



Faculté de médecine

Année 2019/2020

N°

Thèse

Pour le

DOCTORAT EN MEDECINE

Diplôme d'État

par

Antoine MARCHAND

Né(e) le 21 Avril 1994 à Gien (45)

TITRE

Présentation du protocole TOPGUN - Sirolimus topique dans les malformations lymphatiques microkystiques linguales

Présentée et soutenue publiquement le **17 Décembre 2020** devant un jury composé de :

Président du Jury : Professeur Laurent MACHET, Dermatologie-Vénérologie, Faculté de Médecine – Tours

Membres du Jury :

Professeur Bruno GIRAudeau, Biophysique & mathématiques, PU, Faculté de Pharmacie – Tours

Professeur Mahtab SAMIMI, Dermatologie-Vénérologie, Faculté de Médecine – Tours

Docteur Agnès CAILLE, Biostatistiques, MCU-PH, Faculté de Médecine – Tours

Docteur Valérie GISSOT, Centre d'Investigation Clinique, PH, CHU – Tours

Directeur de thèse : Pr Annabel MARUANI, Dermatologie-Vénérologie, Faculté de Médecine – Tours

UNIVERSITE DE TOURS
FACULTE DE MEDECINE DE TOURS

DOYEN

Pr Patrice DIOT

VICE-DOYEN

Pr Henri MARRET

ASSESSEURS

Pr Denis ANGOULVANT, *Pédagogie*

Pr Mathias BUCHLER, *Relations internationales*

Pr Theodora BEJAN-ANGOULVANT, *Moyens – relations avec l'Université*

Pr Clarisse DIBAO-DINA, *Médecine générale*

Pr François MAILLOT, *Formation Médicale Continue*

Pr Patrick VOUREC'H, *Recherche*

RESPONSABLE ADMINISTRATIVE

Mme Fanny BOBLETER

DOYENS HONORAIRES

Pr Emile ARON (†) – 1962-1966

Directeur de l'Ecole de Médecine - 1947-1962

Pr Georges DESBUQUOIS (†) – 1966-1972

Pr André GOUAZE (†) – 1972-1994

Pr Jean-Claude ROLLAND – 1994-2004

Pr Dominique PERROTIN – 2004-2014

PROFESSEURS EMERITES

Pr Daniel ALISON

Pr Gilles BODY

Pr Jacques CHANDENIER

Pr Alain CHANTEPIE

Pr Philippe COLOMBAT

Pr Etienne DANQUECHIN-DORVAL

Pr Pascal DUMONT

Pr Dominique GOGA

Pr Gérard LORETTE

Pr Dominique PERROTIN

Pr Roland QUENTIN

PROFESSEURS HONORAIRES

P. ANTHONIOZ – P. ARBEILLE – A. AUDURIER – A. AUTRET – P. BAGROS – P. BARDOS – C. BARTHELEMY – J.L. BAULIEU – C. BERGER – JC. BESNARD – P. BEUTTER – C. BONNARD – P. BONNET – P. BOUGNOUX – P. BURDIN – L. CASTELLANI – B. CHARBONNIER – P. CHOUTET – T. CONSTANS – P. COSNAY – C. COUET – L. DE LA LANDE DE CALAN – J.P. FAUCHIER – F. FETISSOF – J. FUSCIARDI – P. GAILLARD – G. GINIES – A. GOUDEAU – J.L. GUILMOT – N. HUTEN – M. JAN – J.P. LAMAGNERE – F. LAMISSE – Y. LANSON – O. LE FLOCH – Y. LEBRANCHU – E. LECA – P. LECOMTE – AM. LEHR-DRYLEWICZ – E. LEMARIE – G. LEROY – M. MARCHAND – C. MAURAGE – C. MERCIER – J. MOLINE – C. MORAIN – J.P. MUH – J. MURAT – H. NIVET – L. POURCELOT – P. RAYNAUD – D. RICHARD-LENOBLE – A. ROBIER – J.C. ROLLAND – D. ROYERE – A. SAINDELLE – E. SALIBA – J.J. SANTINI – D. SAUVAGE – D. SIRINELLI – J. WEILL

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

ANDRES Christian.....	Biochimie et biologie moléculaire
ANGOULVANT Denis	Cardiologie
AUPART Michel.....	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
BABUTY Dominique	Cardiologie
BAKHOS David.....	Oto-rhino-laryngologie
BALLON Nicolas.....	Psychiatrie ; addictologie
BARILLOT Isabelle	Cancérologie ; radiothérapie
BARON Christophe	Immunologie
BEJAN-ANGOULVANT Théodora	Pharmacologie clinique
BERHOUE Julien.....	Chirurgie orthopédique et traumatologique
BERNARD Anne	Cardiologie
BERNARD Louis	Maladies infectieuses et maladies tropicales
BLANCHARD-LAUMONNIER Emmanuelle	Biologie cellulaire
BLASCO Hélène.....	Biochimie et biologie moléculaire
BONNET-BRILHAULT Frédérique	Physiologie
BOURGUIGNON Thierry	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
BRILHAULT Jean.....	Chirurgie orthopédique et traumatologique
BRUNEREAU Laurent.....	Radiologie et imagerie médicale
BRUYERE Franck.....	Urologie
BUCHLER Matthias.....	Néphrologie
CALAIS Gilles	Cancérologie, radiothérapie
CAMUS Vincent.....	Psychiatrie d'adultes
CORCIA Philippe.....	Neurologie
COTTIER Jean-Philippe	Radiologie et imagerie médicale
DE TOFFOL Bertrand.....	Neurologie
DEQUIN Pierre-François.....	Thérapeutique
DESOUBEAUX Guillaume.....	Parasitologie et mycologie
DESTRIEUX Christophe	Anatomie
DIOT Patrice.....	Pneumologie
DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague	Anatomie & cytologie pathologiques
DUCLUZEAU Pierre-Henri.....	Endocrinologie, diabétologie, et nutrition
EL HAGE Wissam.....	Psychiatrie adultes
EHRMANN Stephan	Médecine intensive – réanimation
FAUCHIER Laurent	Cardiologie
FAVARD Luc.....	Chirurgie orthopédique et traumatologique
FOUGERE Bertrand	Gériatrie
FOUQUET Bernard.....	Médecine physique et de réadaptation
FRANCOIS Patrick.....	Neurochirurgie
FROMONT-HANKARD Gaëlle	Anatomie & cytologie pathologiques
GAUDY-GRAFFIN Catherine.....	Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière
GOUPILLE Philippe	Rhumatologie
GRUEL Yves.....	Hématologie, transfusion
GUERIF Fabrice	Biologie et médecine du développement et de la reproduction
GUILLON Antoine.....	Médecine intensive – réanimation
GUYETANT Serge	Anatomie et cytologie pathologiques
GYAN Emmanuel.....	Hématologie, transfusion
HAILLOT Olivier.....	Urologie
HALIMI Jean-Michel.....	Thérapeutique
HANKARD Régis.....	Pédiatrie
HERAULT Olivier	Hématologie, transfusion
HERBRETEAU Denis	Radiologie et imagerie médicale
HOURIOUX Christophe.....	Biologie cellulaire
LABARTHE François	Pédiatrie
LAFFON Marc	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale, médecine d'urgence
LARDY Hubert.....	Chirurgie infantile
LARIBI Saïd.....	Médecine d'urgence
LARTIGUE Marie-Frédérique	Bactériologie-virologie
LAURE Boris	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
LECOMTE Thierry.....	Gastroentérologie, hépatologie
LESCANNE Emmanuel.....	Oto-rhino-laryngologie
LINASSIER Claude	Cancérologie, radiothérapie
MACHET Laurent	Dermato-vénéréologie
MAILLOT François	Médecine interne
MARCHAND-ADAM Sylvain	Pneumologie

MARRET Henri	Gynécologie-obstétrique
MARUANI Annabel	Dermatologie-vénéréologie
MEREGHETTI Laurent	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
MITANCHEZ Delphine	Pédiatrie
MORINIERE Sylvain	Oto-rhino-laryngologie
MOUSSATA Driffa	Gastro-entérologie
MULLEMAN Denis	Rhumatologie
ODENT Thierry	Chirurgie infantile
OUAÏSSI Mehdi	Chirurgie digestive
OULDAMER Lobna	Gynécologie-obstétrique
PAINTAUD Gilles	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
PATAT Frédéric	Biophysique et médecine nucléaire
PERROTIN Franck	Gynécologie-obstétrique
PISELLA Pierre-Jean	Ophtalmologie
PLANTIER Laurent	Physiologie
REMERAND Francis	Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence
ROINGEARD Philippe	Biologie cellulaire
ROSSET Philippe	Chirurgie orthopédique et traumatologique
RUSCH Emmanuel	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
SAINT-MARTIN Pauline	Médecine légale et droit de la santé
SALAME Ephrem	Chirurgie digestive
SAMIMI Mahtab	Dermatologie-vénéréologie
SANTIAGO-RIBEIRO Maria	Biophysique et médecine nucléaire
THOMAS-CASTELNAU Pierre	Pédiatrie
TOUTAIN Annick	Génétique
VAILLANT Loïc	Dermato-vénéréologie
VELUT Stéphane	Anatomie
VOURC'H Patrick	Biochimie et biologie moléculaire
WATIER Hervé	Immunologie
ZEMMOURA Ilyess	Neurochirurgie

PROFESSEUR DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE

DIBAO-DINA Clarisse
LEBEAU Jean-Pierre

PROFESSEURS ASSOCIES

MALLET Donatien Soins palliatifs
POTIER Alain Médecine Générale
ROBERT Jean Médecine Générale

PROFESSEUR CERTIFIE DU 2ND DEGRE

MC CARTHY Catherine Anglais

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

AUDEMARD-VERGER Alexandra Médecine interne
BARBIER Louise Chirurgie digestive
BINET Aurélien Chirurgie infantile
BRUNAUT Paul Psychiatrie d'adultes, addictologie
CAILLE Agnès Biostat., informatique médical et technologies de communication
CLEMENTY Nicolas Cardiologie
DENIS Frédéric Odontologie
DOMELIER Anne-Sophie Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière
DUFOUR Diane Biophysique et médecine nucléaire
ELKRIEF Laure Hépatologie – gastroentérologie
FAVRAIS Géraldine Pédiatrie
FOUQUET-BERGEMER Anne-Marie Anatomie et cytologie pathologiques
GATAULT Philippe Néphrologie
GOUILLEUX Valérie Immunologie
GUILLON-GRAMMATICO Leslie Epidémiologie, économie de la santé et prévention

Faculté de Médecine – 10, boulevard Tonnellé – CS 73223 – 37032 TOURS Cedex 1 – Tél : 02.47.36.66.00 – www.med.univ-tours.fr

3

HOARAU Cyrille	Immunologie
IVANES Fabrice	Physiologie
LE GUELLEC Chantal.....	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
LEFORT Bruno.....	Pédiatrie
LEGRAS Antoine.....	Chirurgie thoracique
LEMAIGNEN Adrien	Maladies infectieuses
MACHET Marie-Christine	Anatomie et cytologie pathologiques
MOREL Baptiste.....	Radiologie pédiatrique
PIVER Éric.....	Biochimie et biologie moléculaire
REROLLE Camille.....	Médecine légale
ROUMY Jérôme	Biophysique et médecine nucléaire
SAUTENET Bénédicte	Thérapeutique
TERNANT David.....	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
VUILLAUME-WINTER Marie-Laure.....	Génétique

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

AGUILLON-HERNANDEZ Nadia.....	Neurosciences
NICOGLOU Antonine	Philosophie – histoire des sciences et des techniques
PATIENT Romuald.....	Biologie cellulaire
RENOUX-JACQUET Cécile	Médecine Générale

MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIES

BARBEAU Ludivine.....	Médecine Générale
RUIZ Christophe.....	Médecine Générale
SAMKO Boris.....	Médecine Générale

CHERCHEURS INSERM - CNRS - INRA

BOUAKAZ Ayache	Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM 1253
CHALON Sylvie	Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM 1253
COURTY Yves	Chargé de Recherche CNRS – UMR INSERM 1100
DE ROCQUIGNY Hugues	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1259
ESCOFFRE Jean-Michel	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1253
GILOT Philippe.....	Chargé de Recherche INRA – UMR INRA 1282
GOUILLEUX Fabrice	Directeur de Recherche CNRS – UMR CNRS 7001
GOMOT Marie.....	Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 1253
HEUZE-VOURCH Nathalie.....	Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
KORKMAZ Brice.....	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
LAUMONNIER Frédéric	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1253
MAZURIER Frédéric.....	Directeur de Recherche INSERM – UMR CNRS 7001
MEUNIER Jean-Christophe	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1259
PAGET Christophe	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
RAOUL William	Chargé de Recherche INSERM – UMR CNRS 7001
SI TAHAR Mustapha	Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
WARDAK Claire.....	Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 1253

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

Pour l'Ecole d'Orthophonie

DELORE Claire	Orthophoniste
GOUIN Jean-Marie.....	Praticien Hospitalier

Pour l'Ecole d'Orthoptie

MAJZOUB Samuel.....	Praticien Hospitalier
---------------------	-----------------------

Pour l'Ethique Médicale

BIRMELE Béatrice.....	Praticien Hospitalier
-----------------------	-----------------------

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette Faculté,
de mes chers condisciples
et selon la tradition d'Hippocrate,
je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur
et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent,
et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail.

Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux
ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira
les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas
à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres,
je rendrai à leurs enfants
l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime
si je suis fidèle à mes promesses.
Que je sois couvert d'opprobre
et méprisé de mes confrères
si j'y manque.

REMERCIEMENTS

A ma directrice de thèse :

A Madame la Professeure Annabel MARUANI

Merci pour ton soutien, tes conseils avisés, ta grande rigueur intellectuelle et la bienveillance avec laquelle tu m'as encadré depuis mon premier semestre, sur ce travail puis sur d'autres. Merci également d'avoir pris la peine de me faire partager l'ensemble de tes domaines de compétence, pédiatrie, maladie de Verneuil et j'en passe ! Je te prie de trouver dans ce travail l'expression de mon admiration et de ma gratitude sincères.

Au président du jury :

A Monsieur le Professeur Laurent MACHET

Vous me faites l'honneur de présider ce jury. Merci pour votre disponibilité et vos grandes connaissances que vous partagez sans réserve, sans jamais perdre ce pragmatisme et ce sens de la mise en perspective qui vous caractérisent. Merci aussi de m'avoir transmis votre goût de l'oncologie dermatologique. Trouvez ici l'expression de mon plus profond respect et de ma gratitude.

Aux membres du jury :

A Monsieur le Professeur Bruno GIRAUDEAU

C'est un immense honneur pour moi de pouvoir te présenter ce travail. De notre première rencontre pendant mon externat jusqu'à ce jour, ta finesse intellectuelle et ta capacité à te poser les bonnes questions ont été et sont toujours pour moi une réelle source d'inspiration. Puisses-tu trouver ici l'expression de ma plus sincère admiration.

A Madame la Professeure Mahtab SAMIMI

Merci pour ton enthousiasme, tes connaissances et tes enseignements. Ta passion pour l'oncologie a en partie déteint sur moi. Trouve ici l'expression de mon plus grand respect.

A Madame le Docteur Agnès CAILLE

Je garde un excellent souvenir de ces six mois passés sous ton encadrement au CIC. Merci de m'avoir guidé sur le chemin des biostatistiques et des contenus pédagogiques avec confiance et exigence.

A Madame le Docteur Valérie GISSOT

Merci de me faire l'honneur de siéger à mon jury. Travailler et apprendre à tes côtés est extrêmement enrichissant et je garde pour moi un peu de ta rigueur et de ta passion pour la recherche clinique.

A l'équipe médicale du service de Dermatologie du CHU de Tours :

Au Dr Emmanuelle LE BIDRE : Merci pour ta grande pédagogie, ta patience et ta disponibilité, notamment dans l'encadrement des nouveaux internes.

Au Dr Gabriella GEORGESCOU : Merci pour tes enseignements et le partage de cas cliniques à Clocheville.

Au Pr Loïc VAILLANT, au Dr Valérie TAUVERON et au Dr Jean-Paul CLAUDEL : Merci pour vos enseignements au cours de ces années d'internat.

Aux Docteurs Hélène CORNILLIER et Margaux GARNIER : Merci pour votre accueil et votre encadrement bienveillant pendant ces deux semestres précoces passés au CHU.

A toute l'équipe paramédicale des CHU de Trousseau et de Clocheville, merci pour votre accueil chaleureux.

A l'équipe médicale du service de Médecine Interne du CHR D'Orléans :

Aux Docteurs Fatma BOUIBEDE, Hélène BENS, Alain DUCHÊNE, Marie CHILLES et Claire MERLOT : Merci pour votre bienveillance et vos enseignements. J'ai beaucoup appris à votre contact.

A l'équipe médicale du service d'Oncologie-Hématologie du CHR de Blois :

Au Docteur Olivier ARSENE : Merci pour ton accueil, ta gentillesse, ta confiance et ta passion contagieuse pour l'oncologie et tout particulièrement pour les fusions des gènes NTRK !

Au Docteur Elise DOUARD-TOURNET : Ce fut un plaisir de travailler à tes côtés. Merci pour ta gentillesse.

Au Docteur Abderrazak EL YAMANI : Merci de transmettre ton grand savoir en onco-hématologie avec tant de disponibilité et de bienveillance, et merci pour ces retours en voiture hilarants.

Aux Docteurs Olivia DOLLEANS et Sandrine GIRERD : Merci pour vos enseignements.

A toute l'équipe du CIC du CHU de Tours :

A Agnès, Elsa et Emilie, la team BIOSTAT-2, pour m'avoir embarqué dans une belle aventure pédagogique et biostatistique, qui m'a conduit des régressions linéaires à la liste intégrale des lauréats des IgNobels en statistiques, en passant par les biographies colorées des Pearson, Neyman et Fisher. Mention spéciale à Elsa pour le support continu sur R !

A mes collègues de bureau, Elie, Elody puis Tidiane, pour votre accueil chaleureux, votre disponibilité et votre compétence.

A Amandine, pour ces bons moments du DIU, y compris un fameux karaoké sur le chemin de Limoges à Châteauroux.

A Hélène, Mélanie, Amélie et Lysiane, pour ces moments passés en investigation, et la découverte de l'aspect pratique de la recherche clinique.

Et à tout le reste de l'équipe, Samia, Julie, Anne, Frédérique, Carine, Véronique, Amélie, pour votre accueil, votre gentillesse, votre sincère volonté de m'intégrer à toutes les activités de l'équipe, et vos talents culinaires aussi divers que complémentaires.

A l'équipe médicale du service d'Onco-Radiothérapie du CHR d'Orléans :

Au Docteur Thierry WACHTER, pour vos enseignements et votre grande rigueur.

Au Docteur Hélène TASTE-GEORGE, pour ton humour, ta vision et les jeudis yaourt, chanson française et fin du monde, qui ont d'ailleurs porté leurs fruits !

Au Docteur Mélanie FESNEAU, pour notre passion commune pour la chanson également et pour la douce et mélodieuse langue de Goethe.

Au Docteur Elise CHAMPEAUX-ORANGE, pour ta gentillesse, ton soutien et tes enseignements.

Au Docteur Rémy LELOUP, pour tes enseignements.

Aux Docteurs Annick LEGRAS, Charlotte SALMON-GANDONNIERE et à toute l'équipe de l'USC polyvalente de l'hôpital Bretonneau :

De l'externat à l'internat, merci pour vos nombreux enseignements et votre juste rigueur. J'ai beaucoup appris à vos côtés.

Table des matières

Introduction générale.....	15
Résumé en Français.....	19
Detailed Abstract.....	21
Résumé détaillé en Français.....	24
Liste des abréviations.....	28
Trial Protocol.....	30
A. Research Introduction.....	30
B. Methods: Participants, interventions, and outcomes	38
C. Methods: Assignment of interventions.....	46
D. Methods: Data collection, management, and analysis.....	47
E. Methods: Monitoring.....	51
F. Ethics and dissemination.....	53
G. Tables and figures.....	59
H. Appendix	64
Références bibliographiques	73
Conclusion générale	76

Introduction générale

Les malformations lymphatiques kystiques sont des anomalies vasculaires congénitales rares (prévalence < 0.1%)¹. Elles résultent d'un développement aberrant des vaisseaux lymphatiques pendant l'embryogénèse.

Il s'agit de malformations vasculaires de bas débit, pouvant être présentes de façon isolée, associées à d'autres malformations vasculaires (capillaires ou veineuses en particulier) au sein de malformations dites « complexes » ou faire partie de syndromes intégrant différentes anomalies (classification de l'ISSVA, 2014).^{2,3} Le diagnostic est fréquemment posé dans les premières années de vie.

Elles peuvent toucher n'importe quelle région anatomique, avec toutefois un tropisme particulier pour la région tête et cou (50% des malformations) et notamment la langue⁴, siège d'un réseau lymphatique très fourni.

Leur histoire naturelle est celle d'une aggravation lente au cours de la vie, avec des majorations brutales à l'occasion d'épisodes infectieux loco-régionaux, émaillée de poussées inflammatoires. Les complications des malformations lymphatiques sont diverses : saignements ponctuels, saignements réguliers compliqués d'anémie ferriprive, poussées douloureuses et inflammatoires pouvant induire une compression ou une infiltration d'organes nobles pouvant menacer le pronostic vital ou fonctionnel.

Ces enjeux sont particulièrement prégnants dans la sphère ORL, étant donné la possible mise en jeu des voies aéro-digestives supérieures et un retentissement fonctionnel potentiellement

majeur (déglutition, respiration, acquisition de la parole). Les enjeux esthétiques sont également notables dès le plus jeune âge.

On dénombre trois grands types de malformations lymphatiques kystiques : macrokystiques, microkystiques ou mixtes, ce qui conditionne, en plus de leur extension, les options thérapeutiques disponibles. Celles-ci reposent traditionnellement sur la résection chirurgicale, la destruction physique des lésions ou les techniques de radiologie interventionnelle (scléroses).

Les lésions macrokystiques sont constituées de plusieurs kystes de grands volumes (> 1 cm), souvent bien délimités, qui peuvent être accessibles à la sclérothérapie avec de bons résultats fonctionnels.

En revanche les lésions microkystiques ou mixtes comportent un contingent fait d'une multitude de petits kystes coalescents, aux limites floues, pouvant infiltrer les organes adjacents. Les options thérapeutiques reposent également sur la chirurgie et la radiologie interventionnelle, mais les résultats fonctionnels sont souvent inférieurs et les rechutes sont fréquentes. Des techniques de destruction par agents physiques (lasers, radiofréquences) peuvent également être utilisées, mais elles sont en général douloureuses et le plus souvent suspensives.

Des études physiopathologiques récentes ont montré, au sein de malformations lymphatiques, la présence de mutations génétiques post-zygotiques activatrices d'une voie de signalisation jouant un rôle majeur dans l'angiogenèse et dans la lymphangiogenèse : la voie PI3K-AKT-mTOR⁵.

La sérine-thréonine kinase mTOR (*mammalian target of rapamycin*) est un des effecteurs de la voie AKT. Une fois activée par phosphorylation, elle forme des complexes protéiques mTSC1 et mTSC2, qui ont eux-mêmes une activité kinase activatrice. Le complexe mTSC1 notamment gouverne le passage en phase S du cycle cellulaire et constitue donc un levier majeur de prolifération cellulaire.

Le premier inhibiteur de mTOR, la rapamycine ou sirolimus, a été découvert dans les années 1960 à partir d'échantillons de la bactérie tellurique *Streptomyces hygroscopicus*. Des dérivés semi-synthétiques dits *rapalogs* ont été développés par la suite.

Son action anti-proliférative, impactant particulièrement les lignées lymphocytaires, a valu au sirolimus sa première autorisation de mise sur le marché de la part de la FDA dans les années 1990 en prévention du rejet humoral post-transplantation rénale.

Les indications des inhibiteurs de mTOR ont été élargies par la suite du fait du caractère ubiquitaire de cette voie de signalisation, notamment en cancérologie. Ainsi, le sirolimus est également utilisé en traitement de la lymphangioléiomyomatose pulmonaire et une AMM existe pour l'évérolimus, un autre inhibiteur de mTOR, en association à une hormonothérapie dans le cancer du sein métastatique exprimant des récepteurs hormonaux.

Depuis 2011, date de la publication des 6 premiers cas⁶, l'utilisation des inhibiteurs de mTOR s'est développée en traitement de malformations vasculaires ou lymphatiques sévères et des essais thérapeutiques sont en cours. Le CHRU de Tours étant un centre de référence des maladies génétiques à expression cutanée (MAGEC) avec une expertise particulière dans les mosaïques génétiques cutanées et les anomalies vasculaires, il a assuré la coordination d'un protocole évaluant le sirolimus par voie générale dans les malformations lymphatiques

compliquées (protocole PERFORMUS⁷, financement appel d'offre DGOS — Programme Hospitalier de Recherche Clinique National en 2014). Ce protocole est terminé.

L'utilisation des inhibiteurs de mTOR sous forme topique sur la peau ou les muqueuses est de description récente et encore mal codifiée. On dénombre des séries de cas dans le psoriasis, le lichen plan buccal, le pemphigus vulgaire ou encore les angiofibromes de la sclérose tubéreuse de Bourneville. Il y a une grande hétérogénéité des formes galéniques dans leur concentration et leurs excipients d'une publication à l'autre. Concernant les muqueuses, l'utilisation de la solution buvable à 1mg/mL non diluée a été rapportée.

Récemment, l'efficacité du sirolimus par voie topique transcutanée a été rapportée pour des malformations lymphatiques microkystiques cutanées, avec une efficacité notable. Un protocole évaluant cette modalité thérapeutique a donc été élaboré dans notre centre (protocole TOPICAL⁸, financement appel d'offre DGOS — Programme Hospitalier de Recherche Clinique National en 2017). Les inclusions sont en cours.

En revanche, l'utilisation de sirolimus topique n'a pas encore été rapportée dans les malformations lymphatiques des muqueuses. Par analogie aux observations effectuées avec le sirolimus par voies systémique et topique cutanée, nous avons construit une étude pilote, dénommée TOPGUN — TOPical sirolimus in linGUal microkystic lymphatic malformation, afin d'évaluer l'utilisation de la solution orale de sirolimus à 1mg/mL en traitement topique des malformations lymphatiques microkystiques linguales.

Ce travail a été financé par l'Appel d'Offre Interne du CHRU de TOURS en 2018, et est présenté ci-après. Il fera l'objet d'une publication après complétion.

Résumé en Français

Rationnel :

Les malformations lymphatiques microkystiques linguales sont un sous-groupe de malformations vasculaires congénitales rares. Il s'agit d'amas de vésicules de contenu lymphatique ou hématique. Leur histoire naturelle est une majoration progressive et lente dans le temps. Le retentissement fonctionnel de ces malformations est souvent important, même pour des lésions de petite taille : douleur, gêne esthétique, exsudation, sialorrhée, saignements, épisodes de surinfection.

Actuellement, l'arsenal thérapeutique inclut l'exérèse chirurgicale (glossectomie partielle) et des méthodes interventionnelles (sclérothérapie, lasers, radiofréquences). Leurs résultats fonctionnels sont souvent insatisfaisants avec une morbidité parfois importante et des taux élevés de récurrence. L'abstention thérapeutique est une autre option.

Les malformations lymphatiques de grande taille ou invasives sont également éligibles à un traitement par sirolimus par voie orale. Il s'agit d'un inhibiteur de mTOR (*mammalian target of rapamycin*), traitement généralement utilisé en tant qu'immunosuppresseur en prévention du rejet post-transplantation rénale et ayant des propriétés anti-angiogéniques et anti-lymphangiogéniques. Son utilisation en tant que traitement topique sur la peau ou les muqueuses est documentée en dermatologie, avec un bon profil de tolérance et un passage systémique négligeable.

Hypothèses et objectifs :

Nous postulons que l'utilisation de sirolimus en application topique peut être un traitement efficace et bien toléré des malformations lymphatiques microkystiques linguales.

Méthodes :

Nous avons élaboré un protocole de recherche en utilisant un schéma méthodologique *stepped-wedge*, qui permet des mesures répétées et une randomisation de l'intervention, en garantissant l'administration du traitement à l'étude à tous les patients. Le critère principal de jugement est l'évaluation sur photographies par un comité d'adjudication, et les critères de jugement secondaires subjectifs sont adaptés à la population pédiatrique.

Discussion :

En cas de preuve d'efficacité et de sécurité, le sirolimus topique pourrait devenir un traitement de première intention des malformations lymphatiques microkystiques linguales.

Mots-clés : malformation lymphatique microkystique linguale, voie de signalisation mTOR, sirolimus, traitement topique

Detailed abstract

Background:

Lingual microcystic lymphatic malformations (LMLMs) are rare congenital vascular malformations presenting as clusters of cysts filled with lymph fluid or blood. Even with small well-limited lesions, they are responsible for a heavy burden because of oozing, bleeding, infections, or even speech, chewing or breathing impairment. Pain and aesthetic prejudice are also frequently reported. The natural history of LMLMs is progressive worsening punctuated by acute flares such as infections. Therapeutic options include surgery, sclerotherapy, laser excision and radiofrequency ablation but all are potentially detrimental, sometimes painful and expose to local relapse. Therefore, the management requires multidisciplinary care in specialised centres, with the “wait-and-see” approach frequently used. In complicated LMLMs, whatever the location, treatment with oral sirolimus, a mammalian target of rapamycin (mTOR) inhibitor, is often used. Sirolimus is currently FDA-approved as an immune suppressor for preventing graft rejection in renal transplantation but also has angiogenesis- and lymphangiogenesis-inhibiting properties. However, despite its overall good tolerance profile, even in children, known side effects tend to limit its indications to the most severe lesions. Topical applications of sirolimus on the buccal mucosae have been reported in erosive lichen planus and oral pemphigus vulgaris with good tolerance and none to slight detectable blood sirolimus concentrations. We hypothesize that topical sirolimus could be efficient for LMLMs of the tongue.

Objective:

Here we aim to evaluate the efficacy and safety of a 1-mg/mL sirolimus solution applied once daily on the lingual LMLM of any stage in children older than 5 years and adults after 4, 8, 12, 16, 20 and 24 weeks of treatment compared to usual care (no treatment).

Methods:

This is a randomized, multicentric pilot study using an individually randomized stepped-wedge design over 24 weeks to evaluate topical application of 1 mg/mL sirolimus solution 0.5 to 1 mL according to the size of the lesion, once daily, on LMLM, versus usual care (no treatment), the control condition. In this design, participants are included in a cohort and, at a randomized time (week 0, 4, 8 or 12), they switch from an observational period to interventional period. Visits occur every 4 weeks, either in the study centre or by teleconsulting, following a specific timeline for each step. The primary outcome will be the evaluation of global severity of the LMLM seen on monthly standardized photographs by 3 independent blinded experts using the physical global assessment (PGA) 0 to 5 score. A 1-point improvement versus baseline in PGA score would already have clinical relevance. Secondary outcomes will include lesion size measurement and quality of life assessment at baseline, treatment introduction visit and week 24. Global disease severity will be assessed by both the investigator and participant at each visit. The patient will report specific symptoms (oozing, bleeding, sialorrhea, eating impairment, taste modification, aesthetic impairment, pain, and global discomfort), at each visit by using numeric scales. Adverse events will be recorded at each visit and with a patient diary, and a biological monitoring will be performed after treatment introduction, including residual blood sirolimus concentration and usual laboratory parameters.

Discussion:

Given the disappointing state of current treatment options in LMLMs, topical sirolimus could become first-line therapy in treating LMLMs if its efficacy and safety were to be demonstrated. Topical sirolimus would be a suspensive treatment, that could be repeated at each recurrence. Although small, our pilot study is designed to yield good quality evidence to support a subsequent larger confirmation trial.

Key words: lingual microcystic lymphatic malformation, mTOR pathway, sirolimus, topical treatment regimen.

Trial registration: Clinicaltrials.gov NCT04128722

Résumé détaillé en Français

Rationnel :

Les malformations lymphatiques microkystiques linguales (MLML) sont un sous-groupe de malformations vasculaires congénitales telles que définies dans la classification de l'*International Society for the Study of Vascular Anomalies* (ISSVA) en 2014. Il s'agit d'amas de vésicules de contenu lymphatique ou hématique, plus ou moins kératosiques. Le site d'atteinte préférentiel est la zone médio-linguale et la lésion peut rester superficielle ou envahir en profondeur le muscle lingual et les structures adjacentes. Une classification des MLML selon leur extension en profondeur a été proposée. Leur histoire naturelle est une majoration progressive de la lésion, notamment à l'occasion d'épisodes infectieux ORL, émaillée d'épisodes inflammatoires aigus. Le retentissement fonctionnel de ces malformations est souvent important, même pour des lésions de petite taille ou superficielles : douleur, gêne esthétique, exsudation, sialorrhée, saignements, anémie ferriprive, douleurs.

A l'heure actuelle, l'arsenal thérapeutique des MLML comprend principalement des méthodes physiques : ablation chirurgicale (glossectomie partielle), sclérothérapie, destruction par laser ou radiofréquences. Toutes ces thérapeutiques sont grevées par des résultats fonctionnels souvent insatisfaisants avec une morbidité parfois importante, et un taux de récurrence important. De ce fait, la décision thérapeutique doit être prise en concertation, au sein d'équipes pluridisciplinaires expérimentées et la surveillance active est une option fréquemment retenue.

Les MLML de grande taille ou invasives sont également éligibles à un traitement par sirolimus par voie systémique. Il s'agit d'un inhibiteur direct de mTOR (*mammalian target of*

rapamycin) immunosuppresseur ayant une AMM dans la prévention du rejet post-transplantation rénale. Cette molécule a également des propriétés anti-angiogéniques et anti-lymphangiogéniques connues. Cependant, ses effets indésirables potentiels (aphtose, asthénie, troubles digestifs, céphalées, cytopénies, troubles digestifs, réactions d'hypersensibilité, perturbations du bilan lipidique et hépatique, etc.) limitent son utilisation aux cas les plus sévères.

L'utilisation du sirolimus en tant que traitement topique sur la peau ou les muqueuses est documentée en dermatologie, notamment comme traitement local de l'atteinte buccale dans le pemphigus ou le lichen plan érosif. L'efficacité rapportée est variable mais la tolérance générale est bonne, avec un passage systémique quasi-nul.

Objectif :

Évaluer l'efficacité et la sécurité de l'application locale, une fois par jour, d'une solution de sirolimus à 1mg/mL en traitement de la composante linguale antérieure de malformations lymphatiques microkystiques linguales de tous stades après 4, 8, 12, 16, 20 et 24 semaines de traitement, comparativement au traitement habituel (abstention thérapeutique), chez l'enfant de plus de 5 ans ou l'adulte.

Méthodes :

Il s'agit d'une étude pilote, randomisée, multicentrique, bâtie selon un schéma « *stepped wedge* » randomisé individuellement. Le but est de comparer une intervention (application locale, une fois par jour, d'une solution de sirolimus à 1mg/mL sur la composante linguale antérieure de MLML), à l'abstention thérapeutique, prise en charge habituelle. L'investigateur et le patient connaissent l'allocation du traitement (étude « ouverte »).

La période de suivi couvre 24 semaines. La randomisation porte sur la date à laquelle le patient passe de la période d'observation au traitement expérimental : 0, 4, 8 ou 12 semaines.

Les visites auront lieu toutes les quatre semaines, avec une alternance de visites sur centre ou par téléconsultation, selon un planning préalable différent pour chacun des quatre groupes.

Le critère de jugement principal est l'évaluation de la sévérité globale de la lésion toutes les quatre semaines par le score PGA, sur photographies standardisées. Afin de maintenir l'aveugle de l'évaluateur du critère de jugement principal, celui-ci sera évalué par un comité d'adjudication.

Les critères de jugement secondaires comporteront une mesure clinique des lésions et une évaluation de la qualité de vie, qui seront recueillies à l'inclusion, à la date de l'introduction du traitement et à la fin de l'étude. De plus, l'évaluation globale de la lésion par le patient et l'investigateur et l'évaluation de symptômes particuliers (suintement, saignement, sialorrhée, gêne à l'alimentation, modification du goût, gêne esthétique, douleur, gêne globale) par le patient seront réalisés à chaque visite.

Les événements indésirables cliniques seront recueillis, et une surveillance biologique avec un monitoring des concentrations résiduelles de sirolimus sera effectué à intervalles réguliers après l'introduction du traitement (4 et 8 semaines après l'introduction du traitement puis toutes les 8 semaines).

Discussion :

Les retombées pour le patient atteint de MLML impliquent la possibilité d'un traitement local bien toléré, d'utilisation intermittente, à la place d'actes invasifs.

Le sirolimus en application topique pourrait ainsi devenir un traitement de première intention des MLML si son efficacité et sa sécurité sont démontrées.

Un essai randomisé de plus grande ampleur sera envisageable si cette étude pilote donne des résultats encourageants.

Mots-clés : malformation lymphatique microkystique linguale, voie de signalisation mTOR, sirolimus, traitement topique

Liste des abréviations

AKT	Protein kinase B
ALAT	Alanine AminoTransferase
ANSM	Agence Nationale de la Sûreté du Médicament
ASAT	Aspartate Aminotransferase
CIC-P	Centre d'Investigation Clinique – Polyvalent
CPP	Comité de Protection des Personnes
cDLQI	Children's Dermatologic Life Quality Index
DLQI	Dermatologic Life Quality Index
DSMB	Data Safety Monitoring Board
eCRF	Electronic Case Report Form
FDA	Food and Drugs Administration
GGT	γ -Glutamyl Transferase
INSERM	Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale
ISSVA	International Society for the Study of Vascular Anomalies
LM	Lymphatic Malformation
LMLM	Lingual Microcystic Lymphatic Malformation
ML	Malformation Lymphatique
MLML	Malformation Lymphatique Microkystique Linguale
mTOR	Mammalian Target Of Rapamycin
PI3k	Phosphoinositide 3-kinase

PGA	Physician's Global Assessment
SOP	Standardized Operating Procedures
SUSAR	Suspected Unexpected Serious Adverse Reaction
VEGF(R)	Vascular Endothelial Growth Factor (Receptor)

Trial Protocol

A. Research Introduction

1. Background and Rationale

Lingual microcystic lymphatic malformations:

Lymphatic malformations (LMs) are rare congenital anomalies (estimated prevalence < 0.1%)¹. They belong to the wider group of vascular malformations, according to the International Society for the Study of Vascular Anomalies (ISSVA) 2014 classification^{2,3}, as part of low-flow vascular malformations. They can be isolated or associated with other anomalies or birth defects such as Proteus syndrome (progressive overgrowth of the skeleton, skin, adipose, and central nervous systems) or CLAPO syndrome (capillary malformation of the lower lip, LM of the face and neck, asymmetry of face and limbs, and partial or generalized overgrowth involving one or more body segments).

LMs present as clusters of cysts filled with translucent fluid or blood that can be macrocystic, microcystic or mixed type. Any part of the skin or mucosae can be involved, with or without involvement of the underlying deep structures. The threshold between macro- and microcystic LMs is often set at 1 cm but also depends on the ability to perform sclerotherapy on a large enough lesion (then considered macrocystic) or not. Macrocystic LMs tend to be well-defined lesions, whereas microcystic or mixed LMs are more loosely delimited, infiltrative lesions⁴.

At least 50% of LMs can be found in the head and neck area⁴. In 1995, De Serres et al.⁹ proposed an anatomic classification for head and neck LMs, correlated with disease severity

and relapse prognosis after surgery. They distinguished easier-to-treat lateralised infrahyoid malformations from other suprahyoid medial LMs, for which complete relapse-free surgical excision is more difficult. However, in the head-and-neck subunit, the buccal cavity is the most often involved, especially in medial microcystic LMs of the tongue^{10,11}. All medial microcystic LMs are classified as stage III according to de Serres et al. despite their very heterogenous clinical severity and presentations. Addressing this matter, Wiegand et al.¹¹ proposed a new specific classification for lingual microcystic LMs (LMLMs), discriminating superficial lesions (stage I) and deeply infiltrative (stage IV) extensive LMs with global oropharyngeal involvement.

Specifically, patients with LMLMs, even small well-limited lesions, often experience a heavy burden because of oozing, spontaneous bleeding, infections, or even speech, chewing or breathing impairment. An important aesthetic prejudice is also frequently reported^{12,13}. The disease's natural history features progressive worsening, often punctuated by acute flares such as infections, bleeding, or acute swelling, sometimes secondary to lymphatic drainage-stimulating conditions such as trauma or ear-nose-throat regional infections¹³.

Current therapeutic options are still limited and mostly rely on surgery or local interventional procedures. Although sclerotherapy may yield good results in macrocystic LMs, where large well-delimited cysts, this standard treatment option remains disappointing in more ill-defined infiltrative microcystic LMs, with high rates of post-surgical relapse or deep-structure iatrogenic lesions¹⁴⁻¹⁶.

Complete surgical resection is rarely achievable in the oral cavity and can be tied to significant post-operative complications, such as post-operative oedema, post-operative

infections, delayed healing or facial nerve palsies in deep infiltrative oral LMs¹⁴. Multiple partial resections may achieve functional improvement while minimising drawbacks.

Other interventional techniques reported include CO₂-laser excision or radiofrequency ablation, most often for superficial LMs or as combination therapy after surgery for larger LMs. However, they often lead to reduced symptoms but only very rarely achieve permanent curative results and may induce deeper tissue scarring that might hamper secondary function-preserving surgery¹¹.

Thus, LMLM management remains challenging, and treatment initiation must be carefully evaluated by experienced multidisciplinary teams. A conservative management (“wait-and-see” approach) is frequently chosen. Iterative courses of antibiotics and steroids are started in response to acute flares or infections, with the caveat that infection-induced LMLM growth may render secondary ablation difficult.

Pathophysiological advances: the mTOR pathway:

The mammalian target of rapamycin (mTOR) is an intracellular kinase downstream from the PI3K-AKT pathway. When activated by the effect of the PI3K-AKT complex, it binds with other intracellular proteins, forming serine-threonine kinase mTOR complexes 1 and 2, which are involved in cell growth and apoptosis via protein synthesis and cell-cycle regulation¹⁷.

The PI3K-AKT-mTOR pathway is heavily involved during angiogenesis and lymphangiogenesis¹⁸. Specifically, during lymphangiogenesis, the PI3K-AKT-mTOR pathway plays the role of an effector to vascular endothelial growth factor 3 (VEGFR3) together with the RAS/ERK pathway.

Known mutations in the PI3K-AKT-mTOR pathway have been discovered in syndromic conditions that feature a lymphatic system disorder, such as Proteus syndrome or some syndromes tied to the Pi3K-related overgrowth spectrum (CLOVES syndrome or Klippel-Trenaunay syndrome). More recently, post-zygotic activating mutations of PIK3CA were identified in cells from non-syndromic LMs^{5,19,20}. These cells displayed a constitutionally activated PI3K-AKT pathway and high VEGF expression⁵.

Sirolimus is a macrolide-related antibiotic derived from *Streptomyces hygroscopicus*²¹, which was isolated from Easter Island soil samples in 1965. In mammalian cells, sirolimus forms a complex with the FK506 binding protein (FKBP12) that inhibits mTOR complexes 1 and 2²², with higher affinity for mTOR1. It prevents the cell from moving from the G1 to S phase, hence preventing cellular growth and leading to apoptosis. Although it binds the same FKBP12 protein as tacrolimus (or FK506), it yields different results, with no effect on calcineurin signalling.

Sirolimus first received US Food and Drug Administration approval as an alternative to calcineurin-inhibiting agents for preventing chronic allograft rejection in renal transplant recipients in 1999. In vitro, applying sirolimus to rat pancreas cancer-derived cells reduced VEGF-C expression and inhibited lymphangiogenesis; similar results were found in mice inoculated with the cells¹⁸. Similarly, sirolimus-treated cells from LMs showed inhibited growth¹⁹, whether cultivated from syndromic (Proteus syndrome) or isolated LMs.

The first oral sirolimus administration as a compassionate treatment in refractory LMs was reported in 2008 in a 9-month-old boy²³ with multiorgan failure due to Proteus syndrome. Sirolimus shrank all proliferative lesions, including lymphatic overgrowth. Since then,

sirolimus has been applied in different vascular anomalies, including^{13,24}, with 2 RCTs of LMs currently under way (NCT00975819, Adams, United States [active] and NCT02509468, Maruani, France [completed])²⁵.

However, despite an overall good safety profile (absent or mild side effects in 2 of 3 patients with vascular anomalies, including children), significant dermatologic (oral mucositis), hepatic (elevated liver enzymes, hepatitis) or haematologic side effects may occur. Grade III or IV drug-induced cytopenia is reported in up to 27% of treated patients, with some severe infectious complications reported^{13,24}.

Hence, close clinical and biological follow-up is required, with sirolimus blood concentration monitoring. Treatment indications tend to be limited to the most severe lesions (i.e., extensive deep infiltration, aerodigestive airway involvement).

Topical sirolimus on skin and mucosae:

The first topical use of sirolimus was reported in a 2005 pilot study involving 24 patients with plaque psoriasis²⁶. It has also been tried in multiple inflammatory or vascular-based skin and mucosae diseases such as oral erosive lichen planus²⁷, oral pemphigus vulgaris²⁸, port-wine stains or tuberous sclerosis-induced facial angiofibromas^{29,30,31}.

There are few case reports describing sirolimus use in cutaneous microcystic LMs.

Partial remission with good functional result was achieved with a 0.08% sirolimus lotion in a 20-year-old patient with scrotal and penile microcystic LM³² and with a sirolimus cream in 2 patients with microcystic LMs in buttocks³³. The authors described both significant LM

shrinking and a sharp reduction in the frequency of acute bleeding, swelling or infectious episodes. These results may imply a sizeable effect on the quality of life of LM patients. Ivars et al. reported a persisting effect at 2 months after discontinuing daily topical sirolimus application³². Blood sirolimus concentrations were not assessed in these 3 patients.

Mucosal topical sirolimus treatment has been reported in some inflammatory conditions. Undiluted commercial oral sirolimus solution (Rapamune®, Pfizer) had moderate effect in seven females with oral and/or genital lichen planus²⁷. The tolerance was overall good, with only one treatment interruption due to local irritation. Blood sirolimus levels were monitored, with a peak sirolimus concentration of 1.5 ng/mL, well below usual therapeutic concentrations of 4 to 12 ng/mL, in only one patient with both oral and genital involvement, 2 hr after treatment.

In 3 patients with oral pemphigus vulgaris, no significant effect was found after treatment with the undiluted oral solution as a daily mouthwash. Blood sirolimus concentration was monitored in only one patient and was below the detection threshold after an 8-day course²⁸.

Nudelmann et al.³⁴ performed more extensive studies of oral sirolimus as a 0.05% mouthwash; 10 mL of a 0.05% ethanol-diluted sirolimus mouthwash was administered once in 10 healthy volunteers. Patients had to mouthwash continuously for 2 min, then spit and not swallow and refrain from eating or drinking for 60 min after the administration. Therapeutic sirolimus concentrations were detected in saliva up to 4 hr after mouth washing, and peak blood sirolimus concentrations were from 0.2 to 1 ng/mL at 1 hr after a single rinse with sirolimus mouthwash. No immediate side effects were reported, and no significant

change was reported between an oral cavity examination performed by an oral medicine specialist before and 24 hr after using the mouthwash.

2. Hypotheses and objectives

We hypothesize that the undiluted 1-mg/mL sirolimus oral solution as a daily topical treatment regimen may confer local LMLM improvement by reducing LMLM size and acute flares and symptom frequency. We expect non-significant blood concentrations, no general side effects, and no major local side effects.

Hence, we aim to perform a clinical trial (TOPical sirolimus in linGual microcystic lymphatic malformationN [TOPGUN]) to assess the efficacy and safety of a 1-mg/mL sirolimus solution applied once daily as a topical treatment for oral microcystic LMs with lingual involvement in children and adults compared to usual care (no treatment).

3. Trial design

TOPGUN is a randomized, open, multicenter pilot study with an individually randomized stepped-wedge design³⁵ over a 24-week period to evaluate the following:

- daily topical application of 1 mg/mL sirolimus solution 0.5 to 1 mL according to the size of the LMLM lesion, the experimental intervention, *versus*
- usual care (no treatment), the control condition

In this design, participants are included in a cohort in which treatment is introduced at a randomized timepoint. Included participants start the intervention in a staggered fashion over time. Randomization is balanced, so each participant has the same probability of starting the

intervention at a given step as any other participant over the entire study period. Four steps are planned for starting the intervention (i.e., Week 0 [W0], W4, W8 and W12). Hence, 3 participants will be randomly assigned to begin the intervention on W0, 3 on W4, 3 on W8 and 3 on W12.

All patients will undergo a visit (physical, “on-the-spot” visit or via secured phoning software or phone calls, according to the step-specific participant timeline), every 4 weeks until W24, when the intervention will be stopped. Assessments before starting the intervention will be compared to those after the introduction of the intervention.

The individually randomized stepped-wedge trial design is increasingly being used in clinical practice, often in rare diseases for which patient recruitment may be difficult. Because of this very rare disease, randomizing the first topical sirolimus-treated LMLM patients seemed important to obtain high-quality evidence before a hypothetical larger confirmation study.

Other advantages of the stepped-wedge approach include the following^{35,36}:

- Each patient is his own control, hence increasing trial power with a small patient count, while taking into account a possible persisting treatment effect (contrary to cross-over designs)
- Being able to evaluate the effect of the time of treatment introduction and treatment duration owing to the varying treatment courses from 12 to 24 weeks.
- Increasing trial acceptability in this rare disease. Indeed, during the study, participants need to comply with a significantly tighter clinical follow-up than during usual care and might be reluctant to apply for trial inclusion if they believe they will not receive

the experimental treatment, especially if they live far from the study centre. Resorting to phone calls instead of traditional face-to-face visits also aims to address this matter.

We could not use a placebo drug because of pharmaceutical stability issues. As a result, neither the patient nor the investigator is blinded to the treatment introduction timepoint. However, the main outcome will be assessed on photographs by an independent blinded adjudication committee.

B. Methods: Participants, interventions, and outcomes

1. Study setting

The study will involve 3 French hospital centres (University Hospital of Tours, Regional Hospital of Orléans and hospital Necker-Enfants maladies, Paris) that are currently involved in the treatment of vascular anomalies.

2. Eligibility criteria

a) Inclusion

Eligible patients will be at least 5 years old. They must have a diagnosis of LMLM of any stage (Wiegand 2009)¹¹, assessed by clinical examination, with or without an underlying syndromic malformation (e.g., Proteus or CLAPO syndrome). Deep infiltration must have been assessed by head-and-neck MRI before study enrolment.

We chose a 5-year age threshold because although LMLMs are often diagnosed before age 2 years, they might not be clinically relevant in very young children, given their natural history

of progressive worsening. Also, the topical administration that requires not swallowing the oral solution might be difficult in younger children with smaller oral cavities. Finally, in this study, we can use validated quality-of-life assessment instruments (Children's Dermatologic Life Quality Index [cDLQI]), which cannot be used for children under age 4 years³⁷.

b) Exclusion

Patients with any of the following conditions are not included in the study:

- lymphatic malformation that requires a continued background therapy (involving deep organs)
- secondary lymphatic malformations (e.g., radiotherapy-induced lymphangiectasia)
- immunosuppression (immunosuppressive disease or immunosuppressive treatment)
- ongoing neoplasia
- active chronic infectious disease (e.g., hepatitis B and C virus, HIV)
- Local necrosis
- Local fungal, viral (herpes simplex virus, varicella-zoster virus, etc.) or bacterial infection on the site of the LMLM (based on clinical examination)
- Previous treatment with systemic or topical mTOR inhibitors within 6 months before inclusion (oral sirolimus half-life is 60 hr in adults according to Summary of Product Characteristics for Rapamune®).
- Previous treatment with oral or topical steroids within 10 days before inclusion (half-life of corticosteroids is 12-36 hr)
- Known allergy to one of the components of the sirolimus solution
- Soybean or peanut allergy

- Pregnant or breastfeeding
- Female patients of child-bearing potential not using a reliable contraceptive method
- Concurrent involvement in another therapeutic trial

3. Intervention

a) Experimental condition

Drug characteristics

In this study, the treatment is the 1 mg/mL sirolimus oral solution (Rapamune®, Pfizer).

Administration

Treatment will be administered once daily. If the LMLM covers below an estimated $<4 \text{ cm}^2$ of target area, the treatment dose is 0.5 mL, once daily. If the LMLM covers above an estimated $\geq 4 \text{ cm}^2$ of target area, the treatment dose is 1 mL, once daily.

A total of 0.5 or 1 mL non-diluted sirolimus solution will be taken from the bottle by using the 1-use dosing syringe and applied on a standardised disposable applicator device (Appendix). Then the applicator device will be gently applied, only on the LMLM, until the solution is no longer oozing from the applicator device, for at least 10 sec. The patient must then not eat, drink, brush teeth, or use mouthwash for 1 hr.

Shell applicators and syringes are to be disposed of adequately. Rapamune® bottles must be brought at every dispensation visit to assess patient observance. Syringes must not be re-used.

b) Control condition

Patients during the control condition or control period (i.e., before crossing over to the experimental condition) will receive usual care for their LMLM, which is no treatment at this stage of the condition.

c) Intervention modification

The treatment will be started at a randomized timepoint (W0, W4, W8 or W12) and will be taken until W24 whatever the starting time.

In case of serious adverse reactions, including local necrosis or any systemic reaction, the intervention (topical sirolimus) will be stopped.

In case of local side effects, the intervention might be temporarily halted. If the patient, the sponsor and the investigator deem it appropriate, the intervention can be resumed, at full or half-dose. In case of relapse, the lowest bearable dose will be sought; otherwise, the treatment might be stopped.

If the lesion is totally removed before W24, the investigator could propose early withdrawal of the treatment. In this setting, follow-up would be according to the protocol until W24.

d) Intervention adherence monitoring

Participants (or together with their parents if they are < 18 years old) will be asked to keep a daily participant diary, recording information about adherence and safety data. They will be

asked to bring the diary at each study visit. At each on-site study visit, participants will be asked to provide all their used and unused study drug containers.

e) Concomitant care

Authorized concomitant care

In the event of an acute flare or local or generalized infection, antibiotics may be prescribed. Systemic steroid therapy may also be prescribed along with antibiotics, for up to 3 days.

Prohibited concomitant care

The following treatments are prohibited during the study:

- Topical immunosuppressive drugs or steroids applied on the target area
- Interventional procedures (sclerotherapy, laser, radiofrequency) or surgery of the target area
- Systemic steroids for more than 3 days, or immunosuppressive therapy, including systemic mTOR inhibitors

If any of the above is administered, then the investigator must be informed, and the intervention must be stopped. In any case, all assessments planned should be performed.

4. Outcomes

a) Primary outcome

The primary outcome will be the evaluation of global severity of the LMLM by 3 independent experts (i.e., adjudication committee, see appendix 12). To this end, the experts will compare the LMLM by using a 6-point physician's global assessment (PGA) scale. The PGA score ranges from 0 (clear) to 5 (severe).

Photographs will be taken at baseline and every 4 weeks up to W24 by using a standardized photograph protocol (3 photos: 2 front photos [distances 8-10 and 25-27 cm] and 1 side photo [distance 8-10 cm]). Patients (and their families if relevant) will be trained in the photograph protocol during the inclusion visit. During on-the-spot visits in the study centre, photographs will be taken by a trained research nurse or investigator. When at home, photographs will be taken by the patient themselves or their family members and sent to a secured email address. The quality of the photographs will be controlled immediately by the investigator, and the photograph protocol might be resumed until the quality is deemed satisfactory. Then, the photographs will be immediately anonymised.

The adjudication committee will be blinded to treatment allocation. They will quantify disease severity for each photograph by using the PGA scale.

There are no specific scores for LMLMs. The only existing score for head-and-neck lymphatic malformations is the Cologne Disease Score¹², but it focuses on disease induced morbidity, with no morphology-related item, and some of its items (feeding impairment, respiration impairment) may apply to more severe lesions we do not aim to investigate.

However, the PGA score is an easy-to-understand and widely used instrument in dermatology^{38,39}. We believe it relevant for this condition. The PGA score ranges from 0 (clear) to 5 (severe) A 1-point improvement versus baseline in PGA scale would already be of clinical relevance.

b) Secondary outcomes

Secondary outcomes will assess topical sirolimus efficacy and safety. They include investigator- and patient-reported outcomes, with an emphasis on quality of life and symptoms.

- Investigator-assessed PGA at weeks 0, 4, 8, 12, 16, 20 and 24
- Patient-assessed oozing, bleeding, sialorrhea, eating impairment, taste modification, aesthetic impairment, pain and global discomfort, each on a numeric scale from 0 to 10 (0, clear; 10, very severe), at weeks 0, 4, 8, 12, 16, 20 and 24
- Global evolution assessed by the patient from -10 to 10 (-10, severe worsening; 0, no change; 10, complete recovery), at weeks 4, 8, 12, 16, 20 and 24
- Quality of life assessment (cDLQI for patients 5 to 16 years or DLQI > 16 years), at baseline, treatment introduction visit and W24
- Measurement of the lesion (length, width, thickness) by the investigator, at baseline, treatment introduction visit and W24.

- Time to obtain optimal results (i.e., time from treatment introduction visit to time reaching the minimal PGA score)

Reported side effects with oral sirolimus treatment include fatigue, headache, oral mucositis, hypertension, dyslipidaemia, hyperglycaemia, cytopenia and infections [nadal2016]. Topical application of sirolimus in oral diseases has also been tied to local irritation and pain [Soria2009]. Hence, to account for these reported adverse effects, safety assessments will be both clinical and biological. The clinical surveillance will include the recording of clinical local and general side effects according to the daily completion of the patient follow-up diary, questions from the investigator at each visit and physical examination and blood pressure measurement at each on-the-spot visit. Biological follow-up will include residual sirolimus blood-level monitoring (after 4 weeks of treatment, then 8 weeks, then every 8 weeks until W24) and biological safety assessments at W8, W16 and W24 of exposure, compared to baseline. Although we do not expect an important systemic diffusion, the biological surveillance measurements will mimic those used in usual systemic sirolimus treatment monitoring: complete blood count, liver (ASAT, ALAT, GGT) and renal (serum creatinine) function, lipids [triglycerides and cholesterol (i.e., total cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol and low-density lipoprotein cholesterol estimated according to Friedewald's formula)] and glycaemia.

5. Participant timeline

The duration of participation is 24 weeks for each patient, whatever the step they are randomized in. The participant timeline encompasses general and step-specific schedules, which are described in Table 1 [page]

6. Sample size

We could not define a reasonable effect-size hypothesis because LMLM is a very rare disease, with currently no described pharmaceutical treatment for LMLM. Hence, we did not perform any sample size calculation.

7. Recruitment

Both children > 5 years old and adults are recruited alike in TOPGUN because LMLMs can be found at every age. The University hospital of Tours is a tertiary reference centre for cutaneous vascular anomaly care, which all investigators are involved in. We also reached out to other university hospital centres in the “Grand-Ouest” region in France and the Necker-Enfants Malades paediatric hospital, located in Paris (authorisation procedures are currently under way).

C. **Methods: Assignment of interventions**

1. Allocation

a) Sequence generation and allocation concealment mechanism

Time of cross-over to the intervention will be randomly assigned to the patient at W0, W4, W8 or W12 with a 1:1:1:1 ratio allocation as per a computer (SAS-based)-generated randomization schedule. Participants will be randomized by using Ennov Clinical, an online central randomization procedure. To ensure allocation concealment, randomization will not be possible until the participant has been recruited into the trial, especially with all selection criteria collected and met.

b) Implementation

The allocation sequence will be generated by a statistician not involved in the recruitment or follow-up of participants.

2. Blinding

We could not use a placebo drug because of pharmaceutical stability issues. Sirolimus oral solution is stable for < 30 days after opening. A recondition in unlabelled study bottles, which would be the *sine qua non* condition to consider a placebo drug, would have required very frequent treatment deliveries, which did not fit with our monthly stepped-wedge design and would have sharply increased study costs. As a result, neither the investigators nor participants will be blinded and there will be no placebo intervention. Both the patient and the investigator will be aware of his/her allocated time of cross-over to intervention. However, the adjudication committee, which will assess the primary outcome, will be blinded to treatment allocation by the use of standardised anonymised photographs.

D. **Methods: Data collection, management, and analysis**

1. Data collection methods

a) Assessment tools description and validation

LMLMs are a rare skin disease for which neither evaluation guidelines nor purposely developed evaluation instruments exist. The PGA scale is a tool widely used in dermatology. It represents a global evaluation of disease severity. We use a 6-point PGA scale: 0, clear; 1, almost clear; 2, mild; 3, moderate; 4, severe; 5, very severe. The PGA scale is widely used in

psoriasis but is also used in a wide array of skin diseases^{38,39} and as an easily obtainable global evaluation of disease severity is an interesting tool. The DLQI and cDLQI are widely used instruments to assess health-related quality of life in dermatology. The cDLQI is validated for children from age 4 years up to 16 years³⁶.

b) Data collection tool

Study staff with their own access right to the study database will enter/capture data from source documents corresponding to a participant into the protocol-specific electronic Case Report Form (eCRF). All information required by the protocol will be entered in the eCRF, and an explanation will be provided for each missing piece of information. The data must be collected as they are obtained and transcribed into these forms in a clear manner. If a correction is required for an eCRF, the time and date stamps track the person entering or updating eCRF data and create an electronic audit trail.

2. Data management

Data management will be performed by the INSERM CIC-P 1415. An eCRF will be developed by using the Ennov Clinical software. eCRF management will be performed in agreement with the INSERM CIC-P 1415 Standardized Operating Procedures (SOP). The Clinical Research Associate in charge of the study will be trained in the eCRF and will be in charge of the investigator training. Data will be entered in investigating centres via a secure web site, monitored by Clinical Research Associates and potential queries will be edited by data managers, in agreement with a prespecified data management plan.

Data will be reviewed before the database is locked. The database will be locked in agreement with the INSERM CIC-P 1415 SOPs, and data will be extracted in a SAS or other format according to statistical requirements.

3. Statistical methods

A detailed analysis plan will be *a priori* defined. SAS 9.4 and R 3.3.1 (or latest versions) will be used for analysis. The level of statistical significance will be set at 5%.

a) Main analysis

The primary outcome (PGA) will be treated as a continuous variable. For analysis, we will use the model described by Hooper et al³⁶. Analysis will rely on a mixed linear regression model with a random effect for participant. For each participant, we will include the 7 PGA measurements from W0 to W24 (assessed every 4 weeks).

The model will be as follows, denoting Y_{ijt} as the PGA for individual $i=1, \dots, n$ in sequence $j=1, \dots, T$ at time $t=0, \dots, T$ after randomization:

$$Y_{ijt} = \beta + \tau_t + A_{jt} + \eta_{ij} + \varepsilon_{ijt}$$

where $\eta_{ij} \sim N(0, \sigma_b^2)$ is the participant random effect; $\varepsilon_{ijt} \sim N(0, \sigma_w^2)$ is the random error; and η_{ij} and ε_{ijt} are all independent, and,

$$A_{jt} = \begin{cases} 0 & \text{if sequence } j \text{ is in the control condition at time } t \\ \alpha_k & \text{if sequence } j \text{ crosses to the intervention between times } t - k \text{ and } t - k + 1, k \geq 1 \end{cases}$$

The mean of PGA for an individual participant follows a trajectory with baseline β (mean PGA at baseline) and time effects τ_t , $t=0,\dots,6$ with $\tau_0 = 0$.

When the participant crosses over to topical sirolimus, additional effects of treatment will be estimated with α_1 additional treatment effect in the first 4-week period after crossing over, changing to $\alpha_2, \alpha_3, \dots, \alpha_6$, mean additional treatment effect at W8, W12, W16, W20 and W24 after the introduction of sirolimus respectively.

This trial has a 4-sequence design, and our primary treatment effect of interest will be α_3 , the mean difference in PGA at 12 weeks after the introduction of topical sirolimus. We will also estimate $\alpha_1, \alpha_2, \alpha_4, \alpha_5$ and α_6 , mean additional treatment effects at W4, W8, W16, W20 and W24, respectively, after the introduction of sirolimus.

Missing data will not be imputed for this analysis.

Individual trajectories of PGA will be plotted by using a spaghetti plot.

b) Complementary analysis

Secondary outcomes (global severity of disease and functional impairments) will be treated as continuous variables ranging from 0 to 10. We will use the same model as for the primary outcome.

Time to optimal results will be described with median and interquartile range. Safety data will be reported using descriptive analysis.

E. Methods: Monitoring

1. Data Monitoring

A clinical research technician will be responsible for logistics of the study, producing reports concerning its state of progress, ensuring eCRF completion and update (request for additional information, corrections, etc.), and reporting severe adverse events to the sponsor. The person will work in accordance with the SOP.

A Data Safety Monitoring Board (DSMB) will consist of 2 dermatologists and 1 pharmacologist. The DSMB is an advisory committee that discusses the benefit/risk ratio of the study and the implementation of a clinical trial with the sponsor and the coordinating investigator of the study. The board will be systematically questioned, at any time by the sponsor for each case of suspected unexpected serious adverse reaction (SUSAR), once a year, before sending the safety report to French Health Authorities and if data may change the benefit and risk ratio during the clinical trial.

At any time, the sponsor may refer to the DSMB to adjudicate whether an event is an SUSAR or a severe adverse event when it is difficult to analyse or if new data change the benefit and risk ratio during the clinical trial. The DSMB will analyse the transmitted data and may request additional information and will make recommendations about the future of the clinical trial (continuation, amendments, termination).

A clinical research associate appointed by the sponsor will regularly visit each study centre according to the monitoring plan depending on the frequency of inclusions and at the end of

the study. During these visits, informed consent, compliance with the study protocol, quality of the data collected in the eCRF will be reviewed.

2. Harms

All serious and non-serious events will be reported on the adverse event reporting form (initial or follow-up declaration), as thoroughly as possible, within the regulatory time limits for reporting. All adverse events will be monitored until they are completely resolved. The investigator will immediately notify the sponsor of any serious adverse event. SUSARs will be reported to Eudravigilance (European pharmacovigilance database), the French Health Authorities (ANSM), and the investigators.

3. Auditing

An audit may be performed at any time by people appointed by the sponsor who are independent of those responsible for the study. The audit aims to ensure the good quality of the study and that the law and regulations in force are being observed. The investigators agree to comply with the requirements of the sponsor and the relevant authority for an audit or an inspection of the study.

The audit can apply to all stages of the study, from development of the protocol to publication of the results and filing the data used or produced in the study.

F. Ethics and dissemination

1. Research ethics approval

The sponsor and the investigator or investigators undertake to conduct this study in compliance with French law in force (*Code de Santé Publique*), the recommendations of French and international Good Clinical Practices, the Helsinki Declaration (Ethical Principles for Medical Research involving Human Subjects), and the European regulations related to clinical research. The study will be conducted in accordance with this protocol. With the exclusion of emergency situations requiring specific therapeutic actions, the investigators undertake to observe the protocol in all respects.

This research is registered in the European EudraCT database in accordance with article L1121.15 of the French Public Health Act.

This protocol has been granted both ANSM (French Regulatory Authority) and CPP (*Comité de Protection des Personnes*, French Ethical Review Committee) approval.

2. Protocol amendments

Important protocol modifications will be submitted for approval to the institutional review board of the University Hospital of Tours and will be communicated to coinvestigators.

The protocol was amended on December 12, 2019. Inclusion criteria were modified to LMLM of any stage with lingual involvement, provided sirolimus is only applied on the anterior part of the tongue (before the vallate papillae). The exclusion criterion “previous use of systemic sirolimus in the last 12 months” was modified to “previous use of systemic sirolimus in the

last 6 months”, which is still well above a 7 half-life (i.e., 420 hr = 3 weeks) clearance threshold. The intervention was not modified. The aim of the amendment was to make screening easier in this very rare disease.

A second amendment is considered. It would add the Necker-Enfants-Malades Hospital as a study centre.

3. Consent or assent

The patient will be orally informed of the aim of the protocol and its procedures. Patients will also receive a written information document. The written and informed consent of the patient, if obtained, must be dated and signed both by the patient (or their parent or legal representatives), and the investigator before any further study intervention. Children ≥ 16 years old must also consent to use of their data. The patient will receive a copy of the signed written consent and information letter. The original Information Letter and Consent Form will be kept by the investigator (even if the patient moves to a new hospital during the study) in a safe place inaccessible to third parties. The consent form will be signed before any intervention needed for the study.

4. Confidentiality

In accordance with the legislative provisions in force (articles L.1121-3 and R.5121-13 of the French Public Health Code), people with direct access to source data will take all necessary precautions to ensure the confidentiality of information relating to the study intervention, research studies and people taking part in them, particularly in regard to their identity and the results obtained. During the study or when it is over, the information collected on the people

taking part in it and forwarded to the sponsor by the investigators (or any other specialized staff member involved) will be made anonymous. Under no circumstances must the uncoded names or addresses of the people concerned appear in it.

5. Access to data

The investigator will prepare and maintain adequate and accurate source documents designed to record all observations and other pertinent data for each participant of the study. The sponsor is responsible for obtaining the agreement of all the parties involved in the study in order to guarantee direct access in all the sites where the study is being conducted to source data, source documents and reports, so that he/she can control their quality and audit them.

6. Dissemination policy

Any written or oral communication of the results of the study will be previously agreed by the coordinating investigator and, if necessary, by the scientific committee constituted for the study. Publication of the main results will mention the sponsor and the funding source. We will follow the Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing, and Publication of Scholarly Work in Medical Journals (updated in December 2015) from the International Committee of Medical Journal Editors. All investigators who are not cited in the authorship will be listed as non-author contributors. In accordance with the law no. 2002-303 of March 4, 2002, participants will be informed, at their request, of the overall results of the study.

7. SPIRIT statement

This protocol has been written in accordance with the Standard Protocol Items:

Recommendations for Interventional Trials (SPIRIT) guidelines⁴⁰. The SPIRIT checklist is in appendix.

8. Discussion

This trial is the first and currently sole ongoing trial to our knowledge to investigate topical sirolimus in mucosal LM, namely LMLMs. LMLMs are a rare disease, and patients often carry a heavy symptomatic burden, even with smaller-sized malformations. In particular, even with mild superficial lesions, the aesthetic component might be of significant importance for young patients of school age.

There are currently no other therapeutic options for LMLMs than surgery or interventional procedures such as laser or radiofrequency ablation, which are all painful procedures that carry the risk of performing general anaesthesia in children and often yield incomplete results with a significant rate of local relapses. Moreover, surgery may be debilitating in the oral cavity in children, and laser or radiofrequency ablation, although showing temporary efficacy, may hinder further chances of complete surgical excision by inducing deep-tissue fibrosis¹¹.

Thus, there is an unmet need for an easily carriable medical treatment with few side effects. Such a treatment could be used as a first-intent monotherapy for smaller LMLMs or before a further planned surgical excision in the watchful-waiting approach to more severe LMs.

Sirolimus has already shown efficacy as a systemic therapy for LM and carries interesting promise as a cutaneous topical treatment. Despite its high molecular weight, 914.17 Da, which may hinder transcutaneous diffusion, relevant clinical results with varying formulations could be achieved, with concentrations ranging from 0.015% to 8%^{22,31}. From previous pharmacokinetic studies³⁴ and case series in oral inflammatory diseases^{27,28}, we believe that therapeutic-range local concentrations can be obtained with daily application of topical sirolimus on the tongue, with clinical improvement as a result, although such an intervention has yet to be reported in LM.

Given both the rarity of LMLM and the novelty of topical sirolimus, we planned the TOPGUN trial to assess the safety and efficacy of topical sirolimus in LMLMs. The trial qualifies as a pilot study given its innovative nature and the lack of sample size calculation^{41,42}.

Despite the low recruitment capacity, we wanted this trial to be able to produce good-quality, randomized evidence⁴³. The individually randomized stepped-wedge design allows for using the patient as their own control and to perform repeated outcome measurements to boost statistical power, even in the absence of data regarding a carry-over effect after treatment discontinuation.

Also, we ensured a significant emphasis on trial acceptability. Patients under watchful waiting in our tertiary centre usually undergo a once- or twice-a-year follow-up, and they may come from several dozens or hundreds of kilometres away. Hence, we designed a trial that minimizes on-the-spot study centre visits while maintaining both the required close clinical and biological surveillance and outcome assessor blinding (by resorting to an external

adjudication committee). Similarly, the stepped-wedge design allows every patient to benefit from the experimental treatment regimen.

Indeed, although safety data in the literature is reassuring, notably the very low sirolimus systemic passage, data on the exact setting of topical application in LMLMs are lacking. Safety procedures were then designed for a “worst-case scenario” of a total sirolimus systemic diffusion, which would amount to an oral 0.5- to 1-mg per day oral sirolimus regimen. We also gathered a DSMB in that respect.

In the end, if the TOPGUN trial demonstrates a relevant clinical benefit and a good safety record, it will be supported by good-quality evidence. It would pave the way for a larger confirmation study or a rapid change in first-line clinical practices in LMLMs.

G. Tables and figures

1. Study diagram

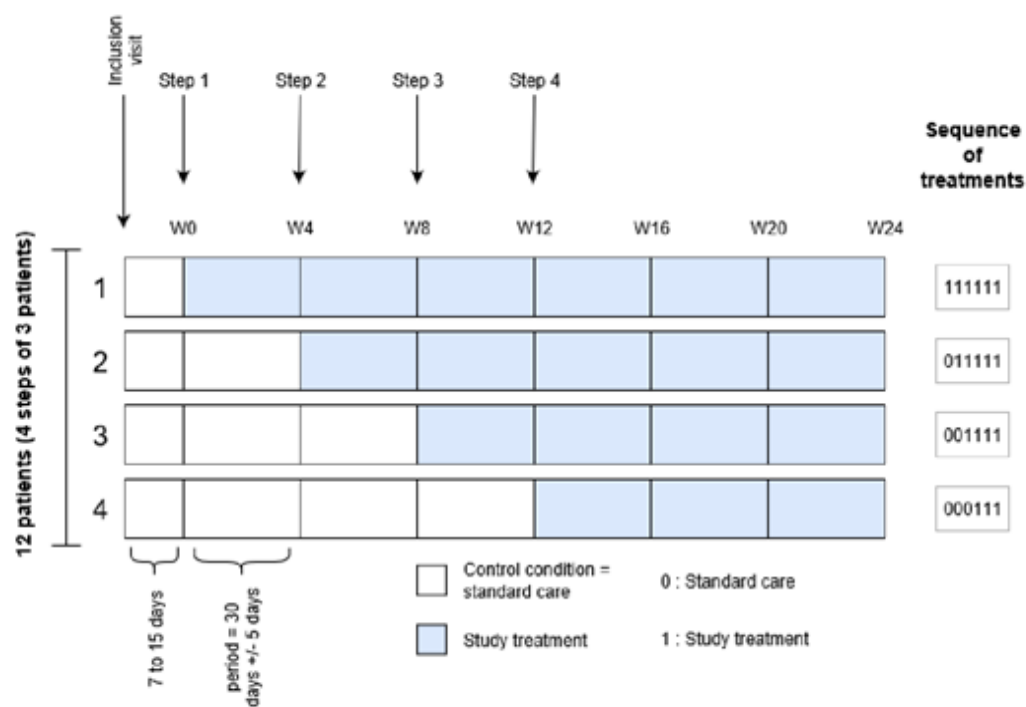


Figure 1: Study diagram

2. Participant Timeline

VISIT (TIMEPOINT)		STUDY PERIOD							
		Enrolment and inclusion visit	Follow-up visits						Close-out visit
		V0 (7 to 15 days prior to inclusion)	V1 (week 0)	V2 (week 4)	V3 (week 8)	V4 (week 12)	V5 (week 16)	V6 (week 20)	V7 (week 24)
ENROLMENT	Eligibility screening	X							
	Informed consent	X							
	Randomization	X							
INTERVENTIONS	Intervention								
	Virtual visit			X		X		X	
	Physical visit	X	X		X		X		X
ASSESSMENTS	Standardized photographs	X	X	X	X	X	X	X	X
	Physical examination + vital signs	X	X		X		X		X
	LMLM measurement (clinical)	X	X						X
	DLQI or cDLQI	X	X						X
	Investigator-assessed PGA	X	X	X	X	X	X	X	X
	Follow-up diary dispensation (+/- recovery)		X		X		X		
	Patient-evaluated, investigator administered numeric scales: global severity, pain, etc.	X	X	X	X	X	X	X	X
	Local side effects assessment		X	X	X	X	X	X	X
	Any adverse events assessment		X	X	X	X	X	X	X
	Residual sirolimus dosing			X	X		X		X
	Safety blood testing (CBC, LF, KF, glycaemia, lipids)	X			X		X		X
	Urinary pregnancy test*	X	X	X	X	X	X	X	X
	Drug dispensation**		8w		8w		8w		

* For women of childbearing potential, until 3 months after study close-up.

** Drug dispensation: 3 bottles for 8 weeks (8w) or 2 bottles for 4 weeks (4w)

		STUDY PERIOD							
		Enrolment and inclusion visit	Follow-up visits						Close-out visit
VISIT (TIMEPOINT)		V0 (7 to 15 days prior to inclusion)	V1 (week 0)	V2 (week 4)	V3 (week 8)	V4 (week 12)	V5 (week 16)	V6 (week 20)	V7 (week 24)
ENROLMENT	Eligibility screening	X							
	Informed consent	X							
	Randomization	X							
INTERVENTIONS	Intervention								
	Virtual visit		X		X		X		
	Physical visit	X		X		X		X	X
ASSESSMENTS	Standardized photographs	X	X	X	X	X	X	X	X
	Physical examination + vital signs	X		X		X		X	X
	LMLM measurement (clinical)	X		X					X
	DLQI or cDLQI	X		X					X
	Investigator-assessed PGA	X	X	X	X	X	X	X	X
	Follow-up diary dispensation (+/- recovery)			X		X		X	
	Patient-evaluated, investigator administered numeric scales: global severity, pain, etc.	X	X	X	X	X	X	X	X
	Local side effects assessment		X	X	X	X	X	X	X
	Any adverse events assessment		X	X	X	X	X	X	X
	Residual sirolimus dosing				X	X		X	X
	Safety blood testing (CBC, LF, KF, glycaemia, lipids)	X				X		X	X
	Urinary pregnancy test*	X	X	X	X	X	X	X	X
	Drug dispensation**			8w		8w		4w	

* For women of childbearing potential, until 3 months after study close-up.

** Drug dispensation: 3 bottles for 8 weeks (8w) or 2 bottles for 4 weeks (4w)

Step 3: Intervention begins on week 8		STUDY PERIOD							
		Enrolment and inclusion visit	Follow-up visits						Close-out visit
VISIT (TIMEPOINT)		V0 (7 to 15 days prior to inclusion)	V1 (week 0)	V2 (week 4)	V3 (week 8)	V4 (week 12)	V5 (week 16)	V6 (week 20)	V7 (week 24)
ENROLMENT	Eligibility screening	X							
	Informed consent	X							
	Randomization	X							
INTERVENTIONS	Intervention								
	Virtual visit		X	X		X		X	
	Physical visit	X			X		X		X
ASSESSMENTS	Standardized photographs	X	X	X	X	X	X	X	X
	Physical examination + vital signs	X			X		X		X
	LMLM measurement (clinical)	X			X				X
	DLQI or cDLQI	X			X				X
	Investigator-assessed PGA	X	X	X	X	X	X	X	X
	Follow-up diary dispensation (+/- recovery)				X		X		
	Patient-evaluated, investigator administered numeric scales: global severity, pain, etc.	X	X	X	X	X	X	X	X
	Local side effects assessment		X	X	X	X	X	X	X
	Any adverse events assessment		X	X	X	X	X	X	X
	Residual sirolimus dosing					X	X		X
	Safety blood testing (CBC, LF, KF, glycaemia, lipids)	X					X		X
	Urinary pregnancy test*	X	X	X	X	X	X	X	X
	Drug dispensation**				8w		8w		

* For women of childbearing potential, until 3 months after study close-up.

** Drug dispensation: 3 bottles for 8 weeks (8w) or 2 bottles for 4 weeks (4w)

Step 4: Intervention begins on week 12		STUDY PERIOD							
		Enrolment and inclusion visit	Follow-up visits						Close-out visit
VISIT (TIMEPOINT)		V0 (7 to 15 days prior to inclusion)	V1 (week 0)	V2 (week 4)	V3 (week 8)	V4 (week 12)	V5 (week 16)	V6 (week 20)	V7 (week 24)
ENROLMENT	Eligibility screening	X							
	Informed consent	X							
	Randomization	X							
INTERVENTIONS	Intervention								
	Virtual visit		X	X	X		X		
	Physical visit	X				X		X	X
ASSESSMENTS	Standardized photographs	X	X	X	X	X	X	X	X
	Physical examination + vital signs	X				X		X	X
	LMLM measurement (clinical)	X				X			X
	DLQI or cDLQI	X				X			X
	Investigator-assessed PGA	X	X	X	X	X	X	X	X
	Follow-up diary dispensation (+/- recovery)					X		X	
	Patient-evaluated, investigator administered numeric scales: global severity, pain, etc.	X	X	X	X	X	X	X	X
	Local side effects assessment		X	X	X	X	X	X	X
	Any adverse events assessment		X	X	X	X	X	X	X
	Residual sirolimus dosing						X	X	X
	Safety blood testing (CBC, LF, KF, glycaemia, lipids)	X						X	X
	Urinary pregnancy test*	X	X	X	X	X	X	X	X
	Drug dispensation**					8w		4w	

* For women of childbearing potential, until 3 months after study close-up.

** Drug dispensation: 3 bottles for 8 weeks (8w) or 2 bottles for 4 weeks (4w)

H. Appendix

1. Informed consent materials

ID EUDRACT: 2019-001530-33

V1.1-Adulte du 25/07/2019

**Formulaire de consentement de participation à une
Recherche interventionnelle sur la personne humaine :
Adultes participant à l'étude TOPGUN**

Le Dr/Pr..... (Service de, tél.....), médecin investigateur, m'a proposé de participer à une étude clinique organisée :

► par le CHRU de TOURS, 2, bd Tonnellé 37044 Tours cedex 9

► intitulée «Évaluation de l'efficacité et de la tolérance du sirolimus en application locale sur les malformations lymphatiques microkystiques de la langue : étude pilote chez l'adulte et l'enfant »

Je soussigné(e) Nom : Prénom :
Adresse :

Déclare avoir pris connaissance des informations orales et écrites (*lettre d'information*) qui m'ont été transmises pour une **participation à l'étude clinique TOPGUN « Évaluation de l'efficacité et de la tolérance du sirolimus en application locale sur les malformations lymphatiques microkystiques de la langue : étude pilote chez l'adulte et l'enfant »** organisée par le CHRU de Tours qui en est le Promoteur, autorisée par l'ANSM (24/05/2019) et le CPP Nord-Ouest-III (29/06/2019). J'ai reçu du médecin investigateur toutes les informations nécessaires concernant l'objectif de cette recherche, son déroulement ainsi que mes conditions de participation, mes droits, les bénéfices attendus, les contraintes et les risques prévisibles. J'ai pu poser toutes les questions que je voulais et j'ai reçu les réponses adaptées. J'ai bénéficié d'un temps de réflexion suffisant entre ces informations et le présent consentement. J'ai également compris que je pouvais refuser de participer à cette étude sans que cela ne porte préjudice à la suite de ma prise en charge. Compte tenu des informations qui m'ont été transmises,

- J'accepte librement et volontairement de participer à cette étude,

- J'accepte que les données enregistrées à l'occasion de cette étude puissent faire l'objet d'un traitement informatisé par le promoteur ou pour son compte dans les conditions prévues par la Loi Informatique et Libertés, Loi n° 2018-493 du 20 juin 2018 relative à la protection des données personnelles et du Règlement (UE) 2016/679 du Parlement européen et du Conseil du 27 avril 2016. J'ai été informé(e) de tous mes droits concernant mes données personnelles selon les modalités décrites dans la lettre d'information en vigueur,

- Je certifie être bénéficiaire d'un régime de sécurité sociale.

Conformément aux dispositions législatives et réglementaires en vigueur, le CHRU de Tours, promoteur de cette étude, a souscrit une assurance de responsabilité auprès de la compagnie *Newline Syndicat 1218 de la LLOYD'S (police N° B1339BAMMLS18FR-10-1)* afin de couvrir tout préjudice corporel ou toute incapacité que pourrait entraîner cette étude. J'ai été informé(e) de mon droit d'accès, de portabilité, de rectification, et de limitation des données me concernant auprès de l'investigateur ou du Promoteur, par l'intermédiaire du Délégué à la Protection des données du CHRU de Tours (dpo@chu-tours.fr). Nous pouvons également introduire une réclamation auprès d'une autorité de contrôle et de protection des données personnelles (CNIL pour la France)

Partie à remplir par le participant à l'étude	Partie à remplir par le médecin investigateur
Nom et Prénom : _____	Nom et Prénom : Dr/Pr _____
Date : ____ / ____ / ____ Signature : _____	Date : ____ / ____ / ____ Signature : _____

En trois exemplaires : original pour le médecin investigateur, un exemplaire pour les parents, et un exemplaire pour le promoteur

**Formulaire de consentement de participation à une
Recherche interventionnelle sur la personne humaine :
Parents de mineurs participant à l'étude TOPGUN**

Le Dr/Pr..... (Service de, tél.....), médecin investigateur, a proposé que notre enfant participe à une étude clinique organisée :

- par le CHRU de TOURS, 2, bd Tonnellé 37044 Tours cedex 9
► intitulée «Évaluation de l'efficacité et de la tolérance du sirolimus en application locale sur les malformations lymphatiques microkystiques de la langue : étude pilote chez l'adulte et l'enfant »

Parent (1) : Je soussigné(e),

Nom :

Prénom :

Adresse :

.....

.....

Parent (2) : Je soussigné(e),

Nom :

Prénom :

Adresse (à compléter si différente de (1)) :

.....

.....

Merci de cocher seulement si applicable : ☐ Certifie être le seul titulaire de l'exercice de l'autorité parentale

De l'enfant Nom : Prénom :

Né(e) le : ____ / ____ / ____

Déclarent avoir pris connaissance des informations orales et écrites (*lettres d'information*) qui nous ont été transmises pour une **participation de notre enfant à l'étude clinique TOPGUN « Évaluation de l'efficacité et de la tolérance du sirolimus en application locale sur les malformations lymphatiques microkystiques de la langue : étude pilote chez l'adulte et l'enfant »** organisée par le CHRU de Tours qui en est le Promoteur, autorisée par l'ANSM le 24/05/2019 et le CPP Nord-Ouest-III le 29/06/2019

Nous avons reçu du médecin investigateur qui suit notre enfant, toutes les informations nécessaires concernant l'objectif de cette recherche, son déroulement ainsi que les conditions de participation de notre enfant, nos droits, les bénéfices attendus, les contraintes et les risques prévisibles. Nous avons pu poser toutes les questions que nous voulions et nous avons reçu les réponses adaptées. Nous avons bénéficié d'un temps de réflexion suffisant entre ces informations et le présent consentement. Nous avons également compris que nous pouvions refuser que notre enfant participe à cette étude, sans que cela ne porte préjudice à la suite de sa prise en charge.

Compte tenu des informations qui nous ont été transmises,

- Nous acceptons librement et volontairement que notre enfant participe à cette étude,

- Nous acceptons que les données enregistrées à l'occasion de cette étude puissent faire l'objet d'un traitement informatisé par le promoteur, ou pour son compte, dans les conditions prévues par la Loi Informatique et Libertés, LOI n° 2018-493 du 20 juin 2018 relative à la protection des données personnelles et du Règlement (UE) 2016/679 du Parlement européen et du Conseil du 27 avril 2016. Nous avons été informés de tous nos droits, ainsi que des droits de notre enfant, concernant ces données personnelles selon les modalités décrites dans la lettre d'information en vigueur. Si notre enfant a quinze ans, ou plus, il a également le droit de s'opposer à ce que nous ayons accès ou soyons informés du traitement de ses données au cours de la recherche. Le mineur reçoit alors l'information et exerce seul ses droits. (Art.59 de la LOI n° 2018-493 du 20 juin 2018.)- Nous certifions que notre enfant est bénéficiaire d'un régime de sécurité sociale.

Conformément aux dispositions législatives et réglementaires en vigueur, le CHRU de Tours, promoteur de l'étude, a souscrit une assurance de responsabilité auprès de la compagnie *Newline Syndicat 1218 de la LLOYD'S (police N° B1339BAMMLS18FR-10-1)* afin de couvrir tout préjudice corporel ou toute incapacité que pourrait entraîner cette étude.

En trois exemplaires : original pour le médecin investigateur, un exemplaire pour les parents, et un exemplaire pour le promoteur

Nous avons été informés de notre droit d'accès, de portabilité, de rectification, et de limitation des données concernant notre enfant auprès de l'investigateur ou du Promoteur, par l'intermédiaire du Délégué à la Protection des données du CHRU de Tours (dpo@chu-tours.fr).

Nous pouvons également introduire une réclamation auprès d'une autorité de contrôle et de protection des données personnelles (CNIL pour la France).

Partie à remplir par les parents (ou titulaire de l'exercice de l'autorité parentale)	
Nom, Prénom :	Nom, Prénom :
Date : __ / __ / ____ Signature :	Date : __ / __ / ____ Signature :

Partie à remplir par le médecin investigateur
Nom, Prénom : Dr/Pr
Date : __ / __ / ____ Signature :
Merci de cocher seulement si applicable : ☐ Enfant dans l'incapacité de donner son consentement ci-dessus

En trois exemplaires : original pour le médecin investigateur, un exemplaire pour les parents, et un exemplaire pour le promoteur

**Formulaire de consentement de participation à une
Recherche interventionnelle sur la personne humaine :
Participants devenus majeurs en cours d'étude TOPGUN**

Le Dr/Pr..... (Service de, tél.....), médecin investigateur, m'a proposé de participer à une étude clinique organisée :

► par le CHRU de TOURS, 2, bd Tonnellé 37044 Tours cedex 9

► intitulée «Évaluation de l'efficacité et de la tolérance du sirolimus en application locale sur les malformations lymphatiques microkystiques de la langue : étude pilote chez l'adulte et l'enfant »

Je soussigné(e) Nom : **Prénom :**

Adresse :

Déclare avoir pris connaissance des informations orales et écrites (*lettre d'information*) qui m'ont été transmises **afin de confirmer ma participation à l'étude clinique TOPGUN « Évaluation de l'efficacité et de la tolérance du sirolimus en application locale sur les malformations lymphatiques microkystiques de la langue : étude pilote chez l'adulte et l'enfant »** organisée par le CHRU de Tours qui en est le Promoteur, autorisée par l'ANSM le 24/05/2019 et le CPP Nord-Ouest-III le 29/06/2019.

Je confirme avoir reçu du médecin investigateur toutes les informations nécessaires concernant l'objectif de cette recherche, son déroulement ainsi que mes conditions de participation, mes droits, les bénéfices attendus, les contraintes et les risques prévisibles. J'ai pu poser toutes les questions que je voulais et j'ai reçu les réponses adaptées. J'ai bénéficié d'un temps de réflexion suffisant entre ces informations et le présent consentement. J'ai également compris que je pouvais refuser de continuer de participer à cette étude sans que cela ne porte préjudice à la suite de ma prise en charge. Compte tenu des informations qui m'ont été transmises,

- J'accepte librement et volontairement de continuer de participer à cette étude,

- J'accepte que les données enregistrées à l'occasion de cette étude puissent faire l'objet d'un traitement informatisé par le promoteur ou pour son compte dans les conditions prévues par la Loi Informatique et Libertés, Loi n° 2018-493 du 20 juin 2018 relative à la protection des données personnelles et du Règlement (UE) 2016/679 du Parlement européen et du Conseil du 27 avril 2016. J'ai été informé(e) de tous mes droits concernant mes données personnelles selon les modalités décrites dans la lettre d'information en vigueur,

- Je certifie être bénéficiaire d'un régime de sécurité sociale.

Conformément aux dispositions législatives et réglementaires en vigueur, le CHRU de Tours, promoteur de cette étude, a souscrit une assurance de responsabilité auprès de la compagnie *Newline Syndicat 1218 de la LLOYD'S (police N°B1339BAMMLS18FR-10-1)* afin de couvrir tout préjudice corporel ou toute incapacité que pourrait entraîner cette étude.

J'ai été informé(e) de mon droit d'accès, de portabilité, de rectification, et de limitation des données me concernant auprès de l'investigateur ou du Promoteur, par l'intermédiaire du Délégué à la Protection des données du CHRU de Tours (dpo@chu-tours.fr). Nous pouvons également introduire une réclamation auprès d'une autorité de contrôle et de protection des données personnelles (CNIL pour la France)

Partie à remplir par le participant à l'étude	Partie à remplir par le médecin investigateur
Nom et Prénom : _____	Nom et Prénom : Dr/Pr _____
Date : ____ / ____ / ____ Signature :	Date : ____ / ____ / ____ Signature :

En trois exemplaires : original pour le médecin investigateur, un exemplaire pour les parents, et un exemplaire pour le promoteur

2. SPIRIT checklist (2013)



STANDARD PROTOCOL ITEMS: RECOMMENDATIONS FOR INTERVENTIONAL TRIALS

SPIRIT 2013 Checklist: Recommended items to address in a clinical trial protocol and related documents*

Section/item	Item No	Description
Administrative information		
Title	1	Descriptive title identifying the study design, population, interventions, and, if applicable, trial acronym
Trial registration	2a	Trial identifier and registry name. If not yet registered, name of intended registry
	2b	All items from the World Health Organization Trial Registration Data Set
Protocol version	3	Date and version identifier
Funding	4	Sources and types of financial, material, and other support
Roles and responsibilities	5a	Names, affiliations, and roles of protocol contributors
	5b	Name and contact information for the trial sponsor
	5c	Role of study sponsor and funders, if any, in study design; collection, management, analysis, and interpretation of data; writing of the report; and the decision to submit the report for publication, including whether they will have ultimate authority over any of these activities
	5d	Composition, roles, and responsibilities of the coordinating centre, steering committee, endpoint adjudication committee, data management team, and other individuals or groups overseeing the trial, if applicable (see Item 21a for data monitoring committee)
Introduction		
Background and rationale	6a	Description of research question and justification for undertaking the trial, including summary of relevant studies (published and unpublished) examining benefits and harms for each intervention
	6b	Explanation for choice of comparators
Objectives	7	Specific objectives or hypotheses

Trial design	8	Description of trial design including type of trial (eg, parallel group, crossover, factorial, single group), allocation ratio, and framework (eg, superiority, equivalence, noninferiority, exploratory)
--------------	---	---

Methods: Participants, interventions, and outcomes

Study setting	9	Description of study settings (eg, community clinic, academic hospital) and list of countries where data will be collected. Reference to where list of study sites can be obtained
Eligibility criteria	10	Inclusion and exclusion criteria for participants. If applicable, eligibility criteria for study centres and individuals who will perform the interventions (eg, surgeons, psychotherapists)
Interventions	11a	Interventions for each group with sufficient detail to allow replication, including how and when they will be administered
	11b	Criteria for discontinuing or modifying allocated interventions for a given trial participant (eg, drug dose change in response to harms, participant request, or improving/worsening disease)
	11c	Strategies to improve adherence to intervention protocols, and any procedures for monitoring adherence (eg, drug tablet return, laboratory tests)
	11d	Relevant concomitant care and interventions that are permitted or prohibited during the trial
Outcomes	12	Primary, secondary, and other outcomes, including the specific measurement variable (eg, systolic blood pressure), analysis metric (eg, change from baseline, final value, time to event), method of aggregation (eg, median, proportion), and time point for each outcome. Explanation of the clinical relevance of chosen efficacy and harm outcomes is strongly recommended
Participant timeline	13	Time schedule of enrolment, interventions (including any run-ins and washouts), assessments, and visits for participants. A schematic diagram is highly recommended (see Figure)
Sample size	14	Estimated number of participants needed to achieve study objectives and how it was determined, including clinical and statistical assumptions supporting any sample size calculations
Recruitment	15	Strategies for achieving adequate participant enrolment to reach target sample size

Methods: Assignment of interventions (for controlled trials)

Allocation:

Sequence generation	16a	Method of generating the allocation sequence (eg, computer-generated random numbers), and list of any factors for stratification. To reduce predictability of a random sequence, details of any planned restriction (eg, blocking) should be provided in a separate document that is unavailable to those who enrol participants or assign interventions
Allocation concealment mechanism	16b	Mechanism of implementing the allocation sequence (eg, central telephone; sequentially numbered, opaque, sealed envelopes), describing any steps to conceal the sequence until interventions are assigned
Implementation	16c	Who will generate the allocation sequence, who will enrol participants, and who will assign participants to interventions
Blinding (masking)	17a	Who will be blinded after assignment to interventions (eg, trial participants, care providers, outcome assessors, data analysts), and how
	17b	If blinded, circumstances under which unblinding is permissible, and procedure for revealing a participant's allocated intervention during the trial

Methods: Data collection, management, and analysis

Data collection methods	18a	Plans for assessment and collection of outcome, baseline, and other trial data, including any related processes to promote data quality (eg, duplicate measurements, training of assessors) and a description of study instruments (eg, questionnaires, laboratory tests) along with their reliability and validity, if known. Reference to where data collection forms can be found, if not in the protocol
	18b	Plans to promote participant retention and complete follow-up, including list of any outcome data to be collected for participants who discontinue or deviate from intervention protocols
Data management	19	Plans for data entry, coding, security, and storage, including any related processes to promote data quality (eg, double data entry; range checks for data values). Reference to where details of data management procedures can be found, if not in the protocol
Statistical methods	20a	Statistical methods for analysing primary and secondary outcomes. Reference to where other details of the statistical analysis plan can be found, if not in the protocol
	20b	Methods for any additional analyses (eg, subgroup and adjusted analyses)

- 20c Definition of analysis population relating to protocol non-adherence (eg, as randomised analysis), and any statistical methods to handle missing data (eg, multiple imputation)

Methods: Monitoring

- | | | |
|-----------------|-----|---|
| Data monitoring | 21a | Composition of data monitoring committee (DMC); summary of its role and reporting structure; statement of whether it is independent from the sponsor and competing interests; and reference to where further details about its charter can be found, if not in the protocol. Alternatively, an explanation of why a DMC is not needed |
| | 21b | Description of any interim analyses and stopping guidelines, including who will have access to these interim results and make the final decision to terminate the trial |
| Harms | 22 | Plans for collecting, assessing, reporting, and managing solicited and spontaneously reported adverse events and other unintended effects of trial interventions or trial conduct |
| Auditing | 23 | Frequency and procedures for auditing trial conduct, if any, and whether the process will be independent from investigators and the sponsor |

Ethics and dissemination

- | | | |
|--------------------------|-----|--|
| Research ethics approval | 24 | Plans for seeking research ethics committee/institutional review board (REC/IRB) approval |
| Protocol amendments | 25 | Plans for communicating important protocol modifications (eg, changes to eligibility criteria, outcomes, analyses) to relevant parties (eg, investigators, REC/IRBs, trial participants, trial registries, journals, regulators) |
| Consent or assent | 26a | Who will obtain informed consent or assent from potential trial participants or authorised surrogates, and how (see Item 32) |
| | 26b | Additional consent provisions for collection and use of participant data and biological specimens in ancillary studies, if applicable |
| Confidentiality | 27 | How personal information about potential and enrolled participants will be collected, shared, and maintained in order to protect confidentiality before, during, and after the trial |
| Declaration of interests | 28 | Financial and other competing interests for principal investigators for the overall trial and each study site |
| Access to data | 29 | Statement of who will have access to the final trial dataset, and disclosure of contractual agreements that limit such access for investigators |

Ancillary and post-trial care	30	Provisions, if any, for ancillary and post-trial care, and for compensation to those who suffer harm from trial participation
Dissemination policy	31a	Plans for investigators and sponsor to communicate trial results to participants, healthcare professionals, the public, and other relevant groups (eg, via publication, reporting in results databases, or other data sharing arrangements), including any publication restrictions
	31b	Authorship eligibility guidelines and any intended use of professional writers
	31c	Plans, if any, for granting public access to the full protocol, participant-level dataset, and statistical code

Appendices

Informed consent materials	32	Model consent form and other related documentation given to participants and authorised surrogates
Biological specimens	33	Plans for collection, laboratory evaluation, and storage of biological specimens for genetic or molecular analysis in the current trial and for future use in ancillary studies, if applicable

*It is strongly recommended that this checklist be read in conjunction with the SPIRIT 2013 Explanation & Elaboration for important clarification on the items. Amendments to the protocol should be tracked and dated. The SPIRIT checklist is copyrighted by the SPIRIT Group under the Creative Commons "[Attribution-NonCommercial-NoDerivs 3.0 Unported](#)" license.

Références bibliographiques

1. Renton JP, Smith RJH. Current treatment paradigms in the management of lymphatic malformations. *The Laryngoscope*. 2011;121(1):56-59. doi:10.1002/lary.20768
2. ISSVA Classification of Vascular Anomalies ©2018 International Society for the Study of Vascular Anomalies Available at "issva.org/classification"; Accessed November 2020
3. Wassef M, Blei F, Adams D, et al. Vascular Anomalies Classification: Recommendations From the International Society for the Study of Vascular Anomalies. *PEDIATRICS*. 2015;136(1):e203-e214. doi:10.1542/peds.2014-3673
4. Wiegand S, Eivazi B, Barth PJ, et al. Pathogenesis of lymphangiomas. *Virchows Arch*. 2008;453(1):1-8. doi:10.1007/s00428-008-0611-z
5. Osborn AJ, Dickie P, Neilson DE, et al. Activating PIK3CA alleles and lymphangiogenic phenotype of lymphatic endothelial cells isolated from lymphatic malformations. *Human Molecular Genetics*. 2015;24(4):926-938. doi:10.1093/hmg/ddu505
6. Hammill AM, Wentzel M, Gupta A, et al. Sirolimus for the treatment of complicated vascular anomalies in children. *Pediatr Blood Cancer*. 2011;57(6):1018-1024. doi:10.1002/pbc.23124
7. Groupe de Recherche de la Société Française de Dermatologie Pédiatrique, Maruani A, Boccara O, et al. Treatment of voluminous and complicated superficial slow-flow vascular malformations with sirolimus (PERFORMUS): protocol for a multicenter phase 2 trial with a randomized observational-phase design. *Trials*. 2018;19(1):340. doi:10.1186/s13063-018-2725-1
8. Groupe de Recherche de la Société Française de Dermatologie Pédiatrique, Leducq S, Caille A, et al. Topical sirolimus 0.1% for treating cutaneous microcystic lymphatic malformations in children and adults (TOPICAL): protocol for a multicenter phase 2, within-person, randomized, double-blind, vehicle-controlled clinical trial. *Trials*. 2019;20(1):739. doi:10.1186/s13063-019-3767-8
9. de Serres LM, Sie KCY, Richardson MA. Lymphatic Malformations of the Head and Neck: A Proposal for Staging. *Archives of Otolaryngology - Head and Neck Surgery*. 1995;121(5):577-582. doi:10.1001/archotol.1995.01890050065012
10. Elluru RG, Balakrishnan K, Padua HM. Lymphatic malformations: Diagnosis and management. *Seminars in Pediatric Surgery*. 2014;23(4):178-185. doi:10.1053/j.sempedsurg.2014.07.002
11. Wiegand S, Eivazi B, Zimmermann AP, et al. Microcystic Lymphatic Malformations of the Tongue: Diagnosis, Classification, and Treatment. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2009;135(10):976. doi:10.1001/archoto.2009.131
12. Wittekindt C, Michel O, Streppel M, et al. Lymphatic malformations of the head and neck: Introduction of a disease score for children, Cologne Disease Score (CDS). *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*. 2006;70(7):1205-1212. doi:10.1016/j.ijporl.2005.12.013
13. Adams DM, Trenor CC, Hammill AM, et al. Efficacy and Safety of Sirolimus in the Treatment of Complicated Vascular Anomalies. *PEDIATRICS*. 2016;137(2):e20153257-e20153257. doi:10.1542/peds.2015-3257
14. Perkins JA, Manning SC, Tempero RM, et al. Lymphatic malformations: Review of current treatment. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2010;142(6):795-803.e1. doi:10.1016/j.otohns.2010.02.026

15. Bajaj Y, Hewitt R, Ifeacho S, Hartley BEJ. Surgical excision as primary treatment modality for extensive cervicofacial lymphatic malformations in children. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*. 2011;75(5):673-677. doi:10.1016/j.ijporl.2011.02.009
16. Defnet AM, Bagrodia N, Hernandez SL, Gwilliam N, Kandel JJ. Pediatric lymphatic malformations: evolving understanding and therapeutic options. *Pediatr Surg Int*. 2016;32(5):425-433. doi:10.1007/s00383-016-3867-4
17. Lamming DW. Inhibition of the Mechanistic Target of Rapamycin (mTOR)–Rapamycin and Beyond. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2016;6(5):a025924. doi:10.1101/cshperspect.a025924
18. Kobayashi S, Kishimoto T, Kamata S, Otsuka M, Miyazaki M, Ishikura H. Rapamycin, a specific inhibitor of the mammalian target of rapamycin, suppresses lymphangiogenesis and lymphatic metastasis. *Cancer Science*. 2007;98(5):726-733. doi:10.1111/j.1349-7006.2007.00439.x
19. Boscolo E, Coma S, Luks VL, et al. AKT hyper-phosphorylation associated with PI3K mutations in lymphatic endothelial cells from a patient with lymphatic malformation. *Angiogenesis*. 2015;18(2):151-162. doi:10.1007/s10456-014-9453-2
20. Fereydooni A, Dardik A, Nassiri N. Molecular changes associated with vascular malformations. *Journal of Vascular Surgery*. 2019;70(1):314-326.e1. doi:10.1016/j.jvs.2018.12.033
21. Paghdal KV, Schwartz RA. Sirolimus (rapamycin): From the soil of Easter Island to a bright future. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2007;57(6):1046-1050. doi:10.1016/j.jaad.2007.05.021
22. Fogel AL, Hill S, Teng JMC. Advances in the therapeutic use of mammalian target of rapamycin (mTOR) inhibitors in dermatology. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2015;72(5):879-889. doi:10.1016/j.jaad.2015.01.014
23. Marsh DJ, Trahair TN, Martin JL, et al. Rapamycin treatment for a child with germline PTEN mutation. *Nat Rev Clin Oncol*. 2008;5(6):357-361. doi:10.1038/ncponc1112
24. Nadal M, Giraudeau B, Tavernier E, Jonville-Bera A, Lorette G, Maruani A. Efficacy and Safety of Mammalian Target of Rapamycin Inhibitors in Vascular Anomalies: A Systematic Review. *Acta Derm Venerol*. 2016;96(4):448-452. doi:10.2340/00015555-2300
25. clinicaltrials.gov; Accessed November 2020
26. Ormerod AD, Shah SAA, Copeland P, Omar G, Winfield A. Treatment of psoriasis with topical sirolimus: preclinical development and a randomized, double-blind trial. *Br J Dermatol*. 2005;152(4):758-764. doi:10.1111/j.1365-2133.2005.06438.x
27. Soria A, Agbo-Godeau S, Taïeb A, Francès C. Treatment of Refractory Oral Erosive Lichen Planus with Topical Rapamycin: 7 Cases. *Dermatology*. 2009;218(1):22-25. doi:10.1159/000172830
28. Poot AM, Jonkman MF. Topical sirolimus for oral pemphigus vulgaris: 3 unresponsive cases. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2012;67(5):e228-e229. doi:10.1016/j.jaad.2012.04.032
29. Amin S, Lux A, Khan A, O'Callaghan F. Sirolimus Ointment for Facial Angiofibromas in Individuals with Tuberous Sclerosis Complex. *International Scholarly Research Notices*. 2017;2017:1-6. doi:10.1155/2017/8404378
30. Malissen N, Vergely L, Simon M, Roubertie A, Malinge M-C, Bessis D. Long-term treatment of cutaneous manifestations of tuberous sclerosis complex with topical 1% sirolimus cream: A prospective study of 25 patients. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2017;77(3):464-472.e3. doi:10.1016/j.jaad.2017.04.005

31. Leducq S, Giraudeau B, Tavernier E, Maruani A. Topical use of mammalian target of rapamycin inhibitors in dermatology: A systematic review with meta-analysis. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2019;80(3):735-742. doi:10.1016/j.jaad.2018.10.070
32. Ivars M, Redondo P. Efficacy of Topical Sirolimus (Rapamycin) for the Treatment of Microcystic Lymphatic Malformations. *JAMA Dermatol*. 2017;153(1):103. doi:10.1001/jamadermatol.2016.3697
33. García-Montero P, del Boz J, Sanchez-Martínez M, Escudero Santos IM, Baselga E. Microcystic Lymphatic Malformation Successfully Treated With Topical Rapamycin. *Pediatrics*. 2017;139(5):e20162105. doi:10.1542/peds.2016-2105
34. Nudelman Z, Friedman M, Barasch D, et al. Levels of sirolimus in saliva and blood following mouthwash application. *Oral Dis*. Published online March 2014:n/a-n/a. doi:10.1111/odi.12229
35. Cornu C, Kassai B, Fisch R, et al. Experimental designs for small randomised clinical trials: an algorithm for choice. *Orphanet J Rare Dis*. 2013;8(1):48. doi:10.1186/1750-1172-8-48
36. Hooper R, Knowles C. Improving the efficiency of individually randomized clinical trials by staggering the introduction of the intervention. *Statistics in Medicine*. 2019;38(1):44-52. doi:10.1002/sim.7959
37. Lewis-Jones MS, Finlay AY. The Children's Dermatology Life Quality Index (CDLQI): initial validation and practical use. *British Journal of Dermatology*. 2010;162(6):942-949. doi:10.1111/j.1365-2133.1995.tb16953.x
38. Garduno J, Bhosle MJ, Balkrishnan R, Feldman SR. Measures used in specifying psoriasis lesion(s), global disease and quality of life: A systematic review. *Journal of Dermatological Treatment*. 2007;18(4):223-242. doi:10.1080/09546630701271807
39. Tabolli S, Sampogna F, Pagliarello C, Paradisi A, Spagnoli A, Abeni D. Disease severity evaluation among dermatological out-patients: a comparison between the assessments of patients and physicians: Patient-physician disease severity evaluation: a comparison. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 2012;26(2):213-218. doi:10.1111/j.1468-3083.2011.04038.x
40. Chan A-W, Tetzlaff JM, Altman DG, et al. SPIRIT 2013 Statement: Defining Standard Protocol Items for Clinical Trials. *Ann Intern Med*. 2013;158(3):200. doi:10.7326/0003-4819-158-3-201302050-00583
41. Arain M, Campbell MJ, Cooper CL, Lancaster GA. What is a pilot or feasibility study? A review of current practice and editorial policy. *BMC Med Res Methodol*. 2010;10(1):67. doi:10.1186/1471-2288-10-67
42. Eldridge SM, Lancaster GA, Campbell MJ, et al. Defining Feasibility and Pilot Studies in Preparation for Randomised Controlled Trials: Development of a Conceptual Framework. Lazzeri C, ed. *PLoS ONE*. 2016;11(3):e0150205. doi:10.1371/journal.pone.0150205
43. Chalmers T. Randomize the First Patient! *N Engl J Med*. 1977;296(2):107-107. doi:10.1056/NEJM197701132960214
44. <https://www.ema.europa.eu/en/regulatory-guidance-use-health-related-quality-life-hrql-measures-evaluation-medicinal-products>; Accessed November 2020
45. Tuckman A. The Potential Psychological Impact of Skin Conditions. *Dermatol Ther (Heidelb)*. 2017;7(S1):53-57. doi:10.1007/s13555-016-0169-7
46. Basra MKA, Fenech R, Gatt RM, Salek MS, Finlay AY. The Dermatology Life Quality Index 1994-2007: a comprehensive review of validation data and clinical results. *British Journal of Dermatology*. Published online September 2008. doi:10.1111/j.1365-2133.2008.08832.x
47. Poór AK, Brodszky V, Péntek M, et al. Is the DLQI appropriate for medical decision-making in psoriasis patients? *Arch Dermatol Res*. 2018;310(1):47-55. doi:10.1007/s00403-017-1794-4

Conclusion générale

Le protocole TOPGUN s'inscrit à la fois dans la tendance croissante à l'utilisation des inhibiteurs de mTOR par voie topique en dermatologie et dans les innovations concernant la prise en charge médicale des malformations vasculaires, qui sont des pathologies rares. Cependant, comme récemment mis en évidence^{22,24,31}, les publications portant sur le sirolimus, notamment topique, reposent souvent sur des séries de cas et nécessitent donc confirmation par des essais randomisés.

Or, l'un des défis pour l'évaluation de thérapeutiques innovantes, notamment dans les maladies rares est de garantir un bon niveau de preuve dès les premiers patients inclus dans les essais thérapeutiques, comme exposé par Thomas C. Chalmers dans sa lettre de 1977⁴³. En effet, lorsqu'un traitement présente un bénéfice attendu important ou un caractère innovant, le risque est qu'il rentre dans l'usage dès les premiers résultats des premiers études pilotes, même si ceux-ci sont de qualité méthodologique médiocre. Ce risque est amplifié dans les pathologies rares, où le pool de recrutement de patients incluable dans les essais est faible et le nombre d'équipe spécialisées restreint.

Certaines approches méthodologiques permettent d'améliorer l'efficacité des essais thérapeutiques dans certaines conditions. Ainsi, l'exemple de TOPGUN est celui du schéma *stepped-wedge* à randomisation individuelle, qui permet d'introduire l'intervention graduellement en effectuant des mesures répétées des critères de jugement. Ceci permet de considérer le patient comme son propre témoin et d'augmenter la puissance, au prix cependant d'une durée allongée de participation.

Ce schéma méthodologique permet de maximiser la puissance statistique des protocoles et l'acceptabilité des protocoles auprès des patients, puisque chacun des participant bénéficie dans tous les cas de l'administration du traitement innovant^{35,36}.

La nature des critères de jugement est une autre problématique d'importance en recherche clinique et tout particulièrement en dermatologie.

Il existe une tendance, notamment au niveau des agences réglementaires⁴⁴, à favoriser l'utilisation de critères de jugement évalués par le patient (*Patient Reported Outcomes*, PROs) dans les protocoles de recherche, notamment concernant les maladies chroniques ou évoluant par poussées, dans lesquels on peut aisément inclure les LMLM. Étant donné leur caractère affichant, le vécu émotionnel des pathologies dermatologiques peut induire une altération importante de la qualité de vie des patients, ce qui enjoint les chercheurs en dermatologie à apporter une attention particulière aux PROs.⁴⁵

Ainsi, le protocole TOPGUN contient plusieurs PROs uni ou multidimensionnels, portant sur des symptômes précis comme la douleur ou la lymphorrhée évalués par des échelles numériques, ou sur l'évaluation globale de la pathologie (évolution globale cotée de -10 à 10) ou de la qualité de vie corrélée à la lésion (DLQI ou cDLQI).

Toutefois, le PGA et le DLQI, qui sont des instruments de mesure simples et largement diffusés dans la littérature, restent imparfaits, avec une corrélation inter-patient médiocre et une possible méconnaissance de la sévérité de la pathologie ressentie par le patient⁴⁶⁻⁴⁷. Ils restent cependant incontournables, notamment dans les pathologies plus rares où des scores spécifiques n'ont pas été élaborés.

Des travaux supplémentaires sont ainsi nécessaires pour améliorer les méthodes d'évaluation par les cliniciens et par les patients eux-mêmes des pathologies dermatologiques et de leur impact sur la qualité de vie des patients.

Le protocole TOPGUN est actuellement en cours de recrutement. Cinq patients ont été inclus, dont 4 enfants et un adulte. Parmi eux, 2 ont achevé leur suivi. L'essai rencontre des difficultés de recrutement du fait de la rareté de la pathologie étudiée. Les centres de l'Institut de Dermatologie du Grand-Ouest (IDGO) ont été sollicités pour aider au recrutement, et un amendement a été déposé pour valider la participation du centre de l'Hôpital Necker-Enfants-Malades, AP-HP, Paris.

La pandémie de COVID-19 a probablement également contribué à la difficulté de recrutement. Toutefois, la faisabilité du protocole n'est que peu impactée, notamment grâce au recours à la téléconsultation, qui avait été prévu a priori.

L'alternance entre consultations en présentiel et téléconsultations a été initialement conçue afin de limiter les déplacements du patient au niveau du centre, tout en effectuant un suivi clinique et biologique nettement intensifié par rapport aux pratiques habituelles. Cette volonté était accentuée par la grande rareté des MLML, qui implique que les patients habitent parfois à une grande distance de leur centre de référence.

La poursuite efficace du protocole en période de pandémie semble ainsi plaider en faveur de la généralisation de ce type de suivi en recherche clinique, qui s'est avéré réalisable en pratique, confortable pour le patient et robuste en période de restrictions sanitaires.

Vu, le Directeur de Thèse

Vu, le Doyen
De la Faculté de Médecine de Tours
Tours, le

MARCHAND Antoine

81 pages – 5 tableaux – 5 figures – 2 annexes

Titre : Présentation du protocole TOPGUN - Sirolimus topique dans les malformations lymphatiques microkystiques linguales

Résumé :

Les malformations lymphatiques microkystiques linguales sont un sous-groupe de malformations vasculaires congénitales rares. Il s'agit d'amas de vésicules de contenu lymphatique ou hématique. Le site d'atteinte préférentiel est la zone médio-linguale et la lésion peut rester superficielle ou envahir en profondeur le muscle lingual et les structures adjacentes. Leur histoire naturelle est une majoration progressive et lente dans le temps. Le retentissement fonctionnel de ces malformations est souvent important, même pour des lésions de petite taille : douleur, gêne esthétique, exsudation, sialorrhée, saignements, épisodes de surinfection.

Actuellement, l'arsenal thérapeutique inclut plusieurs modalités : l'exérèse chirurgicale (glossectomie partielle), les méthodes interventionnelles (sclérothérapie, lasers, radiofréquences...). Ces thérapeutiques invasives sont grevées par des résultats fonctionnels souvent insatisfaisants avec une morbidité parfois importante du fait de récurrences possibles et de l'évolutivité des lésions. Une surveillance active est toujours recommandée.

L'abstention thérapeutique est une autre option.

Les malformations lymphatiques de grande taille ou invasives sont également éligibles à un traitement par sirolimus par voie orale. Il s'agit d'un inhibiteur de mTOR (*mammalian target of rapamycin*), traitement généralement utilisé en tant qu'immunosuppresseur en prévention du rejet post-transplantation rénale et ayant des propriétés anti-angiogéniques et anti-lymphangiogéniques. Son utilisation en tant que traitement topique sur la peau ou les muqueuses est documentée en dermatologie, avec un bon profil de tolérance et un passage systémique négligeable.

Nous postulons que l'utilisation de sirolimus en application topique peut être un traitement efficace et bien toléré des malformations lymphatiques microkystiques linguales.

Nous avons élaboré un protocole de recherche en utilisant un schéma méthodologique *stepped-wedge*, qui permet des mesures répétées et une randomisation de l'intervention, en garantissant l'administration du traitement à l'étude à tous les patients. Le critère principal de jugement est l'évaluation sur photos par un comité d'adjudication, et les critères de jugement secondaires subjectifs sont adaptés à la population pédiatrique.

Mots clés : malformation lymphatique microkystique linguale, voie de signalisation mTOR, sirolimus, traitement topique

Jury :

Président du Jury : Professeur Laurent MACHET

Directeur de thèse : Professeur Annabel MARUANI

Membres du Jury : Professeur Bruno GIRAudeau

Professeur Mahtab SAMIMI

Docteur Agnès CAILLE

Docteur Valérie GISSOT

Date de soutenance : 17 Décembre 2020