaque échantillon de plasma.

### 16. Contrôle de qualité :

Reporter les résultats de LT, ETP, ttP, vitesse, ratio LT, ratio ETP et inhibition ETP % mesurés sur le pool témoin dans le fichier « cont intermanip » dans le cadre correspondant au lot de PPP Reagent utilisé.

Vérifier la validité de la manip : mesures dans la fourchette moy + ou- 2ET

### 17. Impression des résultats :

Sous 2 formes :

- Tableau excel comportant pour chaque échantillon testé : LT et ttP (min), ETP, Peak (nmol Thrombin) et index de vitesse.
- Graphes « thrombogram » individuels ou superposés des échantillons

### Annexe 3 : protocole volontaires sains réalisé en 2015.

## TGT en PRP – valeurs normales

- FT 1pM – Dade Innovin dil. 1/1000 (lot 539267B)

	N= 40 vol.sains (H.18-43 ans)	S monovette citrate <b>SANS CTI</b>	S monovette citrate <b>+ CTI 1.45 µM</b>
<b>Lag time</b> (min)	Moy.(ET) Médiane (Q1-Q3)	<b>5.8</b> (0.8) 5.7 (5.1-6.2)	<b>6.6</b> (1.0) 6.5 (5.7-7.0)
<b>ETP</b> (nmol*min)	Moy.(ET) Médiane (Q1-Q3)	<b>1272</b> (227) 1215 (1143-1324)	<b>1168</b> (236) 1094 (1039-1268)
<b>Peak</b> (nmol thrombin)	Moy.(ET) Médiane (Q1-Q3)	<b>105</b> (26) 104 (82-116)	<b>87</b> (24) 86 (71-99)
<b>Time to Peak</b> (min)	Moy.(ET) Médiane (Q1-Q3)	<b>14.9</b> (1.4) 14.7 (13.9-15.7)	<b>17.0</b> (1.5) 17.2 (15.9-18.0)
<b>Velocity index</b>	Moy.(ET) Médiane (Q1-Q3)	<b>12.0</b> (4.3) 11.7 (9.0-14.0)	<b>8.7</b> (3.4) 8.5 (6.2-9.7)

## TGT en PPP – valeurs normales

- FT 1pM – PPP Reagent LOW (lot 1309/01 exp 2015-09)

	N= 40 vol.sains (H.18-43 ans)	S monovette citrate <b>SANS CTI</b>	S monovette citrate <b>+ CTI 1.45 µM</b>
<b>Lag time</b> (min)	Moy.(ET) Médiane (Q1-Q3)	<b>7.4</b> (1.3) 7.7 (6.4-8.1)	<b>7.4</b> (1.9) 7.2 (5.9-8.6)
<b>ETP</b> (nmol*min)	Moy.(ET) Médiane (Q1-Q3)	<b>812</b> (192) 798 (714-943)	<b>515</b> (165) 505 (400-620)
<b>Peak</b> (nmol thrombin)	Moy.(ET) Médiane (Q1-Q3)	<b>87</b> (31) 81 (71-99)	<b>42</b> (15) 42 (31-51)
<b>Time to Peak</b> (min)	Moy.(ET) Médiane (Q1-Q3)	<b>12.4</b> (1.4) 12.3 (11.1-13.3)	<b>13.8</b> (2.3) 14.0 (11.8-14.9)
<b>Velocity index</b>	Moy.(ET) Médiane (Q1-Q3)	<b>18.6</b> (9.8) 16.0 (13.3-20.8)	<b>6.8</b> (3.0) 6.6 (4.6-8.4)