



Université Lille 2
Droit et Santé

UNIVERSITE DU DROIT ET DE LA SANTE - LILLE 2
FACULTE DE MEDECINE HENRI WAREMBOURG

Année 2012

THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN MEDECINE

**Facteurs de réponse dans les leucémies aiguës myéloblastiques traitées par
azacytidine**

Présentée et soutenue publiquement le 22 octobre 2012
Par Julie GAY-GUERINET

Jury

Président : Monsieur le Professeur Thierry FACON

Assesseurs : Monsieur le Professeur Ibrahim YAKOUB-
AGHA
Madame le Docteur Céline BERTHON
Madame le Docteur Aline RENNEVILLE

Directeur de thèse : Monsieur le Professeur Claude PREUDHOMME

TABLE DES MATIERES

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Liste des abréviations | 15 |
| Résumé | 17 |
| Introduction | 19 |
| I Définition et épidémiologie de la leucémie aiguë myéloblastique..... | 19 |
| II Physiopathologie de la leucémie aiguë myéloblastique | 19 |
| 1 Leucémogénèse..... | 19 |
| 2 Anomalies épigénétiques | 20 |
| 2.1 Généralité sur la chromatine..... | 20 |
| 2.2 Mécanisme de régulations épigénétiques..... | 21 |
| a Méthylation de l'ADN..... | 22 |
| b Modifications post-transcriptionnelles des histones | 23 |
| 2.3 Anomalies épigénétiques dans les LAM | 23 |
| III Diagnostic et classifications..... | 24 |
| 1 Diagnostic..... | 24 |
| 2 Classifications..... | 26 |
| IV Facteurs pronostiques | 30 |
| 1 Facteurs pronostiques liés au patient | 30 |
| 1.1 L'âge | 30 |
| 1.2 Comorbidités | 30 |
| 2 Facteurs pronostiques liés à la LAM | 31 |
| 2.1 Cytologie..... | 31 |
| a L'hyperleucocytose..... | 31 |
| b Dysplasie multilignée (DML)..... | 31 |
| 2.2 LAM secondaires | 31 |
| a LAM induite par les traitements (LAM-t) | 32 |
| b Transformations de syndromes myélodysplasiques | 32 |
| c Transformations de syndromes myéloprolifératifs <i>BCR-ABL</i> négatifs (SMP) | 32 |
| 2.3 Cytogénétique | 33 |
| 2.4 Biologie moléculaire | 35 |
| a Mutations validées dans la classification pronostique de l'European LeukemiaNet (ELN) | 35 |
| i Mutations de NPM1 | 35 |
| ii Mutations de CEBPA..... | 36 |
| iii Anomalies de FLT3 | 37 |
| iv Anomalies de MLL | 38 |
| v Surexpression d'EVI1 | 38 |
| b Classification pronostique actuelle de ELN | 39 |
| c Mutations en cours de validation..... | 40 |
| i Mutations de TP53 | 40 |
| ii Mutations de Ras..... | 40 |
| iii Mutations de DNMT3A | 41 |
| iv Mutations d'IDH1 et IDH2 | 41 |

| | | |
|------------|-----------------------------------------------------------------------------|-----------|
| v | Mutations de TET2..... | 42 |
| vi | Mutations de ASXL1 | 43 |
| vii | Mutations de EZH2..... | 43 |
| viii | Mutations de RUNX1 (AML1) | 44 |
| 3 | Facteurs pronostiques liés aux traitements..... | 44 |
| V | Traitements | 45 |
| 1 | Traitement du patient de moins de 60 ans..... | 45 |
| 1.1 | Traitement en première ligne | 45 |
| a | Traitement induction..... | 45 |
| b | Traitement de consolidation | 46 |
| i | LAM du groupe favorable..... | 46 |
| ii | LAM du groupe intermédiaire I et II | 47 |
| iii | LAM du groupe défavorable..... | 47 |
| 1.2 | Echec et rechute..... | 47 |
| 2 | Traitement du patient de plus de 60 ans..... | 48 |
| 2.1 | Traitement intensif..... | 48 |
| 2.2 | Traitement des LAM à pronostic défavorable | 49 |
| 2.3 | Traitement du sujet très âgé | 50 |
| 3 | Agents déméthylants..... | 51 |
| 3.1 | Mode d'action | 51 |
| 3.2 | Place de l'azacytidine dans le traitement de la LAM | 52 |
| 3.3 | Les associations | 53 |
| 3.4 | Les effets secondaires | 54 |
| 3.5 | Les facteurs pronostiques de réponse | 54 |
| a | Facteur pronostique clinique | 54 |
| b | Facteur pronostic lié au traitement | 55 |
| c | Facteurs pronostiques biologiques..... | 55 |
| i | Blastose médullaire | 55 |
| ii | Leucocytose..... | 55 |
| iii | Plaquettes | 55 |
| iv | Cytogénétique | 56 |
| v | Biologie moléculaire | 56 |
| | Objectifs de l'étude | 57 |
| | Patients, matériel et méthodes..... | 58 |
| I | Patients | 58 |
| II | Traitement | 58 |
| III | Critères de réponse | 59 |
| IV | Analyse cytogénétique | 60 |
| V | Analyse moléculaire | 61 |
| 1 | Traitements des échantillons..... | 61 |
| 1.1 | Isolements cellulaires | 61 |
| 2 | Analyses moléculaires « classiques » | 62 |
| 3 | Séquençage à ultra-haut débit (Next-generation sequencing NGS) | 62 |
| VI | Analyse statistique..... | 64 |

| | |
|--------------------------------------------------------------------|-----------|
| Résultats | 65 |
| I Analyse descriptive de la cohorte | 65 |
| II Modalités et réponse au traitement par azacytidine | 67 |
| 1 Modalités d'administration | 67 |
| 2 Réponse aux traitements | 68 |
| 3 Facteurs prédictifs de réponse | 68 |
| 3.1 Facteurs prédictifs généraux | 68 |
| 3.2 Facteurs prédictifs moléculaires..... | 70 |
| a Caractéristiques des 52 patients | 70 |
| b Réponse au traitement | 73 |
| c Facteurs prédictifs de réponse | 74 |
| III Survie globale et facteurs pronostiques de survie | 75 |
| IV Description des patients allogreffés | 79 |
| | |
| Discussion | 81 |
| | |
| Conclusion | 85 |
| | |
| Bibliographie | 86 |

LISTE DES ABREVIATIONS

| | |
|----------|-----------------------------------------------------------|
| AREB-t | Anémie réfractaire avec excès de blaste en transformation |
| AREB-2 | Anémie réfractaire avec excès de blaste de type 2 |
| ASXL1 | Additional sex comb-like 1 |
| CALGB | Cancer And Leukemia Group B |
| CBF | Core binding factor |
| CEBPA | CCAAT/enhancer-binding protein |
| CMF | Cytométrie en flux |
| CSH | Cellules souches hématopoïétiques |
| DFS | Survie sans maladie |
| DNMT3A | DNA-méthyltransférase 3A |
| DML | Dysplasie multilignée |
| EFS | Survie sans événement |
| ENL | European LeukemiaNet |
| EV1 | Ecotropic viral integration site 1 |
| EZH2 | Enhancer of zeste homolog 2 |
| FAB | Franco-Américano-Britannique |
| FISH | Fluorescence in situ hybridization |
| FLT3 | FMS-like tyrosine kinase 3 |
| FLT3-ITD | FLT3 avec duplication en tandem |
| FLT3-TKD | FLT3 avec mutation ponctuelle du domaine tyrosine kinase |
| IDH | Isocitrate deshydrogénase |
| LAM | Leucémie aiguë myéloïde |
| LAM-t | Leucémie aiguë myéloïde induite par les traitements |
| LSC | Cellule souche leucémique |
| MLL | Mixed-lineage leukemia |
| MRC | Medical Research Council |
| MO | Moelle osseuse |
| MPO | Myéloperoxidase |
| NMP1 | Nucleophosmine 1 |
| OMS | Organisation mondiale de la santé |
| OS | Survie globale |

| | |
|-----------|-------------------------------------------------------------|
| PS | <i>Performans status</i> |
| RC | Rémission complète |
| RC1 | Première rémission complète |
| RR | Risque relatif de rechute |
| RUNX1 | Runt-related transcription factor 1 |
| SEER | Surveillance Epidemiology and Ends Results Program |
| SMD | Syndrome myélodysplasique |
| SMP | Syndrome Myéloprolifératif |
| SWOG/ECOG | SouthWest Oncology Group/Eastern Cooperative Oncology Group |
| TET | Ten Eleven Translocation |

RESUME

Contexte :

Les leucémies aiguës myéloblastiques (LAM) ont un pronostic sombre, nécessitant de nouveaux traitements. Des facteurs pronostiques ont été validés dans le cadre de traitements conventionnels afin d'adapter le traitement aux caractéristiques de chaque patient. L'azacytidine est un agent déméthylant ayant démontré son efficacité dans les syndromes myélodysplasiques de haut risque dont l'efficacité et les facteurs pronostiques de réponse nécessitent d'être explorés dans les LAM.

Méthodes :

De manière rétrospective, les patients du Nord-Pas-de-Calais et d'Amiens traités par azacytidine pour une LAM entre 2007 et 2011 ont été recensés. Une recherche de mutations de 12 gènes sur ADN génomique par biologie moléculaire « classique » et séquençage ultra haut débit a été réalisée afin d'en évaluer leur impact pronostique.

Résultats :

Dans cette cohorte de 102 patients, l'âge médian était de 68 ans [20-82]. Les LAM secondaires représentaient 51% des cas. 57% étaient traités en 1^{ère} ligne, 20% en 2^e ligne et 23% en 3^e ligne et plus. 51% des patients présentaient un risque cytogénétique défavorable. La blastose médullaire médiane était de 35% [9-93]. Le taux de réponse globale était de 19% avec une durée médiane de 9,5 mois [2,5-38,7]. 9 patients étaient allogreffés au terme du traitement par azacytidine. 39% des patients n'atteignaient pas l'administration des 4 cures dont 20% en raison d'une progression de la maladie. La ligne thérapeutique apparaît comme pronostique de la réponse à l'azacytidine avec

26% de réponse globale en première ligne contre 9% en deuxième ligne et plus ($p=0,03$). IDH2 muté apparaît comme un facteur pronostic péjoratif de réponse (40% vs 0%) parmi la recherche de mutations réalisées. La survie médiane de la cohorte était de 7,1 mois [IC95 : 5,3-8,8]. La ligne thérapeutique avait un impact péjoratif avec une survie médiane diminuée à 5,3 mois en cas de 3^e ligne et plus ($P=0,04$) et à 2,5 mois en cas d'antécédent d'allogreffe ($p=0,02$). A l'inverse, la réalisation d'une allogreffe à l'issue de traitement par azacytidine permet un allongement de la survie médiane à 12,1 mois ($p=0,01$).

Conclusion :

L'azacytidine est un traitement qui est à envisager chez le patient âgé en première ligne pour une LAM à caryotype complexe permettant une prise en charge ambulatoire. L'allogreffe à conditionnement atténué devra être envisagée chaque fois que possible chez ces patients. IDH2 muté apparaît dans une première analyse avoir un impact péjoratif sur l'obtention de la réponse.

INTRODUCTION

I Définition et épidémiologie de la leucémie aiguë myéloblastique

Les leucémies aiguës myéloblastiques (LAM) peuvent être définies comme un ensemble hétérogène de proliférations de précurseurs des cellules sanguines (blastes) de nature myéloïde avec blocage à un stade précoce de leur différenciation, aboutissant à leur accumulation dans la moelle, le sang et éventuellement d'autres organes, et inhibant l'hématopoïèse physiologique.

L'incidence entre 2005 et 2009 aux Etats-Unis était de 3,6 pour 100 000 habitants tout âge confondu et de 16,2 pour 100 000 habitants pour les plus de 65 ans (1). En Europe, le projet de registre européen des cancers HAEMACARE retrouve une incidence semblable entre 2000 et 2002, à 3,62 pour 100 000 habitants tout âge confondu et la même augmentation d'incidence pour les plus de 65 ans (2). Les LAM sont donc essentiellement une pathologie du sujet âgé avec un âge médian au diagnostic entre 66 et 72 ans selon les registres (1,3) avec toutes les difficultés que cela implique notamment au niveau des possibilités thérapeutiques.

II Physiopathologie de la leucémie aiguë myéloblastique

1 Leucémogénèse

De nombreux progrès ont été réalisés ces dernières années pour comprendre les mécanismes de leucémogénèse. Dick *et al* soutiennent l'hypothèse de l'existence d'une cellule souche leucémique (LSC) capable d'initier, de maintenir et de réinitier la leucémie après xéno-transformation dans un modèle murins immunodéficients. Cette théorie définit l'existence d'une organisation hiérarchique des LAM où comme dans l'hématopoïèse normale, une sous population de LSC peut à la fois s'autorenouveler et s'engager dans une voie de différenciation tandis que les cellules leucémiques plus différenciées perdent cette capacité (4).

Au moins deux altérations géniques aux conséquences fonctionnelles distinctes sont nécessaires à l'apparition d'une LAM selon la théorie de « two-hit model » (5) et sont normalement mutuellement exclusives:

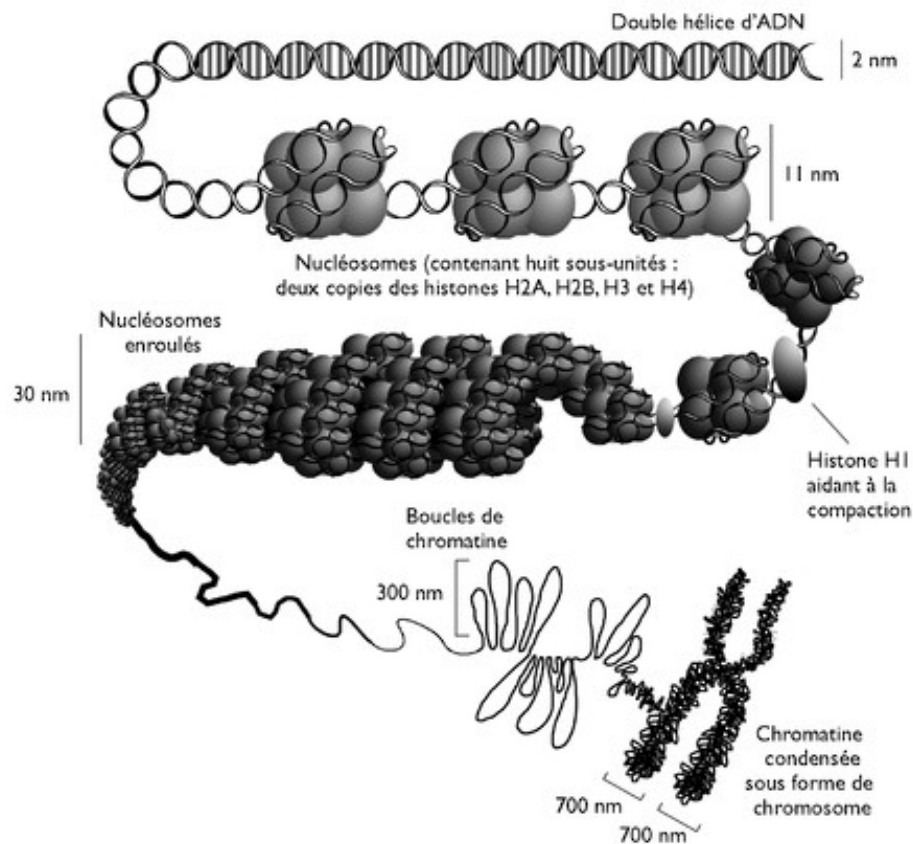
- Une mutation de classe I conférant un avantage prolifératif et/ou de survie aux cellules leucémiques. Il s'agit typiquement des mutations entraînant l'activation anormale des voies de signalisation médiées par des tyrosine kinases (FMS-like tyrosine kinase 3 (FLT3) ou RAS).
- Une mutation de classe II bloquant la différenciation myéloïde et conférant une capacité d'auto-renouvellement représentée par les translocations ou les mutations de gènes codant pour les facteurs de transcription (CCAAT/enhancer-binding protein (CEBPA), Runt-related transcription factor 1 (RUNX1)) ou les mutations des gènes impliqués dans le cycle cellulaire et la mort cellulaire (nucleophosmine 1 (NPM1), p53).

Cependant, d'autres mécanismes interviennent dans la leucémogénèse et sont actuellement en cours d'étude avec en particulier les anomalies épigénétiques.

2 Anomalies épigénétiques

2.1 Généralité sur la chromatine

La chromatine est constituée de l'ADN, de protéines et d'ARN. Elle peut être plus ou moins compactée par un système hautement régulé. L'unité de base de la compaction de la chromatine est le nucléosome, constitué d'un enroulement de 147 paires de base de l'ADN autour d'un octamère d'histones (2 copies des histones H3, H4, H2A et H2B) (figure n°1) (6)

Figure n°1 : Structure de la chromatine (7)

2.2 Mécanisme de régulations épigénétiques

Pour qu'un gène soit exprimé, il faut que son promoteur soit accessible aux facteurs de transcriptions et à la machinerie transcriptionnelle, et par conséquent, que la chromatine soit décompactée. L'ensemble des mécanismes contrôlant la compaction de la chromatine est regroupé sous le terme d'épigénétique. Quatre mécanismes permettent ce contrôle de la condensation chromatinienne : la méthylation de l'ADN, les modifications post-transcriptionnelles des histones, le réarrangement du nucléosome par le complexe SWI/SNF, et les contrôles transcriptionnel et post transcriptionnel des gènes par les microARNs. Nous décrivons les 2 premiers mécanismes.

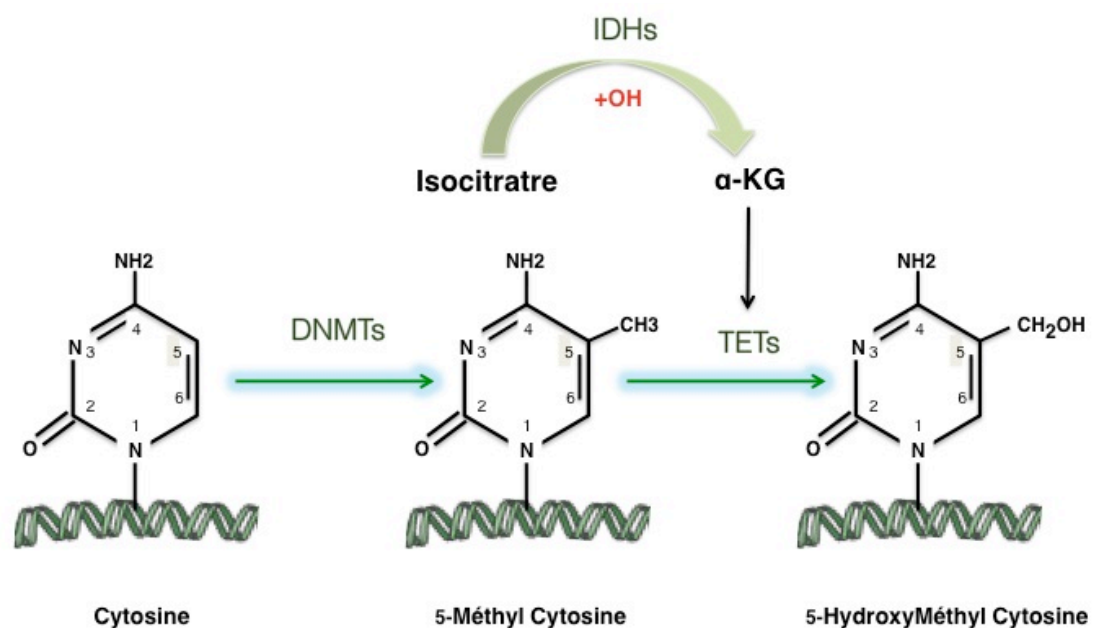
a Méthylation de l'ADN

La méthylation de l'ADN va permettre la compaction de la chromatine par modification de la double hélice d'ADN et inhiber la transcription des gènes par ce biais, par inhibition de l'accès des promoteurs méthylés aux facteurs de transcription et par leur inhibition *via* les DNA-méthyltransférases (DNMT) (8,9).

La méthylation est catalysée par un membre de la famille des DNA-méthyltransférases (DNMT1, DNMT3A et DNMT3B) qui transfère un groupe méthyl en position 5' d'une cytosine appartenant à un dinucléotide CpG (figure n°2) (10). Les dinucléotides CpG sont regroupés dans le génome en îlots CpG et souvent associés aux promoteurs des gènes (10).

Une des étapes de la déméthylation de l'ADN va se faire via les protéines de la famille TET (Tet eleven translocation 1, 2 et 3) qui permettent l'hydroxylation du groupement méthyl de manière dépendante de α -cétoglutarate (α -KG). Les enzymes IDH1 et IDH2 sont responsables de la production α -KG à partir de isocitrate (figure n°2) (11).

Figure n°2 : Méthylation et Hydroxy-méthylation de l'ADN., DNMTs :DNA méthyltransférases, TETs : Tet eleven translocation, IDHs : Isocitrate deshydrogénase, α -KG : α -cétoglutarate



b Modifications post-transcriptionnelles des histones

Les modifications post-transcriptionnelles des histones sont multiples et le plus souvent situées au niveau de leur « queue » N-terminale. Huit types de modifications peuvent survenir, créant ainsi le « code des histones » intervenant dans l'état plus ou moins compacté de la chromatine. Les plus fréquentes sont soit une méthylation, une acétylation ou une phosphorylation d'une lysine, d'une arginine ou d'un tryptophane (6).

De multiples enzymes sont responsables de cette modification post-transcriptionnelle avec par exemple, les histones-acétylases, les histones-déacétylases (HDAC) ou les histones méthyltransférases. Ainsi, la triméthylation de la lysine 27 sur l'histone H3 via EZH2 (enhancer of zeste homolog 2) va être répresseur pour l'expression des gènes ou par exemple alors que la méthylation de la lysine 4 sur l'histone H3 via MLL (mixed-lineage leukemia) va permettre l'expression des gènes. De même les HDAC responsables de la dé-acétylation des histones H3 et H4 vont d'une structure compacte de la chromatine à l'inverse des histones-acétylases (6,9).

2.3 Anomalies épigénétiques dans les LAM

Il est clairement établi à l'heure actuelle que les mécanismes d'oncogénèse font intervenir de manière intriquée des mutations de gènes et des modifications épigénétiques. Ainsi dans les LAM, plusieurs études montrent l'existence d'une hyperméthylation du génome. Les groupes de gènes hyperméthylés diffèrent selon les LAM et la cartographie de ces gènes hyperméthylés permet d'identifier biologiquement des sous-groupes de LAM (11–13). Ainsi, une LAM secondaire ne présente pas le même profil d'hyperméthylation qu'une LAM *de novo*, et le profil d'une LAM *de novo* NPM1 muté diffère d'une LAM CEBPA muté. De plus, au sein même des LAM NPM1 muté, 4 profils d'hyperméthylation sont retrouvés.

Le mécanisme par lequel cette hyperméthylation intervient dans l'oncogénèse n'est à ce jour pas complètement élucidé. Une des hypothèses est que cette hyperméthylation entraîne une inhibition des gènes suppresseurs de tumeurs. Dans le cas des LAM IDH1/IDH2 muté hétérozygote, les enzymes IDH1 et IDH2 acquièrent une nouvelle activité enzymatique et convertissent α -KG en 2-hydroxyglutarate entraînant une dysfonction de TET2. De plus dans les LAM les mutations de TET2 et IDH1/IDH2 sont mutuellement exclusives et entraînent des profils d'hyperméthylation similaires. Dans des lignées cellulaires leucémiques les mutations IDH1/IDH2 entraînent un

blocage de maturation et une expression à la surface des cellules de marqueurs indifférenciés, suggérant un effet leucémogène par le biais de régulations épigénétiques (11).

III Diagnostic et classifications

1 Diagnostic

Les signes cliniques et les symptômes secondaires à une LAM au diagnostic sont multiples, non spécifiques et sont le reflet d'une part de l'envahissement médullaire par les blastes, responsable d'une insuffisance médullaire et/ou d'autre part de l'envahissement par les cellules blastiques dans le sang ou d'autres organes (14). Une LAM va donc être suspectée sur l'hémogramme devant l'existence d'une ou plusieurs cytopénies et/ou l'existence de cellules blastiques.

Le diagnostic de LAM repose sur la mise en évidence de plus 20% de blastes dans la moelle osseuse (MO) ou dans le sang périphérique selon les critères de l'organisation mondiale de la santé (OMS) (15,16). Cependant, le diagnostic de LAM peut être posé indépendant du pourcentage de blastes en présence des anomalies cytogénétiques suivantes t(15;17), t(8;21), inv(16), t(16;16) ou en cas de localisation extra-médullaire exclusive (sarcome myéloïde) (16).

Il est recommandé d'analyser 500 cellules nucléées sur le myélogramme ou 200 cellules nucléées sur le frottis sanguin colorées au May-Grünwald Giemsa. La biopsie ostéo-médullaire avec une étude immunohistochimique sera nécessaire en cas d'aspiration médullaire pauvre ne permettant pas de faire le diagnostic. La morphologie des blastes est variée. Ce sont des cellules avec un rapport nucléo-cytoplasmique élevé, un ou plusieurs nucléoles visibles, habituellement une chromatine fine et un cytoplasme basophile (17). Ils peuvent présenter des caractéristiques cytologiques selon leur lignée d'origine : un cytoplasme avec ou sans granulations azurophiles associé à un ou plusieurs corps d'Auer pour les myéloblastes, un cytoplasme gris bleuté avec un noyau irrégulier pour les monoblastes et des expansions cytoplasmiques pour les mégacaryoblastes.

La lignée myéloïde des blastes doit être confirmée par différents moyens. Un examen cytochimique du myélogramme par la réaction de la myélo-péroxydase (MPO) permet, lorsque celle-ci est positive dans plus de 3% des blastes, d'attester leur caractère myéloïde. Cependant, les myéloblastes les plus immatures ainsi que les monoblastes n'expriment pas la myélo-péroxydase.

L'immunophénotypage par cytométrie en flux (CMF) multiparamétrique est la technique de référence pour l'identification de l'origine myéloïde ou lymphoïde des blastes (tableau n°1). Le seuil de positivité d'un marqueur est en général défini par sa présence sur au moins 20% des blastes mais le seuil peut être abaissé à 10% pour certains marqueurs (CD3 cytoplasmique, MPO, TdT, CD34, CD117) (16,18).

Tableau n° 1: Expression des marqueurs membranaires ou cytoplasmiques pour le diagnostic de LAM (18)

| | |
|---------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| Marqueurs précurseurs | CD34, CD38, CD117, CD133, HLA-DR |
| Marqueurs Myéloïdes | CD13, CD15, CD16, CD33, CD65, myélo-péroxydase intra-cytoplasmique(cMPO) |
| Marqueurs monocytes | Estérases (NSE), CD11c, CD14, CD64, lysozyme, CD4, CD11b, CD36, NG2 homologue |
| Marqueurs Mégacaryocytes | CD41 (glycoprotéine IIb/IIIa), CD61 (glycoprotéine IIIa), CD42 (glycoprotéine 1b) |
| Marqueurs érythroïdes | CD235a (glycophorine A) |

L'immunophénotypage des blastes permet également de mettre en évidence des marqueurs aberrants (LAIP ou *leukemia-associated aberrant immunophenotype*) utilisés dans le suivi de la maladie résiduelle (16,18).

L'analyse cytogénétique conventionnelle sur moelle osseuse est indispensable lors du diagnostic de LAM. Un minimum de 20 métaphases cellulaires est nécessaire pour établir le diagnostic de caryotype normal. La présence des anomalies récurrentes t(15;17), t(8;21), inv(16), t(16;16) permettent à elles seules d'affirmer le diagnostic de LAM et de plus des anomalies récurrentes permettent de classer des sous-types de LAM au sein de la classification OMS 2008 (organisation mondiale de la santé) (16). Enfin l'analyse cytogénétique permet de mettre en évidence des facteurs pronostiques pouvant influencer la prise en charge thérapeutique ultérieure.

L'analyse génétique par FISH (*fluorescence in situ hybridization*) peut être une option pour détecter des réarrangements des gènes *RUNX1T1*, *CBFB-MYH11*, *MLL*, *EVII*, ou la perte de 5q et 7q. L'étude par FISH est fréquemment nécessaire pour étudier les partenaires de fusion de *MLL* dans les translocations 11q23. Mais il n'y a pas actuellement de recommandation pour la pratique courante (19,20).

La biologie moléculaire est réalisée à partir d'échantillon de moelle osseuse et/ou de sang. De nombreuses mutations somatiques acquises ont été décrites dans les LAM et seront décrites dans un chapitre ultérieur. En routine, il est recommandé de réaliser dans le cadre des LAM à caryotype normal, la recherche de trois mutations : *NPM1*, *CEBPA* et *FLT3*. Le diagnostic moléculaire par RT-PCR peut être utile pour des transcrits de fusion récurrents comme *RUNX1-RUNX1T1*, *CBFB-MYH11*, *MLLT3-MLL*, *DEK-NUP214*, en cas de forte cytologie et de cytogénétique conventionnelle négative ou de mauvaise qualité (18).

2 Classifications

La première classification internationale des LAM de l'adulte émanait d'un comité d'experts Franco-Américano-Britannique (classification FAB), et reposait exclusivement sur des critères cytologiques. Une LAM était définie sur la mise en évidence de plus de 30% de blastes dans la MO. Cette classification distinguait une entité, parmi les syndromes myélodysplasiques, de type anémie réfractaire avec excès de blaste en transformation (AREB-t) dont la blastose médullaire était compris entre 20 et 30%. La classification FAB distinguait huit entités (LAM 0 à 7) en regroupant les LAM selon la lignée d'origine de la population blastique, et le niveau de blocage de la maturation myéloïde résiduelle (21,22).

Tableau n°2 : Classification FAB des LAM (21,22)

| Type FAB | Nom Commun | % LAM | % de blastes MO | Caractéristiques cytologiques | MPO | Particularités |
|-----------|--------------------------|-------|-----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|---------------------------|
| M0 | LAM sans différenciation | 2% | >90% | Myéloblastes indifférencié | - | |
| M1 | LAM peu différenciée | 20% | >90% | Myéloblastes peu différenciés Quelques granulations azurophiles | + | |
| M2 | LAM avec différenciation | 30% | 20-90% | Myéloblastes granuleux Corps d'Auer | ++ | t(8 ;21) :40% |
| M3 | LA promyélocytaire | 10% | >20% | Promyélocytes anormaux, hyper-granuleux avec corps d'Auer en fagots | +++ | t(15 ;17) :98% |
| M4 | LA myélo-monocytaire | 15% | 20-80% | Monocytose sanguine>5G/L ou médullaire>20% LAM4éo : excès médullaire d'éosinophiles anormaux Cellules monocytaires>80% dans la moelle | + | inv(16) ou t(16 ;16) :80% |
| M5 | LA monoblastique | 15% | >20% | - LAM 5a : monoblastes - LAM 5b : promonocyte | +/- | 11q23 :20% |
| M6 | LA érythroblastique | 5% | >20% | > 50% d'érythroblastes | + | |
| M7 | LA mégacaryocytaire | 2% | >20% | Mégacaryocytes plus ou moins différenciés | - | |

Cependant cette classification n'a pas de caractère pronostique hormis les entités les plus rares (LAM6, LAM7), de pronostic défavorable, et le pronostic devenu très favorable des leucémies aiguës promyélocytaires (LAM3 ou LAP) avec l'introduction de l'association de l'acide tout-*trans*-rétinoïque à la chimiothérapie intensive.

Dans un souci d'inclure le caractère pronostique et avec l'avancée des connaissances moléculaires, la classification des LAM a donc évolué en 2001 sous la direction de OMS et repose désormais sur la présence ou non d'une anomalie cytogénétique récurrente, les entités du FAB ne servant plus qu'à dissocier les LAM sans anomalie cytogénétique récurrente (15). Cette nouvelle classification (dite OMS 2001) abaissait également le pourcentage de blaste à 20% pour le diagnostic de LAM et supprimait l'entité AREB-t. En effet, les études retrouvaient le même pronostic que le taux de blastes soit supérieur à 30% ou entre 20 et 30%. Cette classification

intégrait également une anomalie cytologique non prise en compte dans la classification FAB, la dysplasie multilignée (DML), proposée comme distinguant des LAM proches des syndromes myélodysplasiques, et de pronostic inférieur aux autres LAM *de novo*.

Enfin, plus récemment, une révision de cette classification a été proposée en 2008 et tient compte des progrès de la caractérisation moléculaire des LAM. Les LAM avec mutation de *NPM1* et *CEBPA* sont considérées comme des entités provisoires. De plus cette classification étaye la catégorie de LAM à « caractère myélodysplasique » en reconnaissant des anomalies cytogénétiques évocatrices de syndrome myélodysplasique (SMD) (16).

Tableau n°3 : Classification OMS 2008 des leucémies aiguës myéloïdes et hémopathies apparentées (16)

| | | | |
|------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| LAM avec anomalies cytogénétiques récurrentes | LAM avec t(8;21)(q22;q22); <i>RUNX1-RUNX1T1</i> | | |
| | LAM avec inv(16)(p13.1q22) ou t(16;16)(p13.1;q22); <i>CBFB-MYH11</i> | | |
| | LAM avec t(15;17)(q22;q12); <i>PML-RARA</i> | | |
| | LAM avec t(9;11)(p22;q23); <i>MLLT3-MLL</i> | | |
| | LAM avec t(6;9)(p23;q34); <i>DEK-NUP214</i> | | |
| | LAM avec inv(3)(q21q26.2) ou t(3;3)(q21;q26.2); <i>RPN1-EVI1</i> | | |
| | LAM mégacaryoblastique avec t(1;22)(p13;q13); <i>RBM15-MKL1</i> <i>Entité provisoire: LAM avec mutation de NPM1 ou CEBPA</i> | | |
| LAM avec anomalies associées aux myélodysplasies | LAM secondaire à un SMD ou un SMD/SMP | | |
| | LAM présentant une dysplasie sur au moins 2 lignées | | |
| | LAM avec anomalies cytogénétiques classiquement observées dans les SMD | Anomalies déséquilibrées | Anomalies équilibrées |
| | | del(7q) ou -7 del(5q) ou -5 i(17q) ou t(17p) del(13q) ou -13 del(11q) del(12p) ou t(12p) del(9q) idic(X)(q13) | t(11;16)(q23;p13.3) t(3;21)(q26.2;q22.1) t(1;3)(p36.3;q21.1) t(2;11)(p21;q23) t(6;9)(p23;q34) inv(3)(q21q26.2) |
| caryotype complexe (≥ 3 anomalies) impliquant au moins une des anomalies sus-mentionnées | | | |
| LAM induites par un traitement | | | |
| LAM sans spécificité particulière | LAM avec différenciation minime (LAM0) | | |
| | LAM sans maturation (LAM1) | | |
| | LAM avec maturation (LAM2) | | |
| | Leucémie aiguë myélomonocytaire (LAM4) | | |
| | Leucémie aiguë monoblastique/monocytaire (LAM5a et 5b) | | |
| | Leucémie aiguë érythroblastique (LAM6) | | |
| | Leucémie érythroblastique pure (LAM6a) | | |
| | Erythroleucémie, érythroïde/myeloïde (LAM6b) | | |
| | Leucémie aiguë mégacaryoblastique (LAM7) | | |
| Leucémie aiguë à basophiles | | | |
| Panmyélose aiguë avec myélofibrose | | | |
| Sarcome granulocyttaire | | | |
| Myéproliférations des trisomies 21 constitutionnelles | Myélopoïèse transitoirement anormale | | |
| | LAM associée aux trisomies 21 constitutionnelles | | |
| Leucémie aiguë à cellules dendritiques plasmocytoïdes | | | |

IV Facteurs pronostiques

1 Facteurs pronostiques liés au patient

1.1 L'âge

L'âge croissant apparaît comme un facteur pronostique péjoratif. La plupart des études retiennent comme « âgé » un patient de plus de 60 ans (18,23–25). Au cours du vieillissement on observe une diminution du taux et de la durée de rémission complète (RC) et une augmentation du risque de décès au cours du traitement d'induction. Outre le fait que le patient âgé va présenter un état général et une tolérance à la chimiothérapie intensive souvent moins bonne que le patient plus jeune, cet impact péjoratif de l'âge semble cependant être un facteur de risque indépendant laissant supposer des facteurs biologiques liés à l'âge encore inconnu (26). De plus, il semble exister un tournant dans la présentation biologique des LAM avec l'âge (27,28). En effet, l'incidence des LAM secondaires et des caryotypes défavorables va en augmentant avec l'âge alors que parallèlement, les anomalies moléculaires favorables semblent diminuées (29).

1.2 Comorbidités

La barre des 60 ans doit cependant être modulée en fonction de l'état général des patients et un seuil de 65-70 ans est souvent retenu pour définir les patients ne recevant pas de chimiothérapie intensive. Le développement de score afin d'évaluer les comorbidités et leur impact sur le pronostic a d'abord été développé pour les allogreffes de cellules souches hématopoïétiques dont notamment une adaptation du score de Charlson (30). Ce score a depuis été évalué pour les LAM chez les sujets âgés et semble montrer une valeur pronostique au moins pour le taux de RC voir sur la survie globale (overall survival : OS) (31,32). Le développement de score de comorbidités semble ainsi essentiel afin de juger au mieux les patients pouvant recevoir une chimiothérapie intensive plus qu'une barrière de l'âge.

2 Facteurs pronostiques liés à la LAM

2.1 Cytologie

a L'hyperleucocytose

L'hyperleucocytose au diagnostic apparaît dans de multiples études comme un facteur pronostique péjoratif pour la réponse au traitement, le risque relatif de rechute (RR) et la survie. De plus, l'hyperleucocytose apparaît comme un facteur de risque de décès au cours du traitement par induction (33–36). Le seuil de leucocytes varie selon les études allant de 30 000 à 100 000/mm³ (hors leucémie promyélocytaire). Dans la LAM du sujet âgé, ce facteur pronostique est également retrouvé dans de nombreuses séries (37–39).

b Dysplasie multilignée (DML)

La DML est définie sur le plan cytologique comme la présence d'une dysplasie sur plus de 50% des cellules d'au moins deux des trois lignées hématopoïétiques (granuleuse, érythroïde, et mégacaryocytaire). Cette notion a été prise en compte dans les classifications OMS, l'existence d'une DML apparaissant comme facteur pronostique péjoratif indépendant dans plusieurs études (40–42). Cependant, de manière plus récente et dans des séries de patients plus grandes, cette valeur pronostique n'est pas retrouvée indépendante de l'âge, de la cytogénétique et du caractère secondaire de la LAM (43,44).

2.2 LAM secondaires

On appelle LAM secondaires en opposition aux LAM *de novo* soit les LAM induites par un traitement par chimiothérapie ou radiothérapie (LAM-t), soit l'évolution d'un SMD ou plus rarement d'un syndrome myéloprolifératif (SMP). L'incidence des LAM secondaire augmente avec l'âge. Ainsi dans l'essai anglais MRC 10th AML (45) chez les patients de 55 ans et moins, 7% des LAM étaient secondaire contre 25% chez les patients de plus de 60 ans dans 3 essais multicentriques (46–48). Les LAM secondaires se distinguent des formes *de novo* par leur pronostic péjoratif (49). Pour ces deux raisons, elles sont souvent exclues des essais

thérapeutiques. Afin de valider les facteurs pronostiques connus (cytogénétiques et marqueurs moléculaires), un score pronostique propre au LAM secondaires a récemment été publié (50) et prend en compte outre l'âge, la cytogénétique également la numération plaquettaire au diagnostic ainsi que le statut NPM1.

a LAM induite par les traitements (LAM-t)

Les LAM-t compliquent un traitement par agent cytotoxique tel les alkylants ou les inhibiteurs de topo-isomérase II (51) et/ou radiothérapie (52). La nouvelle classification OMS 2008 (16) ne fait plus de distinction entre les LAM induites par un traitement par alkylant qui se déclarent dans les 5 à 7 ans après et sont souvent associées à des anomalies des chromosomes 5 et 7, et celles induites par les inhibiteurs de topo-isomérase II (anthracyclines, étoposide), de survenue plus précoce (1 à 5 ans) et présentant fréquemment des réarrangements en 11q23 impliquant MLL ou des translocations équilibrées (t(15 ;17), t(8 ;21))(51). Les LAM induites sont souvent associées à des anomalies cytogénétiques défavorables mais le caractère induit constitue à lui seul un facteur pronostique péjoratif (49,53).

b Transformations de syndromes myélodysplasiques

Environ 30% des patients présentant un SMD ont une maladie qui évolue vers une LAM, avec un risque variable selon leur groupe pronostique (54,55). Il s'agit essentiellement des AREB-2 et des SMD avec des anomalies cytogénétiques de mauvais pronostic telle la monosomie 7, la trisomie 8 ou la délétion du bras court du chromosome 17 (56). Par ailleurs, les LAM post SMD surviennent chez des patients plus âgés comparativement aux LAM *de novo* et ont des taux de RC inférieurs du fait d'une fréquence accrue de chimiorésistance (39,57).

c Transformations de syndromes myéloprolifératifs *BCR-ABL* négatifs (SMP)

Ces formes représentent un sous groupe minoritaire dont la physiopathologie, la fréquence et les facteurs pronostiques sont peu connus du fait de leur faible représentation dans les essais cliniques. Les traitements reçus au cours de la phase chronique (alkylants, phosphore radioactif, hydroxyurée) et la biologie du SMP sous-jacent semble intervenir de manière indépendante dans

la transformation. Leur pronostic est particulièrement défavorable avec une médiane de survie à 5 mois dans une série de 74 patients (58) avec 58% des patients traités de manière intensive. Seuls les patients allogreffés semblent avoir une survie augmentée.

2.3 Cytogénétique

La cytogénétique au diagnostic apparaît à l'heure actuelle comme le facteur pronostique le plus important non seulement sur la RC mais également sur la survie globale (*overall survival*, OS). Les anomalies cytogénétiques sont retrouvées dans 55% des LAM au diagnostic chez l'adulte (59). L'influence majeure de la cytogénétique conventionnelle a été établie dans de nombreuses études de grandes cohortes de patients (tableau n°4) (35,36,60). Ces études ont permis une stratification en groupes pronostiques : favorable, intermédiaire et défavorable, qui permettent de guider la thérapeutique.

Tableau n°4 : Classification pronostique des LAM selon la cytogénétique conventionnelle selon les principaux essais

| Groupe Pronostique | MRC révisée (60) | SWOG/ECOG(36) | CALGB 8461(35) |
|-----------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Favorable | t(8;21) t(15;17) inv(16) / t(16;16) | - t(8;21) isolée - t(15;17) isolée - inv(16) / t(16;16) | - t(8;21) - t(15;17) - inv(16) / t(16;16) |
| Intermédiaire | - Caryotype normal - autre anomalie non classée favorable ou défavorable | - Normal - -Y - + 6 - + 8 - del(12p) | - Normal - -Y - del(5q) - t(6;9) - t(6;11), t(11;19) - del(7q) / -7 - +8 , + 11, +13, +21 - del(9q), del(11q) - del(20q) |
| Défavorable | - caryotype complexe ≥ 4 anomalies - abn(3q) [exclue t(3;5)], - inv(3)/t(3;3), - add(5q)/del(5q)/-5, - add(7q)/del(7q)/-7 (à l'exclusion des associations avec caryotype favorable), - t(6;11), t(10;11), - t(11q23) [exclues t(9;11) et t(11;19)], - t(9;22), -17/abn(17p), | - Complexe ≥ 3 anomalies - inv(3q) - del (5q) / -5 - del (7q) / -7 - 11q23 - t(9;22), t(6;9) - del(9q), del(17p) - 20q, 21q | - Complexe ≥ 3 anomalies - inv(3) ou t(3;3) - del(12p) |

La fréquence des cytogénétiques défavorables augmente avec le vieillissement, notamment *via* une augmentation du nombre de délétions au sein des caryotypes complexes (61). De même que pour les sujets jeunes, des stratifications pronostiques cytogénétiques ont été établies par différents groupes collaboratifs pour les patients de plus de 60 ans (23,24,61). L'impact pronostique majeur de la cytogénétique au diagnostic persiste chez les sujets âgés.

L'analyse des essais MRC AML11 et LRF AML14 ayant inclus un total de 2 483 patients de plus de 60 ans a permis de proposer un index pronostique chez les sujets âgés établi sur la cohorte de l'essai AML11 et validé sur celle de l'essai AML14 (62). Ce score était testé à la fois pour le traitement intensif et non. Le score pronostique prend en compte la catégorie d'âge, le caractère *de novo* ou secondaire de la LAM, le *performans status* (PS), l'importance de la leucocytose et la cytogénétique au diagnostic. En fonction de ces caractéristiques sont distingués 3 groupes, de bon pronostic, de pronostic standard et de mauvais pronostic. Le seul fait d'avoir une cytogénétique défavorable exclut le patient du groupe de bon pronostic, et l'association à un seul critère autre (âge \geq 65 ans, PS \geq 1, GB \geq 10 G/L ou LAM secondaire) le classe dans le groupe de mauvais pronostic avec une survie à 1 an de 16%.

De manière récente, les caryotypes monosomaux apparaissent comme critère principal de mauvais pronostic cytogénétique avec une valeur pronostique plus forte que la complexité du caryotype. Ils sont définies par la présence d'une monosomie (hormis la perte du chromosome X ou Y) associée à au moins une monosomie additionnelle ou à une anomalie chromosomique structurale (à l'exclusion de LAM-CBF (core binding factor) et t(15 ;17).

Ainsi, dans l'étude de Breems *et al*, les patients présentant un caryotype complexe sans caryotype monosomal ont une OS à 4 ans de 26% et seulement de 3% en cas de caryotype monosomal associé (63). Cet effet négatif est également retrouvé dans des cohortes de patients âgés (64). De manière plus récente, l'impact de la présence d'un caryotype monosomal sur la survie globale après une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH) a été étudié dans une méta-analyse et montrait un bénéfice très restreint de l'allogreffe de CSH (65).

2.4 Biologie moléculaire

a **Mutations validées dans la classification pronostique de l'European LeukemiaNet (ELN)**

Le caryotype fournit donc une information pronostique très importante pour le choix du traitement. Cependant, 40 à 50 % des LAM de l'adulte sont à caryotype normal et sont classées en pronostic intermédiaire malgré une grande disparité de réponse (59). Ces dernières années, des progrès importants ont été réalisés dans la caractérisation moléculaire des LAM (66) permettant une stratification pronostique moléculaire et guider ainsi les décisions thérapeutiques dont l'allogreffe de CSH en première rémission complète (RC1) (67,68).

i *Mutations de NPM1*

Le gène *NPM1* (nucleophosmine 1) localisé en 5q35 code pour une protéine chaperone nucléolaire exerçant un rôle dans la biogénèse des ribosomes, le maintien du centrosome lors des mitoses et le maintien de la stabilité de gènes suppresseur de tumeurs tel p53 et p14-ARF(69).

Dans 30% des LAM de l'adulte et dans environ 50% des LAM à caryotype normal, des mutations de *NPM1* (*NPM1+*) sont retrouvées (70–73). Il s'agit toujours de mutation hétérozygote et dans plus de 95% des cas de l'insertion de 4 paires de bases responsable d'une localisation cytoplasmique aberrante de cette protéine nucléolaire par création d'un motif d'export nucléaire et perte de résidus tryptophanes (70). Les LAM avec mutation *NPM1* ont une expression faible ou absente du CD34 à la surface des blastes (70,72). Elles sont associées aux mutations de *FLT3* dont notamment à une duplication en tandem de *FLT3* (*FLT3-ITD+*), présente dans 40% des mutations *NPM1* (70,71,73).

Dans de nombreuses études prenant en compte soit uniquement des LAM *de novo* soit tous types de LAM, le statut *NPM1+/FLT3-ITD-* est un facteur pronostique favorable et indépendant en terme de survie sans maladie (*disease-free survival*, DFS), de survie sans événement (*event-free survival*, EFS) et d'OS chez les patients présentant une LAM à caryotype normal (68,70,72–74). Par ailleurs, la présence de *FLT3-ITD* dans ces études inverse l'impact favorable de la mutation de *NPM1* en un facteur de mauvais pronostic. Les mutations de *NPM1* sont stables au cours de l'évolution de la maladie et permettent le suivi de la maladie résiduelle par PCR quantitative (75,76)

La fréquence et l'impact pronostique de *NPM1* sont débattus au sein des LAM à caryotype normal du sujet âgé. Pour certaines études, la présence d'une mutation de *NPM1* indépendamment du statut *FLT3-ITD* sont associées à des taux de RC supérieurs et ont un bénéfice en terme de OS (77,78). Une autre étude menée par Scholl S. *et al* n'a pas retrouvé cet impact favorable mais l'effectif était plus restreint (79).

ii Mutations de *CEBPA*

Le gène *CEBPA* (CCAAT/enhancer-binding protein) est localisé en 19q13.1, et appartient à une famille impliquée dans la balance entre prolifération et différenciation terminale. Il code pour un facteur de transcription particulièrement exprimé par les précurseurs myélo-monocytaires. Ce facteur de transcription joue un rôle essentiel à l'engagement dans la lignée granuleuse et la différenciation terminale des polynucléaires neutrophiles par une régulation de *c-Myc* et une action synergique de *PU-1* (80–82). Les mutations de *CEBPA* peuvent être divisées en 2 catégories : une mutation N-terminale conduisant à une forme tronquée de 30 kDa qui exerce un effet dominant négatif sur l'isoforme active de 42 kDa ; ou une mutation en C-terminale qui entraîne une altération de la lésion à l'ADN ou de la dimérisation (83). Certains patients présentent des mutations isolées mono-alléliques, d'autres des mutations multiples, bi-alléliques ou sur le même allèle.

Les mutations de *CEBPA* sont observées dans environ 10 % des LAM (68,80,84). Les mutations *CEBPA* sont retrouvées essentiellement dans les LAM à caryotype normal. Les mutations de *CEBPA* dans les LAM à caryotype normal sont un facteur indépendant de bon pronostic en terme de EFS, DFS et d'OS (84,85). Ce pronostic favorable semble cependant n'être observé qu'en cas de mutation bi-allélique, la mutation mono-allélique n'ayant pas d'impact pronostique dans certaines études (86–88). Par ailleurs de manière plus récente, la présence de la mutation de *CEBPA* de manière mono-allélique a montré un avantage en terme de OS en association à la mutation *NPM1* (89). Cette donnée montre la grande hétérogénéité des mutations de *CEBPA* et nécessitera d'être confirmée.

Les mutations de *CEBPA* semblent de fréquence identique chez les patients âgés (90) mais l'impact pronostique n'est pas été exploré à ce jour.

Le gène *FLT3* (FMS-like tyrosine kinase 3) localisé en 13q12 code pour un récepteur de type tyrosine kinase de classe III. *FLT3* est normalement exprimé par les progéniteurs myéloïdes et lymphoïdes et son expression diminue avec la différenciation. *FLT3* joue un rôle important dans la prolifération, la survie et la différenciation des progéniteurs hématopoïétiques multipotents et son expression est augmentée dans les blastes myéloïdes (91). Les mutations de *FLT3* sont retrouvées dans 25 à 45% des LAM. Les anomalies sont de deux types.

L'anomalie la plus fréquente est une duplication en tandem (*FLT3-ITD*) de 3 à plus de 400 acides aminés localisés dans les exons 14 et 15 codant pour le domaine juxta-membranaire (66,91). Cette anomalie est retrouvée dans 20 à 30% des LAM (92–94).

La deuxième est une mutation ponctuelle (*FLT3-TKD*) non sens, dans l'exon 20 au sein de la boucle d'activation du domaine tyrosine kinase (codon D835 et I836 essentiellement) (91,95). Cette anomalie est présente dans 5 à 10% des LAM (91,93,95). *FLT3-ITD* et *FLT3-TKD* sont rarement associées. Ces mutations vont entraîner dans la cellule leucémique une phosphorylation constitutive du récepteur et une activation des voies de signalisation en aval notamment des voies *Pi3K/AKT* et *JAK2/STAT5*, provoquant une augmentation de la survie et de la prolifération des cellules blastiques.

Les mutations de *FLT3* sont plus fréquemment retrouvées dans les LAM de novo, les LAM à caryotype normal et dans les t(15;17) pour *FLT3-ITD*. La présence de *FLT3-ITD* est un facteur pronostique péjoratif retrouvé dans de nombreuses études pour l'OS, la DFS et le RR sans impact sur l'obtention d'une RC (92,93,96,97). Le niveau d'expression de *FLT3-ITD+* par rapport à l'expression de l'allèle *FLT3* sauvage (*FLT3-WT*) est variable selon les patients. L'importance du ratio entre *FLT3-ITD* et *FLT3-WT* apparaît comme un facteur pronostique indépendant en terme d'OS et de RR (94,98,99). Par ailleurs, la longueur de la duplication a été proposée comme facteur pronostique par Stirewalt *et al* (100) mais n'a pas été confirmée par d'autres équipes (98). La fréquence de *FLT3-ITD* semble identique chez le patient de plus de 60 ans (25 à 35%) (78,101). En revanche, l'impact sur l'OS et la DFS clairement établi pour le sujet jeune n'est pas retrouvé chez le sujet âgé (78,79,101,102).

La valeur pronostique de *FLT3-TKD* est moins établie et reste controversée. Certaines études retrouvent un impact péjoratif sur la DFS (95,103), d'autres ne retrouvent pas d'impact (93) et une autre retrouve un impact pronostique favorable sur l'OS pour les LAM *FLT3-TKD* (104). Cette

difficulté à établir l'impact pronostique vient probablement du fait que la mutation dans le domaine tyrosine kinase est nettement moins fréquente que la duplication en tandem, rendant les effectifs plus faibles.

iv *Anomalies de MLL*

Le gène *MLL* (mixed-lineage leukemia) localisé en 11q23 code pour une histone méthyltransférase spécifique de la lysine 4 de histone H3 qui permet la régulation positive de plusieurs gènes dont notamment les gènes de la famille HOX (105). Des translocations impliquant *MLL* ont été décrites dans les leucémies aiguës avec plus de 70 gènes partenaires, avec notamment les t(9;11) et (6;11) correspondant aux réarrangements *MLLT3-MLL* (*MLL-AF9*) et *MLLT4-MLL* (*MLL-AF6*) fréquemment retrouvés dans les LAM (106). De plus, Caligiuri *et al* ont mis en évidence des réarrangements en 11q23 en l'absence d'anomalie du caryotype (107). Il s'agit de duplications en tandem partielles (PTD) des exons 5 à 11 qui s'insèrent au sein de l'intron 4 et qui aboutit à une protéine fonctionnelle de plus grande taille (67). La présence de *MLL-PTD* inhibe l'expression de l'allèle sauvage par régulation épigénétique (108). Cette anomalie est retrouvée dans 3 à 10% des LAM à caryotype normal et est associée significativement à la présence de *FLT3-ITD* (109–111). Sa présence ne semble pas influencer le taux de RC mais diminue sa durée avec RR élevé, une EFS et une RFS plus courte (109–111).

v *Surexpression d'EVII*

Le gène *EVII* (ecotropic viral integration site 1) localisé en 3q26 code pour un facteur de transcription zing finger agissant comme répresseur. Des anomalies d'expression de *EVII* sont retrouvées dans les LAM présentant des anomalies cytogénétiques de la région 3q26 comme l'inv(3)(q21q26.2) ou la t(3;3)(q21;q26) qui sont de pronostic défavorable (112). La surexpression d'*EVII* est retrouvée également en l'absence d'anomalie en 3q23 (20,113). Cette surexpression est retrouvée dans 5 à 10% des LAM. Elle est statistiquement associée à des anomalies cytogénétiques comme la monosomie 7 ou des anomalies de la région 11q23 (112,113). Les LAM avec surexpression de *EVII* sont de pronostic défavorable avec des taux de RC plus faible, une EFS, une DFS et une OS plus courte (20,112,113). Le mécanisme par lequel la surexpression de *EVII* participe à leucémogénèse est non élucidé à ce jour. Cependant, la voie d'anomalies épigénétiques semble importante : des études récentes ont en effet montré des interactions entre

EVII et les DNMT3 ainsi qu'une hyperméthylation de plusieurs gènes en cas de surexpression d'*EVII* (114).

b Classification pronostique actuelle de ELN

Afin d'homogénéiser les différentes études et d'intégrer les données moléculaires aux données cytogénétiques en terme pronostique, un groupe d'expert sous l'égide de l'ELN a proposé une nouvelle classification pronostique présentée dans le tableau si dessous (18)

Tableau n°5 : Classification pronostique des LAM de l'ELN (18)

| Groupes pronostiques | Caractéristiques |
|-----------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Favorable | t(8;21)(q22;q22); <i>RUNX1-RUNX1T1</i> inv(16)(p13.1q22) ou t(16;16)(p13.1;q22); <i>CBFB-MYH11</i> Mutation <i>NPM1</i> sans <i>FLT3-ITD</i> (caryotype normal) Mutation <i>CEBPA</i> (caryotype normal) |
| Intermédiaire I | Mutation <i>NPM1</i> et <i>FLT3-ITD</i> (caryotype normal) <i>NPM1</i> sauvage et <i>FLT3-ITD</i> (caryotype normal) <i>NPM1</i> sauvage sans <i>FLT3-ITD</i> (caryotype normal) |
| Intermédiaire II | t(9;11)(p22;q23); <i>MLLT3-MLL</i> Anomalies cytogénétiques non classées comme favorables ou défavorables |
| Défavorable | inv(3)(q21q26.2) ou t(3;3)(q21;q26.2); <i>RPN1-EV11</i> t(6;9)(p23;q34); <i>DEK-NUP214</i> t(v;11)(v;q23); réarrangement <i>MLL</i> -5 ou del(5q); -7; abn(17p); caryotype complexe (≥ 3 anomalies à l'exclusion des anomalies récurrentes de la classification OMS) |

De multiples nouvelles mutations dans les LAM ont été mises en évidence et seront présentées ci-dessous. Leur impact pronostic est actuellement à l'étude. Celles-ci viendront peut-être compléter cette classification.

c Mutations en cours de validationi *Mutations de TP53*

Le gène *TP53* est un gène suppresseur de tumeurs localisé en 17p13 codant pour la protéine p53, facteur de transcription régulant les gènes du cycle cellulaire, de l'apoptose et de réparation de l'ADN (115). Les mutations de p53 sont un mécanisme très connu d'oncogénèse et la fréquence des mutations dans les LAM est d'environ 10% avec une augmentation de la fréquence en cas de LAM-t (66,116,117). Les anomalies du gène dans les LAM peuvent être des mutations ponctuelles ou des délétions impliquant l'exon 4-8. La fréquence est augmentée chez le sujet âgé et dans les LAM avec anomalies caryotypiques de type del(17p), -5, -7, les caryotypes monosomaux et surtout dans les caryotypes complexes où la fréquence de mutations atteint 50 à 70% (116,118,119). La mutation TP53 apparaît aujourd'hui dans plusieurs études comme un facteur de très mauvais pronostic (116,119,120).

ii *Mutations de Ras*

Les gènes *RAS* (*N-RAS*, *K-RAS* et *H-RAS*) codent pour une famille de protéines à activité GTP-asiqque qui régulent la transduction du signal en se liant à des récepteurs membranaires comme c-Kit ou Flt3 et jouent un rôle important dans la prolifération, la différenciation et l'apoptose (66). Des mutations ponctuelles activatrices de *N* et *K-RAS* sont retrouvées dans environ 10% et 5% respectivement des LAM. Ces mutations sont fréquemment associées au LAM avec inv(16)/t(16;16) et inv(3)/t(3;3) (121,122). Alors que les mutations de *N-RAS* sont significativement associées à la progression des SMD en LAM (123), les mutations de *N* et *K-RAS* ne présentent pas d'impact pronostique dans les LAM selon les différentes études menées à ce jour (121,122).

iii *Mutations de DNMT3A*

Le gène *DNMT3A* (DNA-méthyltransférase 3A) en 2p23 code pour une enzyme de la famille des Méthyltransférases responsable de la méthylation de l'ADN en catalysant le transfert d'un groupement méthyl en position 5' d'une cytosine d'un dinucléotide CpG (124). Grâce au séquençage haut débit, Ley *et al* (125) ont mis en évidence l'existence de mutation de *DNMT3A* dans les LAM *de novo*. Les mutations *DNMT3A* sont retrouvées dans 14 à 20% des LAM *de novo* (125–127), et essentiellement dans les LAM de cytogénétique intermédiaire. Les mutations *DNMT3A* sont associées à un âge plus élevé (126), un taux de leucocyte plus important, une fréquence des mutations *NPM1*, *FLT3* et *IDH1* plus importante (125,126). Les mutations *DNMT3A* sont retrouvées comme un facteur indépendant de mauvais pronostic concernant la survie globale dans les LAM *de novo* (125,126,128).

iv *Mutations d'IDH1 et IDH2*

Les mutations *IDH1* et *IDH2* ont d'abord été mises en évidence dans les gliomes avec un facteur pronostic favorable (129). Grâce au séquençage haut débit, ces mutations ont été également retrouvées dans les LAM (130).

IDH1 (isocitrate deshydrogenase 1) en 2q34 code pour une protéine cytosolique catalysant la décarboxylation oxydative de l'isocitrate en α -cétoglutarate. Des mutations hétérozygotes touchant l'arginine 132 sont retrouvées dans environ 5 à 10% des LAM avec une fréquence plus importante retrouvée dans toutes les études dans les LAM de cytogénétique intermédiaire et les LAM à caryotype normal (131–133). Les mutations *IDH1* sont retrouvées dans les LAM de patients plus âgés et associées aux mutations *NPM1*. L'impact pronostic n'est pas clairement établi à l'heure actuelle, ce d'autant qu'il existe un manque d'homogénéité entre les études actuelles. Certaines qui ne s'intéressent qu'au LAM *de novo*, retrouve un impact pronostic péjoratif en terme de survie sans progression uniquement pour les patients du groupe moléculaire ELN favorable (131,132). Une étude allemande de plus grand effectif mais incluant les LAM secondaires retrouve cette impact pronostic sur la survie sans progression quelque que soit le statut génétique et moléculaire (133).

IDH2 (isocitrate deshydrogénase 2) localisé en 15q26 code pour une protéine mitochondriale homologue d'*IDH1*. La mutation la plus fréquemment étudiée est sur l'arginine 172 de manière hétérozygote retrouvée dans environ 3% des LAM *de novo* mais la plus fréquente se trouve sur l'arginine 140 (131,132). Les mutations *IDH1* et *IDH2* sont mutuellement exclusives. Les mutations *IDH2* sont significativement associées aux LAM à caryotype normal, un âge plus avancé, à un taux de leucocytes moins important et à une absence de mutation associée (131,132). Les patients avec mutation *IDH2* (R172) obtiennent des taux de RC plus faible que les patients sauvages, témoignant de l'acquisition d'une certaine chimiorésistance (131,132). La mutation R140 n'a par ailleurs pas d'impact pronostic prouvé à l'heure actuelle (131).

L'impact pronostic d'*IDH1* et d'*IDH2* est discuté chez le patient âgé et non retrouvé dans l'étude du CALGB (131).

v Mutations de *TET2*

TET2 (Ten Eleven Translocation 2) localisé en 4q24 code pour une enzyme catalysant grâce à l' α -cétoglutarate, l'hydroxy-méthylation d'une cytosine en position 5', étape nécessaire à la déméthylation de l'ADN (134). Récemment, des mutations de ce gène ont été identifiées dans 20% des SMD et LAM secondaires, dans 14% des SMP et 12% des LAM *de novo* (135,136). Les mutations sont très hétérogènes (non sens, faux sens, décalante ou d'épissage). Les mutations *TET2* sont associées à un âge plus avancé, une leucocytose plus importante et sont mutuellement exclusive des mutations d'*IDH1* et *IDH2* (137,138). L'impact pronostic est actuellement très controversé. Nibourel *et al* ne retrouve pas d'impact pronostic dans une cohorte de 111 LAM à caryotype normal ayant obtenu une RC (139). Deux autres études avec des cohortes de LAM *de novo*, retrouve un impact pronostic, pour l'une dans les LAM à caryotype normal et surtout pour les patients de moins de 65 ans en terme d'EFS (138), et pour l'autre uniquement dans les LAM à risque moléculaire ELN favorable avec un impact pronostic péjoratif de la mutation en terme de taux de RC, de DFS, d' EFS et d'OS(137).

vi *Mutations de ASXL1*

ASXL1 (additional sex comb-like 1) localisé en 20q11 est un gène d'une famille de trois membres codant pour le complexe polycomb et MLL/trithorax impliqué dans la modification de la chromatine (140). Des mutations du gène *ASXL1* sont retrouvées dans 5 à 25% des LAM (116,141–145). La mutation la plus fréquemment retrouvée et validée, est celle au sein de l'exon 12 responsable d'une protéine tronquée de son domaine PHD (plant homeodomain). La fréquence est augmentée chez les patients âgés et cette mutation est très rarement associée à celle de NPM1 ou à la présence de FLT3-ITD (141,143,144). La fréquence semble accrue parmi le groupe de cytogénétique intermédiaire et particulièrement avec une trisomie 8 isolée (116,141,143,145). L'étude de l'impact pronostic est récente et reste à valider. Cependant, actuellement plusieurs études portant sur un nombre conséquent de patients mettent en évidence un impact pronostic péjoratif sur OS (116,145,146).

vii *Mutations de EZH2*

Le gène *EZH2* (enhancer of zeste homolog 2) en 7q35-q36 code pour la sous-unité catalytique du complexe polycomb répresseur 2, responsable de la triméthylation de l'histone H3 sur la lysine 27 (H3K27) impliquée dans la régulation épigénétique des gènes du cycle cellulaire (147). Par des méthodes de séquençage haut débit d'échantillon ADN de patients présentant une atteinte du chromosome 7 et en prenant pour hypothèse l'existence d'une disomie uniparentale, des mutations de *EZH2* ont été retrouvées chez des patients présentant des SMD, des SMP et des LAM (148,149). A l'inverse certaines études retrouvent une augmentation de l'expression de *EZH2* dans les pathologies myéloïdes (150,151). Le gène *EZH2* fonctionne donc à la fois comme un oncogène et un gène suppresseur de tumeurs selon le contexte. Son rôle et son impact pronostique reste à explorer dans les LAM.

Le gène *RUNX1* (Runt-related transcription factor 1) localisé en 21q22 code pour une des deux unités du CBF et est exprimé dans les lignées hématopoïétiques responsable de la régulation de plusieurs gènes impliqués dans l'hématopoïèse (152). Des anomalies de *RUNX1* sont observées dans les leucémies aiguës avec notamment des translocations comme la t(8 ;21) responsable du transcrit de fusion *AML1-ETO*. Des mutations acquises ponctuelles sont retrouvées dans environ 10% des LAM. Elles touchent généralement le domaine *RUNT* qui permet la dimérisation de *RUNX1* avec *CBFβ* et la liaison à l'ADN. Elles sont fréquemment retrouvées dans les LAM0 (153), les LAM secondaires aux SMD ou les LAM-t (154,155). De manière plus récente, de nombreuses études ont pu mettre en évidence l'existence de mutations de *RUNX1* dans les LAM *de novo*. Elles sont plus fréquentes chez le sujet âgé et dans le groupe de cytogénétique intermédiaire (156,157). Elles sont associées à la présence de *MLL-PTD* et exclusive des mutations de *NPM1* (156–159). En analyse univariée, toutes les études s'accordent à retrouver un impact pronostique péjoratif sur l'obtention d'une RC, sur l'EFS la DFS et l'OS (116,156,157,159,160). En analyse multivariée, les résultats sont plus hétérogènes mais la présence de mutations de *RUNX1* semble être un facteur prédictif péjoratif sur la survie globale (116).

3 Facteurs pronostiques liés aux traitements

L'obtention d'une RC à l'issue d'une première induction constitue un facteur pronostique essentiel pour la DFS et l'OS (161). De plus malgré l'existence de progrès thérapeutique, la fréquence des rechutes demeure élevée et la réponse au traitement des rechutes décevante.

V Traitements

L'identification de l'ensemble de ces facteurs pronostiques a pour but d'améliorer la prise en charge des patients en adaptant la thérapeutique au risque individuel. Ainsi l'ELN a défini avec les connaissances actuelles 4 groupes permettant d'orienter la thérapeutique avec cependant la nécessité de prendre en compte en premier lieu l'âge du patient.

1 Traitement du patient de moins de 60 ans

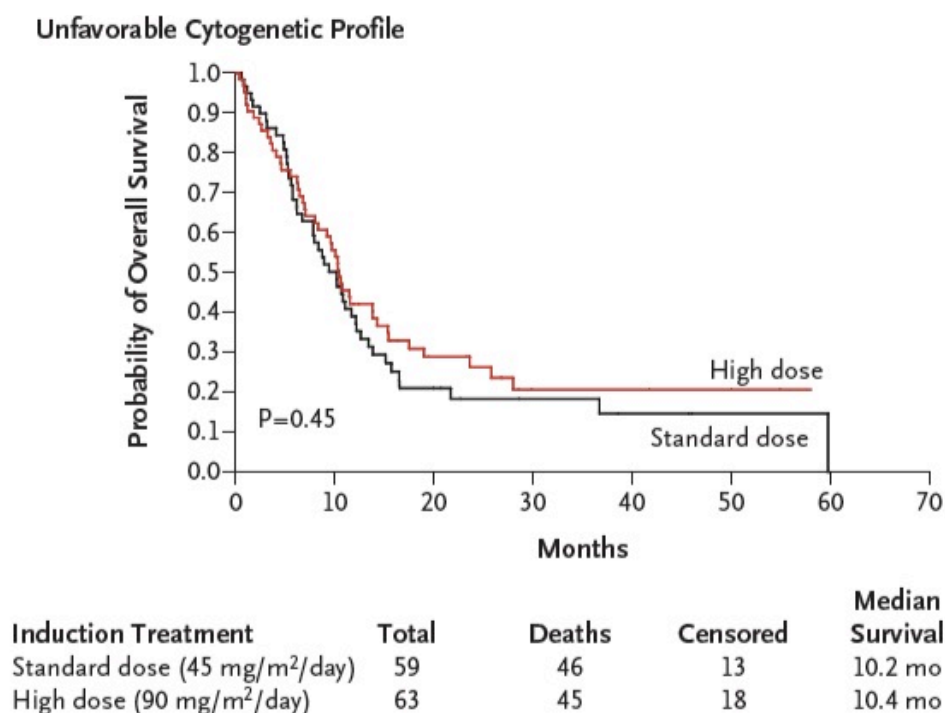
1.1 Traitement en première ligne

Pour les patients aptes à recevoir de la chimiothérapie intensive, le traitement va comprendre un traitement d'induction suivi d'un traitement de consolidation.

a Traitement induction

Trois jours anthracycline associés à 7 jours d'aracytine (100 à 200 mg/m²) en perfusion continue permet d'obtenir des taux de RC dans 60 à 80% chez les patients les plus jeunes et 40 à 60% de RC chez les patients plus âgés. Ce traitement doit être débuté dans les cinq jours qui suivent le diagnostic (162). La dose de daunorubicine requise était de 45 à 60 mg/m². Récemment, l'utilisation de fortes doses de daunorubicine (90 mg/m²) a permis d'augmenter significativement les taux de RC et la survie globale sans augmentation de la toxicité chez les patients de moins de 50 ans (163). Cette amélioration n'est pas retrouvée cependant chez les patients de plus de 50 ans, ayant une mutation de type *FLT3-ITD* ou *MLL-PTD*, et surtout présentant une cytogénétique défavorable (figure n°3).

Figure n°3: Survie Globale dans les LAM de groupe cytogénétique défavorable avec anthracycline dose standard versus forte dose selon Fernandez HF *et al* (163)



Aucune autre modification dans ce schéma (association d'autre drogue, augmentation des doses d'aracytine...) n'a permis d'augmenter les taux de RC et la survie.

b Traitement de consolidation

Le traitement de consolidation est envisagé seulement en cas de RC après le traitement d'induction. Celui-ci va être réalisé en fonction des risques cytogénétiques et moléculaires, des comorbidités du patient et l'existence ou non d'un donneur HLA-compatible.

i LAM du groupe favorable

Une amélioration de la survie globale a été obtenue par l'utilisation de cycles répétés d'aracytine haute dose (ARAC HD, 3g/m²/12h) comparées à des doses intermédiaires ou standards chez les patients jeunes présentant une LAM du groupe CBF (164,165). Par extension, cette option thérapeutique est utilisée chez les patients de moins de 60 ans présentant une LAM à caryotype normal avec mutation de *CEBPA* ou *NPM1+ / FLT3-ITD-* (68).

ii *LAM du groupe intermédiaire I et II*

Pour la plupart des groupes d'experts, la consolidation par ARAC HD pour les groupes intermédiaires reste le standard de traitement (18). Cependant pour les patients FLT3-ITD, l'allogreffe de CSH en cas de donneur compatible est discutée par rapport à la chimiothérapie conventionnelle, certaines études trouvant un bénéfice et surtout devant l'absence d'alternative thérapeutique efficace (68).

iii *LAM du groupe défavorable*

L'allogreffe de CSH à conditionnement standard permet de diminuer les rechutes en associant un effet myélo-ablatif par l'utilisation de fortes doses de chimiothérapie et un effet immunologique dit du greffon contre la leucémie. Si les comorbidités du patient le permettent, l'allogreffe de CSH est recommandée en RC1 chez les patients du groupe défavorable chez qui elle permet une amélioration de l'OS et de la DFS comparativement à la chimiothérapie conventionnelle (166–168). Le développement d'allogreffe à conditionnement atténué permet d'étendre cette possibilité aux patients plus âgés.

1.2 Echec et rechute

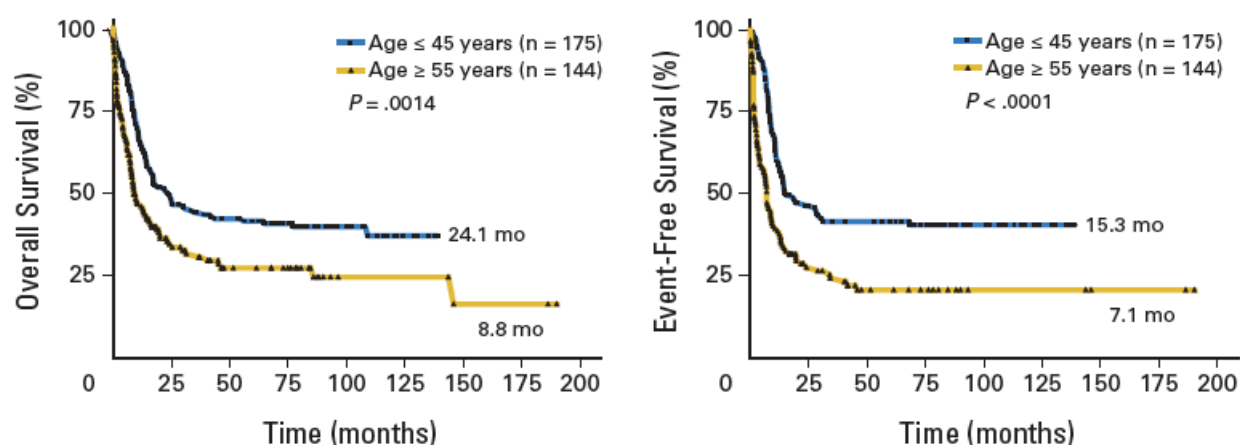
Plusieurs cas de figures peuvent se présenter mais tous autant de mauvais pronostic à savoir la possibilité d'un échec primaire du traitement d'induction ou une rechute (161,169,170). Dans ces cas là, une nouvelle induction est nécessaire afin d'obtenir une deuxième rémission complète et de proposer chaque fois que possible une allogreffe de CSH. Cependant un patient présentant une rechute dans les 6 mois, une cytogénétique défavorable et/ou un âge supérieur à 45 ans présente un pronostic médiocre nécessitant une proposition d'inclusion dans un protocole thérapeutique en fonction des possibilités (170).

Les rechutes post-allogreffe de CSH pose également plusieurs problèmes thérapeutiques et sont de mauvais pronostic. Des perfusions de lymphocytes du donneur peuvent être réalisées en cas de disponibilités et d'absence de maladie du greffon contre l'hôte. En d'impossibilité de réaliser de nouvelles chimiothérapies intensives, un traitement par azacytidine permet d'obtenir une augmentation de la survie globale (171).

2 Traitement du patient de plus de 60 ans

L'âge constitue en lui-même un facteur de mauvais pronostic avec des particularités biologiques inconnues à ce jour mais responsable d'une chimiorésistance. Plusieurs études sont réalisées afin d'identifier ces particularités biologiques avec par exemple une étude de Löwenberg *et al* mettant en évidence une plus grande activation des voies Ras, Src et TNF (tumor necrosis factor) (figure n°4) (172).

Figure n° 4: Courbes de survie en fonction de l'âge chez des patients présentant des LAM *de novo* (172)



Chez le patient de plus de 60 ans, deux problématiques se posent à savoir : d'une part est-il possible de réaliser un traitement intensif et d'autre part quel traitement proposer aux patients présentant une LAM à pronostic défavorable.

2.1 Traitement intensif

Pour les patients en bon état général et un maximum de 2 comorbidités, un traitement de type « 3+7 » avec trois jours d'anthracycline (daunorubicine 45-60 mg/m² ou équivalent) et 7 jours d'aracytine (100 à 200 mg/m²) permet d'obtenir des taux de réponse complète dans 50% des cas (173). Lowerberg *et al* ont montré un bénéfice à l'augmentation des doses de daunorubicine à 90

mg/m² en terme de taux de RC, d'EFS et d'OS dans le groupe de patients de 60 à 65 ans (174). Malgré cela, le pronostic des LAM du sujet âgé reste mauvais et le développement de nouveaux traitements reste nécessaire pour améliorer ce pronostic. Castaigne *et al* ont récemment mis en évidence une amélioration de la survie globale à 2 ans de 41,9% à 53,2% en utilisant lors du traitement d'induction et de consolidation, l'association de gemtuzumab ozogamicin. Cette amélioration n'est cependant pas retrouvée pour les LAM à cytogénétique défavorable (175). Ce résultat semble confirmé par d'autres études (176).

En terme de traitement de consolidation, il n'y a pas recommandation claire qui émane de la littérature. Plusieurs groupes ne retrouvent pas de bénéfice à une consolidation avec chimiothérapie intensive par rapport à une répétition de chimiothérapie à dose intermédiaire avec pour cette stratégie parfois un avantage en terme OS (177–179). Cependant, les LAM du sujet âgé à caryotype normal et NPM1+ semble bénéficier au contraire d'une chimiothérapie intensive (180). L'allogreffe de CSH reste à discuter chez le patient de plus de 60 ans avec le développement de conditionnement réduit (181).

2.2 Traitement des LAM à pronostic défavorable

Le traitement intensif n'a cependant pas sa place dans les LAM du sujet âgé à cytogénétique défavorable avec des taux de RC de moins de 30% et une OS très faible (24,173,182). Une analyse rétrospective de 5 essais du SWOG chez les sujets de plus de 55 ans retrouve une survie médiane de 5 mois et moins pour les patients de plus de 65 ans présentant une cytogénétique défavorable (figure n°5) (173). Ces résultats sont retrouvés et validés dans plusieurs études (figure n°6) (24,182)

Figure n°5 : OS en fonction de l'âge chez les patients avec cytogénétique défavorable (173).

Patients de moins de 56 ans (n=108) ont une survie médiane de 11 mois, patients âgés de 56 à 65 ans (n=70) ont une survie médiane de 5 mois, patients de 66 à 75 ans ont une survie médiane de 4 mois comme les patients de plus de 75 ans.

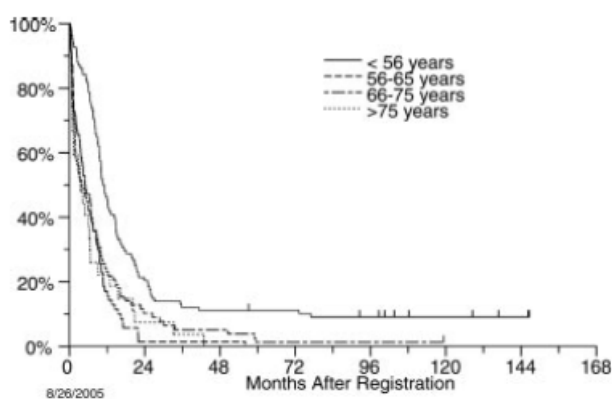
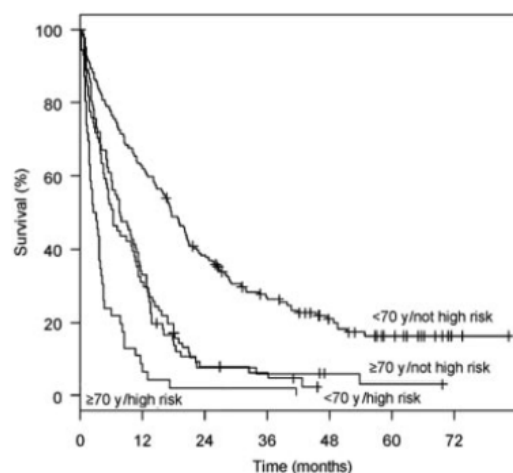


Figure n°6 : OS en fonction des groupes pronostiques cytogénétiques et l'âge (24).

Patients de moins de 70 ans et non défavorable ont une survie médiane de 17,5 mois contre 7,2 mois. Les patients de plus de 70 ans et non défavorable ont une survie médiane de 6,3 mois contre 3,1 mois pour le groupe défavorable.



Le résultat du caryotype est donc nécessaire avant de débuter un traitement intensif chez le sujet âgé ce d'autant que le délai d'initiation de la chimiothérapie ne semble pas intervenir dans le pronostic comme pour le sujet jeune (162). Pour ces patients, un traitement par agent déméthylant peut être proposé ou la participation à un protocole thérapeutique.

2.3 Traitement du sujet très âgé

La définition du sujet très âgé est difficile et dépend essentiellement des comorbidités du patient. Plusieurs études étendent leur inclusion à un traitement intensif jusqu'à 70-75 ans. Au delà, peu d'alternatives thérapeutiques sont disponibles. Une étude retrouve dans les LAM à caryotype normal une amélioration de la survie avec aracytine sous cutanée à faible dose comparée à l'hydroxyurée (183). Cependant l'aracytine à faible dose est inefficace en cas d'anomalies caryotypique. Les agents déméthylants peuvent dans ce cas là une alternative thérapeutique. Un essai comparant l'azacytidine aux autres traitements conventionnels qui auraient été choisi (soins de support, aracytine faible dose ou traitement intensif) chez des patients présentant une blastose médullaire < 30% retrouve un avantage de survie globale médiane pour l'azacytidine de 24,5

versus 16 mois. Cependant la médiane d'âge n'était pas très élevée (60 ans) et peu de patients avaient plus de 75 ans (184).

3 Agents déméthylants

3.1 Mode d'action

La 5-azacytidine ou azacytidine et la 5-aza-é'-deoxycytidine ou decitabine sont deux agents utilisées afin d'induire une déméthylation de l'ADN (figure n°7). L'azacytidine est phosphorylée et activée par l'uridine-cytidine kinase et incorporée dans l'ADN et l'ARN alors que la decitabine est activée par la deoxycytidine kinase et incorporé uniquement dans l'ADN néo-synthétisé (figure n° 8). Cette incorporation va inhiber la synthèse d'ADN et créer des liaisons covalentes avec les DNMTs qui sont piégées et détruites avec la déméthylation de l'ADN (8).

Figure n°7 : Structures de deux inhibiteurs des DNA-méthyltransférases (8)

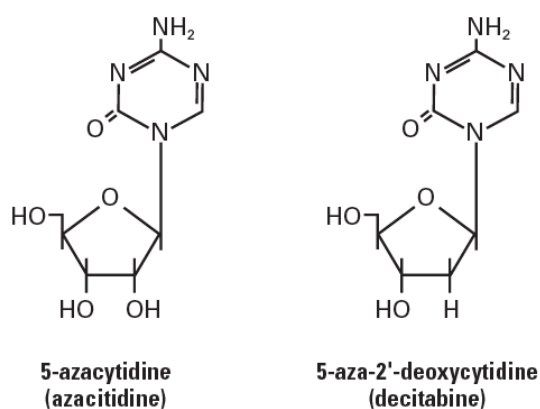
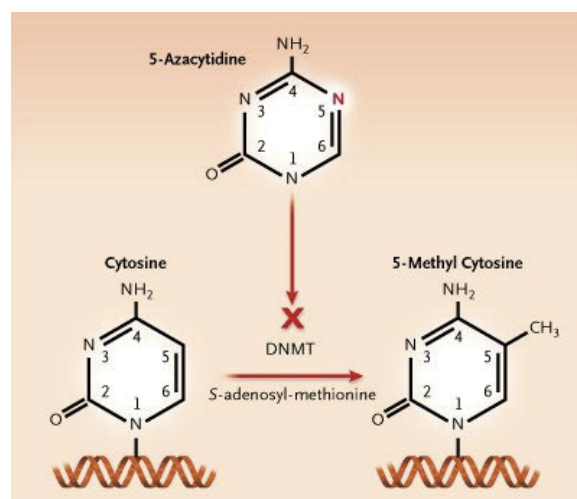


Figure n°8 : Mécanisme d'action de l'azacytidine (10)



Ces agents déméthylants ont montré une capacité anti-tumorale, favorise la déméthylation et ont montré une certaine efficacité clinique dans des essais de phase I et II (185).

La décitabine a montré dans les LAM du sujet âgé des résultats modérés dans un essai de phase II et III avec un gain de survie globale de 7,7 mois versus 5 mois en cas de traitement par soins de support ou d'aracytine sous cutanée (186,187).

3.2 Place de l'azacytidine dans le traitement de la LAM

L'azacytidine (75mg/m²/j en sous cutanée 7 jours tous les 28 jours) a fait l'objet d'un essai de phase III international et multicentrique dans les SMD de haut risque comparant son utilisation aux 3 traitements conventionnels pré-choisis par les investigateurs en fonction des patients : les soins de confort, l'aracytine sous cutanée et la chimiothérapie intensive. Il s'agissait d'un traitement de première ligne. 32% des patients avaient les critères OMS d'une LAM (AREB-t). Les résultats de l'étude retrouvaient un bénéfice en terme d'OS pour l'azacytidine comparé au groupe traitement conventionnel de 24 versus 15 mois sur survie médiane. La différence de survie n'était cependant pas significative entre l'azacytidine et la chimiothérapie intensive avec une limite sur le nombre faible de patient dans ce sous groupe (17 versus 25 patients). Par ailleurs, le bénéfice était retrouvé en comparant l'azacytidine au traitement conventionnel dans tous les sous groupes pronostiques cytogénétiques avec un avantage particulièrement significatif en cas d'anomalie du 7 (13,1 mois versus 4,6 mois) (188). Cet essai a permis l'obtention de l'autorisation de mise sur le marché de l'azacytidine pour les SMD Int-2 et haut risque ainsi que pour les LAM du sujet âgé avec une blastose médullaire de 20 à 29% de blastes.

Dans la même lignée, un essai du GFM (Groupe français des Myélodysplasies) étudiait l'efficacité de l'azacytidine dans les LAM (48%) et SMD (52%) secondaires aux SMP Bcr-Abl négatif connus pour être de mauvais pronostic. La survie globale médiane totale était de 11 mois avec des taux de réponse et une OS médiane significativement plus élevés dans le cadre des transformations de thrombocytémie essentielle (189). Ces résultats sont comparés aux résultats de la littérature qui retrouve des survies médianes avec des traitements variés pour les transformations de SMP de 2,6 à 5 mois.

L'ensemble de ces essais ont des groupes hétérogènes de patient mélangeant LAM et SMD. Quelques essais s'appliquent à évaluer l'efficacité de l'azacytidine dans les LAM. Un essai allemand de phase I/II incluait 40 patients avec une médiane d'âge de 72 ans présentant une LAM en 1^{ere} ligne pour les 20 patients ne pouvant recevoir une chimiothérapie intensive ou pour les 20

patients présentant une LAM réfractaire. La médiane de blastes médullaires était de 41%. Après un suivi médian de 13 mois le taux de réponse globale était de 30 % pour l'ensemble des patients et de 50% pour la catégorie traitée en 1^{ere} ligne avec un temps de réponse médian de 4 mois et une OS médiane pour l'ensemble des patients de 7,7 mois (190). Une étude rétrospective italienne analyse les données de 80 patients ayant reçu de l'azacytidine pour une LAM dans le cadre de l'autorisation temporaire de mise sur le marché. Le taux de réponse globale était de 32% avec un temps médian réponse de 5 mois et une OS médiane de 9 mois et à 1 an de 38% (191).

3.3 Les associations

Devant ces résultats modestes, des associations avec azacytidine sont testées afin de tenter d'augmenter son efficacité. Les données de la littérature sont essentiellement des essais de phase I/II.

Une des premières associations avec azacytidine à avoir été testée, est l'utilisation d'un inhibiteur des histones déacétylases : l'acide valproïque avec ATRA dans l'idée d'obtenir une synergie dans les mécanismes épigénétiques d'ouverture du génome et ainsi favoriser une sensibilisation pour la maturation à l'ATRA. Deux essais avec une cinquantaine de patients retrouvaient un taux de réponse globale de 26 à 40% (192,193). Les 2 essais utilisaient ATRA de manière différente qui ne semblait pas apporter un gain d'efficacité. La survie médiane était de 13,4 mois et pour les patients atteignant 6 cures, il n'y avait pas de différence de survie entre les répondeurs et les non répondeurs (193). Mais ces résultats méritent d'être vérifiés dans des essais de phase III.

Un autre essai testait l'efficacité de l'association de l'azacytidine avec le gemtuzumab ozogamicin injecté au 8^e jour. L'hydroxyurée était utilisée en cas de leucocytose $> 10\,000/\text{mm}^3$. Les taux de RC après 2 cycles étaient de 70% sur 20 patients inclus. La médiane de survie globale était de 10 mois avec malheureusement une sortie de l'essai pour les patients n'atteignant pas la RC après les 2 cycles et avec un maximum pour ceux qui atteignaient la RC de 3 cures de consolidation (194).

Dernièrement, deux essais de phase 2 testaient la tolérance et l'efficacité du lenalidomide en association avec l'azacytidine. Cette association semble bien tolérée avec des taux de réponse globale d'environ 30%. Mais le nombre de patients étaient limités et le suivi médian trop court pour juger de l'efficacité (195,196).

3.4 Les effets secondaires

Les effets secondaires de grade 3 ou 4 les plus fréquemment retrouvés étaient une toxicité hématologique sur les plaquettes et les neutrophiles et parmi les toxicités non hématologiques les épisodes infectieux.

Dans l'essai de phase III, les taux de toxicité de grade 3 ou 4 sur les neutrophiles et les plaquettes atteignaient 91% et 85% respectivement. Sur les 20 patients décédés dans les 3 mois après le début du traitement, 2 sont décédés de sepsis et 2 d'hémorragie (188). Ces résultats sont retrouvés dans les autres essais avec des taux de toxicités grade 3-4 aux alentours de 70% sur les plaquettes et 60% sur les neutrophiles. Les infections de grade 3 et plus semblent survenir dans environ 20 % des cas (190,191).

3.5 Les facteurs pronostiques de réponse

Itzykson *et al* ont réalisé une analyse des facteurs pronostiques de réponse sur 282 patients traités par azacytidine au sein de l'autorisation temporaire d'utilisation (ATU). Il s'agissait de patients présentant des SMD intermédiaire 2 ou haut risque ainsi que 22% d'entre eux une LAM avec une blastose médullaire de 20 à 29% de blastes. 4 critères ressortaient comme prédictif d'une OS plus courte à savoir un ECOG ≥ 2 , un besoin transfusionnel ≥ 4 unités/8 semaines, une cytogénétique défavorable et la présence de blastes circulants (197). Cependant la cohorte ne comprenait que 22% de LAM peu prolifératives.

a Facteur pronostique clinique

Dans les essais testant l'azacytidine dans les LAM il semble ressortir que les LAM traitées en première ligne par azacytidine ont une OS plus élevée que les patients traitées par azacytidine pour une LAM réfractaire (190–193). Le caractère de novo/secondaire ne semble pas avoir d'influence.

b Facteur pronostic lié au traitement

Les études sont contradictoires avec pour les uns, une augmentation de la survie globale pour les répondeurs (191,192), pour les autres une absence de différence de survie globale en cas de maladie stable par rapport aux répondeurs (190,193). Cependant, l'ensemble de ces études comprend un nombre limité de patients, des groupes hétérogènes et des traitements administrés de manière différente. Cette différence tient du fait également que les études qui ne retrouvent pas d'impact pronostic pour la réponse, s'intéressent au sous-groupe de patients ayant atteint un nombre minimal de cycles.

c Facteurs pronostiques biologiques

i Blastose médullaire

Le taux de blastes médullaires ne semble pas intervenir comme un facteur prédictif de réponse dans la plupart des études n'intégrant que des LAM (190,191).

ii Leucocytose

Maurillo *et al* retrouvent dans leur essai de phase II, un facteur prédictif de réponse, une leucocytose sanguine $< 10000/\text{mm}^3$ (191). Une étude rétrospective des SMD et LAM traitée par azacytidine dans l'ATU de cohorte allemande retrouvait comme dans l'analyse de Itzykson *et al*, un effet péjoratif significatif de la blastose sanguine sur l'OS (198).

iii Plaquettes

Deux études se sont intéressées au pronostic du taux plaquettaire chez les patients traités par azacytidine. Raffoux *et al*, dans l'essai de phase II associant l'azacytidine, acide valproïque et l'ATRA mettaient en évidence un pronostic péjoratif de réponse en cas de plaquettes initiales $< 50\ 000/\text{mm}^3$ ou une absence de plaquettes $> 100\ 000/\text{mm}^3$ après le premier cycle (193). Van der Helm *et al*, montraient dans leur étude rétrospective, un facteur prédictif positif en terme d'OS du doublement des plaquettes après le premier cycle d'azacytidine (198).

iv *Cytogénétique*

L'impact pronostique de la cytogénétique n'apparaît pas clairement dans la littérature. Dans les études s'intéressant uniquement au LAM, une absence de cytogénétique défavorable semble être un facteur positif de réponse dans les LAM traitées par azacytidine en première ligne seulement (190,191). Cependant dans la plupart des études regroupant des LAM et des SMD, une cytogénétique défavorable apparaît comme un facteur prédictif péjoratif en terme de réponse à l'azacytidine et en terme d'OS (193,197,198).

v *Biologie moléculaire*

Une étude s'est intéressée à l'impact pronostique de la présence de la mutation TET2 dans des SMD et des LAM < 30% de blastes traités par azacytidine. 82 patients étaient inclus dont 15% présentaient une mutation de TET2 (parmi ceux-là, 5/13 présentaient une LAM). Les résultats permettaient de mettre en évidence des taux de réponse globale de 82% en présence de la mutation versus 40% en cas de TET2 sauvage. Cet impact pronostique sur la réponse était retrouvé en analyse uni et multivariée de manière indépendante de la cytogénétique avec cependant, pas d'impact sur la durée de réponse et la survie globale (199).

OBJECTIFS DE L'ETUDE

Les LAM du sujet âgé, en particulier celles de cytogénétique défavorable ainsi que les LAM réfractaires, présentent un pronostic très médiocre avec, selon les études, 3 à 6 mois de survie globale avec les traitements conventionnels. Peu de possibilité thérapeutique s'offrent à cette catégorie de patients.

Les agents déméthylants comme l'azacytidine ont montrés une certaine efficacité dans le traitement de ces pathologies. Cependant, les études testant leur efficacité sont hétérogènes et incluant des patients présentant à la fois des SMD et des LAM. L'utilisation de l'azacytidine n'a été validée pour le moment qu'en cas de blastose médullaire $\leq 29\%$. Aucune étude ne s'est intéressée à la recherche de facteurs pronostiques de réponse et de survie, au traitement par azacytidine dans les LAM de manière exclusive. Une étude des facteurs connus (âge, leucocytose, secondaire, cytogénétique) et surtout moléculaires en étudiant les gènes liés aux anomalies épigénétiques semblait nécessaire.

Les objectifs de cette étude étaient :

1. D'évaluer de manière rétrospective l'efficacité de l'azacytidine en terme de réponse et de survie chez les patients traités pour une LAM incluant des blastoses médullaires $> 29\%$
2. D'étudier l'impact pronostique des facteurs connus dans les LAM
3. Pour les patients atteignant au moins quatre cycles d'azacytidine, d'évaluer la réponse et étudier l'influence pronostique des mutations de plusieurs gènes classiques et actuellement en cours de validation dans les LAM à savoir NPM1, FLT3-ITD, FLT3-TKD, CEBPA, N-RAS, IDH1 et IDH2, TET2, TP53, EZH2, DNMT3, ASXL1, RUNX1

PATIENTS, MATERIEL ET METHODES

I Patients

Cette étude rétrospective a été réalisée à partir d'une cohorte de 102 patients traités pour une LAM par azacytidine entre le 30 juillet 2007 et 30 août 2011 dans différents centres de la région Nord-Pas-de-Calais et d'Amiens. Les conditions d'inclusion étaient la réalisation d'un traitement par azacytidine pour LAM définie selon les critères OMS 2008 (16) et l'existence pour chaque patient traité de matériel biologique congelé au sein de la tumorotheque du laboratoire d'hématologie du CHRU de Lille. Toutes les lignes thérapeutiques ont été considérées. Les patients traités par azacytidine en entretien après l'obtention d'une RC par chimiothérapie intensive étaient exclus. Le consentement éclairé de chaque patient a été obtenu en accord avec la déclaration d'Helsinki.

La répartition des patients au sein des différents centres était la suivante : 47 patients au CHRU de Lille, 22 patients au CH de Roubaix, 13 patients au CHU d'Amiens, 8 patients à l'hôpital catholique St Vincent, 4 patients au CH de Dunkerque, 3 patients au CH de Lens, 3 patients au CH de Valenciennes et 2 patients au CH d'Arras.

Les critères clinico-biologiques recueillis à l'initiation du traitement étaient le sexe, l'âge, le performans status, le caractère *de novo* ou secondaire, la classification FAB, la classification OMS, la numération formule sanguine, la blastose médullaire et le caryotype conventionnel.

II Traitement

L'azacytidine (VIDAZA) était délivrée selon le schéma de 75 mg/m² en sous-cutanée pendant 7 jours avec un arrêt les jours de week-end dans les centres où l'organisation du service l'exigeait. Les cycles étaient de 28 jours en l'absence de toxicité. Une association par ATRA (VESANOID) 45 mg/m²/j per os de J1 à J7 et acide valproïque (DEPAKINE) 35 à 50 mg/j per os de J-1 à J7 a été réalisée pour 28 patients (27%). La posologie de l'acide valproïque était adaptée en fonction de la tolérance et de la dépakinémie.

III Critères de réponse

L'évaluation de la réponse au traitement était réalisée entre le 4^e et le 6^e cycle d'azacytidine selon les centres et les patients. La NFS, la blastose médullaire et les besoins transfusionnels étaient recueillis afin d'évaluer la réponse au traitement. Le myélogramme de ré-évaluation n'a pas été réalisé chez 9 patients.

La réponse au traitement était exprimée selon les critères de l'IWG (2006), utilisés normalement pour la réponse au traitement des SMD (200). Ce choix a été fait car la réponse à l'azacytidine peut être lente et la clairance blastique obtenue avec un traitement d'induction d'une chimiothérapie intensive ne sera pas réalisée dans les mêmes délais. De plus, l'obtention d'une rémission complète peut s'obtenir après plusieurs cycles. La définition des différentes réponses est décrite dans le tableau ci-dessous (tableau n°6).

Tableau n°6 : Critères de réponse internationaux selon IWG (2006) (200)

| <i>Catégorie</i> | <i>Critères de réponse (au moins 4 semaines)</i> |
|--------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Rémission Complète (CR) | <ul style="list-style-type: none"> • Blastos médullaires $\leq 5\%$ avec une maturation normale (la présence de signes de dysplasie doit être signalée si elle persiste) • Hémogramme : <ul style="list-style-type: none"> ○ Hb ≥ 11g/dl ○ Plaquettes $\geq 100\ 000/\text{mm}^3$ ○ Polynucléaires neutrophiles $\geq 1000/\text{mm}^3$ ○ Absence de blaste circulant |
| Rémission partielle (PR) | Critères identiques à CR mais : <ul style="list-style-type: none"> • Blastose médullaire diminuée de plus de 50% par rapport au bilan initial et cependant $>5\%$ |
| Rémission médullaire Avec ou sans Amélioration hématologique (HI) | <ul style="list-style-type: none"> • Blastos médullaire $\leq 5\%$ et diminution de plus de 50% par rapport au bilan initial, mais persistance de cytopénies • En cas d'amélioration des cytopénies (ne correspondant pas aux critères de RC ou RP) celle ci sera notée, en plus |
| Maladie Stable (SD) | Impossibilité d'obtenir au moins une amélioration hématologique significative sur une lignée mais absence de progression sur une période d'au moins 8 semaines |
| Maladie en progression | <ul style="list-style-type: none"> • augmentation des blastos de plus de 50% et $> 30\%$ • diminution $\geq 50\%$ du taux de neutrophiles ou de plaquettes par rapport à celui obtenu de la rémission ou de la réponse • Diminution du taux d'hémoglobine ≥ 2g/dl ou réapparition d'une dépendance transfusionnelle |

| <i>Amélioration hématologique</i> | <i>Critères de réponse (au moins 8 semaines)</i> |
|----------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Amélioration érythroïde (préthérapeutique, < 11g/dl) | <ul style="list-style-type: none"> • Augmentation du taux d'Hb $\geq 1,5$g/dl • Réduction d'au moins 4 CGR/8 sem comparée au nombre de transfusion dans les huit semaines ayant précédé la mise en route du traitement. • Seules les transfusions pour moins de 9 g/dl d'Hb sont pris en compte |
| Réponse plaquettaire (préthérapeutique, <100 000/mm³) | <ul style="list-style-type: none"> • Pour les patients dont le taux initial de plaquettes >20000/mm³ <ul style="list-style-type: none"> ◦ Augmentation du nombre absolu des plaquettes d'au moins 30 000 • Pour les patients dont le taux de plaquettes initial est < 20000 <ul style="list-style-type: none"> ◦ Augmentation au delà de 20 000 avec une augmentation d'au moins 100% |
| Réponse neutrophile (préthérapeutique, <1000/mm³) | Augmentation d'au moins 100% et un nombre absolu > 500/mm ³ |

IV Analyse cytogénétique

L'analyse cytogénétique a été réalisée de manière traditionnelle par marquage en bandes G et R des chromosomes. Un minimum de 20 mitoses est nécessaire pour que le résultat soit pris en compte et une anomalie est considérée comme clonale lorsqu'elle est présente dans un minimum de trois mitoses. Les caryotypes ont été classés selon la classification cytogénétique établie par le groupe ALFA (Acute Leukemia French Association) décrite ci-dessous :

Tableau n°7 : Classification pronostique cytogénétique proposée par le groupe ALFA

| | |
|----------------------|------------------------------------------------------------------------|
| Favorable | t(8;21)(q22;q22) |
| | inv(16)(p13.1q22) |
| | t(16;16)(p13.1;q22) |
| | Caryotype normal |
| Intermédiaire | Anomalies cytogénétiques non classées comme favorables ou défavorables |
| Défavorable | inv(3), t(3 ;3) |
| | t(6;9) |
| | t(v;11)(v;q23) |
| | -5 ou del(5q); -7; abnl(17p); caryotype complexe (≥ 3 anomalies) |

V Analyse moléculaire

Un des critères d'inclusion dans la cohorte était l'existence d'ADN génomique congelé au laboratoire d'hématologie du CHRU de Lille permettant une analyse moléculaire de 12 gènes dont les mutations sont connues dans les LAM, à savoir : *NPM1*, *FLT3-ITD*, *FLT3-TKD*, *CEBPA*, *NRAS*, *IDH1*, *IDH2*, *TET2*, *TP53*, *DNMT3A*, *ASXL1*, *RUNX1* et *EZH2*. Les prélèvements devaient être antérieurs au traitement par azacytidine. Dans un premier temps, seuls les 61 patients qui ont pu être évalués après 4 à 6 cures ont été analysés pour ces gènes. Pour 9 patients, l'ADN n'était pas disponible en quantité suffisante ou n'était pas d'assez bonne qualité pour la réalisation d'un séquençage au débit. L'analyse complète des 12 gènes n'a donc pu être réalisée que pour 52 patients.

1 Traitements des échantillons

1.1 Isolements cellulaires

Les prélèvements sanguins ou médullaires ont été recueillis sur tube EDTA. Une lyse directe des hématies a été réalisée au sein de la MO ou du surnageant en cas de prélèvement sanguin, suivie d'une série de lavages afin de purifier les cellules nucléées. Les leucocytes ont été aliquotés en culots secs de 5 millions de cellules en vue de l'extraction d'ADN.

1.1 Extraction d'ADN

A partir des culots cellulaires congelés, l'ADN a été extrait à l'aide du QIAamp DNA Blood Mini Kit® (Quiagen, Valencia, CA) permettant la purification rapide de l'ADN en fragments de 50 kb maximum. L'étape d'extraction a été contrôlée par dosage de la solution d'ADN obtenue par spectrophotométrie à l'aide du Nanodrop® ND-1000 spectrophotomètre UV/visible (Labtech, Palaiseau, France).

2 Analyses moléculaires « classiques »

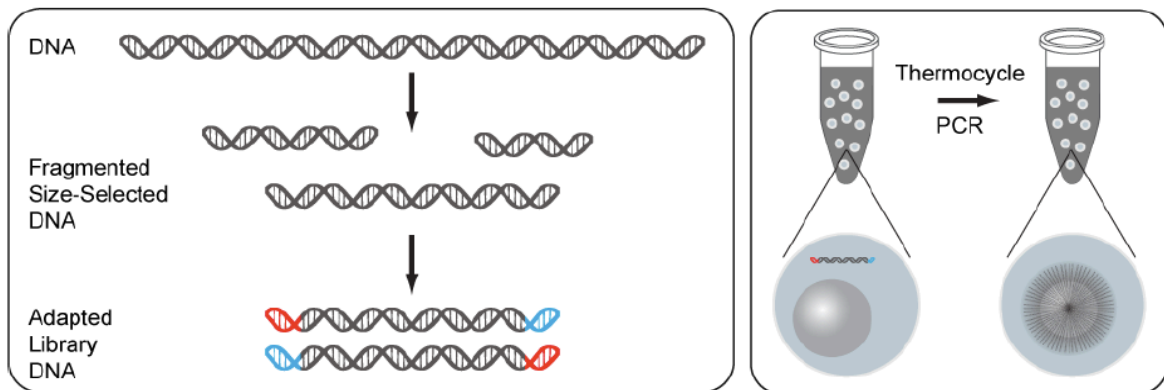
La recherche des mutations de *NPM1*, *FLT3*-ITD, *FLT3*-TKD, *CEBPA*, *NRAS*, *IDH1* et *IDH2* a été réalisée sur ADN génomique. Le dépistage des mutations de l'exon 12 de *NPM1* a été réalisée par PCR et analyse de fragments (201). Les duplications en tandem de *FLT3* ont été recherchées par PCR et analyse de fragments, tandis que les mutations ponctuelles *FLT3*-TKD (D835/I836) ont été recherchées par PCR-RFLP (202,203). Les mutations de *CEBPA* ont été recherchées par séquençage Sanger direct grâce à 2 couples d'amorces PP1 et PP2, comme décrit précédemment (204). Les mutations des exons 2 et 3 de N-RAS ont été détectées comme décrit précédemment (205). La recherche de mutations sur les codons R132 d'*IDH1*, et R140 et R172 d'*IDH2* a été réalisée par séquençage Sanger direct (206,207).

3 Séquençage à ultra-haut débit (Next-generation sequencing NGS)

Six gènes ont été analysés en séquençage à ultra-haut débit (système Ampliseq) sur le séquenceur Ion Personal Genome Machine (PGM)[®] (Ion Torrent Systems, Inc., Guilford, CT) afin de mettre en évidence les mutations de *TET2*, *TP53*, *DNMT3A*, *ASXL1*, *RUNX1* et *EZH2*.

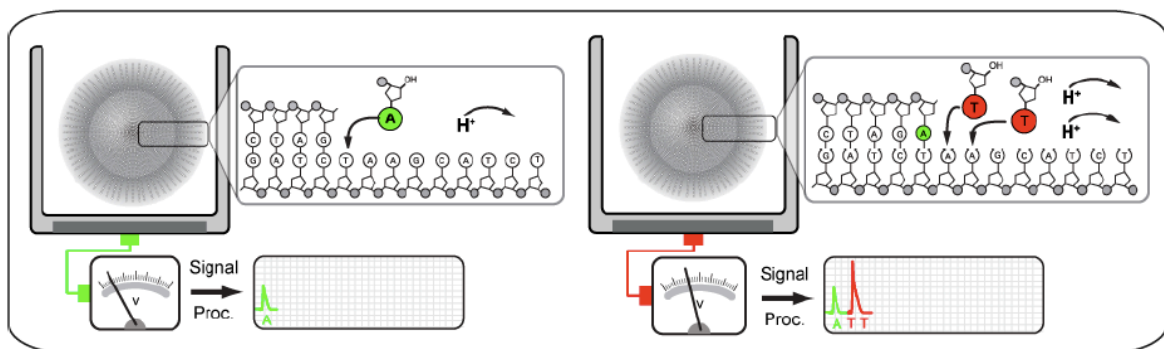
Une quantité de 60 ng d'ADN génomique est nécessaire afin de réaliser le séquençage. Les échantillons d'ADN sont fragmentés, amplifiés pour les régions d'intérêts des 6 gènes par la technique Ion AmpliSeq[™] par Life Technologies. Il s'agit d'une PCR multiplex avec une étape de digestion des amorces permettant de ne conserver que les régions d'intérêts lors du séquençage. Des adaptateurs (présentant un code barre ou non) sont liés aux fragments d'ADN (figure n°9).

Figure n°9 : Méthode AmpliSeq de fragmentation et d'amplification des régions d'intérêt (208)



Les échantillons sont ainsi séquencés par le Ion PGM. Il s'agit d'une chimie de pyroséquençage (séquençage par synthèse) combiné à une technologie semi-conductrice. Quand un nucléotide est incorporé, un proton est libéré dans le milieu. Cette variation de pH crée un signal permettant de détecter le nucléotide incorporé et d'établir la séquence (figure n°10).

Figure n°10 : Fonctionnement du séquenceur à semi conduction Ion Torrent (208)



Une analyse des séquences est réalisée pour chaque gène, par rapport à une séquence de référence. Les variations de séquence correspondant à des SNP (single nucleotide polymorphism) décrits dans les bases de données ou dans la littérature n'ont pas été prises en compte pour l'analyse ultérieure.

VI Analyse statistique

Les variables dichotomiques sont reportées sous forme de nombres et de pourcentages, et les variables continues sous forme de médiane et d'extrema. Les critères de jugement principaux étaient les taux de réponse globale et la survie globale. Les patients en vie étaient censurés à la date de dernière nouvelle mais pas les patients allogreffés. Les taux de réponse étaient comparés en utilisant le test du Khi2 ou le test exact de Fischer en fonction de l'importance de l'effectif théorique. Les tables de survie ont été établies selon la méthode de Kaplan-Meier et comparées avec le test du log-rank. Une p-value inférieure à 0,05 est considérée comme étant statistiquement significative.

RESULTATS

I Analyse descriptive de la cohorte

Les caractéristiques cliniques, biologiques et génétiques des patients étudiés sont regroupées dans le tableau n°8. La médiane d'âge de la cohorte était de 68 ans [20-82]. 76% des patients avaient plus de 60 ans (Figure n°11). 57% des patients étaient traités en première ligne par azacytidine et 43% des patients étaient traités par azacytidine pour des échecs de chimiothérapie intensive ou des rechutes. 7 patients étaient traités par azacytidine pour une rechute post allogreffe de CSH. La moitié des patients présentaient une LAM *de novo* (49%). Les LAM avec anomalies associées aux myélodysplasies selon la classification OMS représentaient 48% de la cohorte.

La médiane de la leucocytose à l'introduction de l'azacytidine était de 2765/mm³ avec 6% des patients qui présentaient une leucocytose supérieure à 20 000/mm³. La médiane de la blastose médullaire à l'introduction de l'azacytidine était de 35% avec 58% des patients qui avaient 30% ou plus de blastes au myélogramme. Le risque cytogénétique était défavorable pour 51% des patients (traité majoritairement en première ligne) avec 14% de caryotypes complexes et 25% de caryotypes monosomaux. 14% des patients présentaient un caryotype normal. La cytogénétique était un échec pour 12% des patients. Selon la classification pronostique de l'ELN, 4 % des patients présentaient un risque favorable, 17% un risque intermédiaire I, 25% un risque intermédiaire II et 54% un risque défavorable.

Figure n°11 : Répartition de la population selon l'âge et la ligne de traitement de l'azacytidine

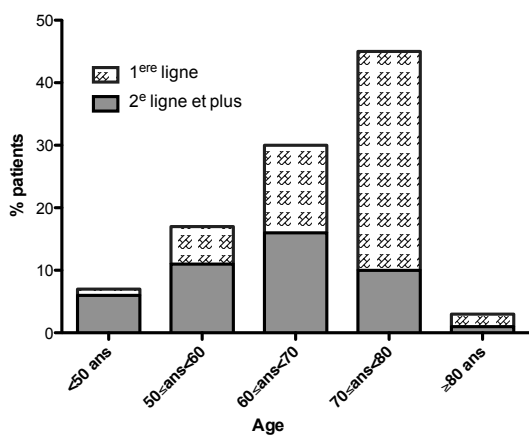


Figure n°12 : Répartition des groupes pronostique cytogénétique en fonction des lignes thérapeutiques

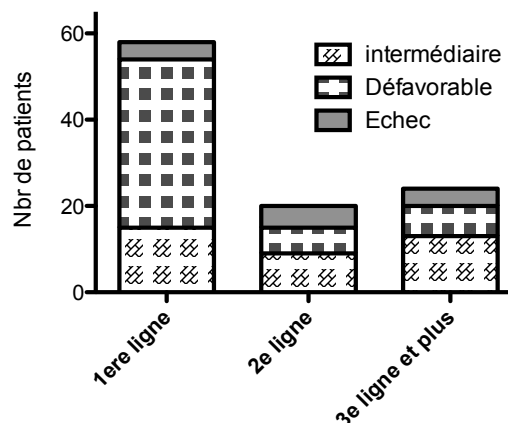


Tableau n°8 : Caractéristiques de l'ensemble de la cohorte

| Nombre de patients | 102 |
|-----------------------------------------------------|---------------------|
| Caractéristiques cliniques | |
| Sex ratio (M/F) | 1,17 (55/47) |
| Age médian, année [étendue] | 68 [20-82] |
| LAM | |
| <i>De novo</i> | 50 (49%) |
| Secondaire | 52 (51%) |
| SMD | 20 (20%) |
| SMP | 12 (12%) |
| SMD/SMP | 3 (3%) |
| induites | 16 (16%) |
| Nombre de lignes thérapeutiques | |
| 1 ^{er} ligne | 58 (57%) |
| 2 ^e ligne et plus | 44 (43%) |
| 2 ^e ligne | 20 |
| 3 ^e ligne et plus | 24 |
| Antécédents d'allogreffe | 7 (7%) |
| Classification FAB | |
| M0 | 14 (14%) |
| M1 | 21 (20%) |
| M2 | 28 (27%) |
| M4 | 5 (5%) |
| M5 | 4 (4%) |
| M6 | 2 (2%) |
| M7 | 1 (1%) |
| AREB-t | 13 (13%) |
| Inclassable | 14 (14%) |
| Classification OMS 2008 | |
| <u>Avec anomalies génétiques récurrentes</u> | 12 (12%) |
| t(6 ;9) | 1 |
| NPM1 | 8 |
| CEBPA | 3 |
| <u>Avec anomalies associées aux myélodysplasies</u> | 44(43%) |
| Secondaire à un SMD | 18 |
| Avec anomalies cytogénétiques | 24 |
| Avec dysplasie multilignées | 2 |
| <u>Induite par un traitement</u> | 16 (16%) |
| <u>Sans spécificité</u> | 30 (29%) |

| Caractéristiques biologiques | |
|---------------------------------------------------------|------------------------------|
| Leucocytose initiale médiane, G/L [étendue] | 2,765 [0,070 -45,370] |
| Leucocytose initiale ≥ 20 G/L | 6 (6%) |
| Numération plaquettaire initiale $<50\ 000/\text{mm}^3$ | 50% |
| <hr/> | |
| Blastose médullaire, médiane, % [étendue] | 35 [9 -93] |
| Blastose médullaire $<30\%$ | 43 (42%) |
| Blastose médullaire $\geq 30\%$ | 59 (58%) |
| Caryotype | |
| <u>Intermédiaire</u> | 37 (36%) |
| Caryotype normaux | 19 (19%) |
| <u>Défavorable</u> | 52 (51%) |
| Caryotype complexe | 14 (14%) |
| Monosomaux | 26 (25%) |
| Echec | 12 (12%) |
| Classification ELN | |
| Favorable | 4 (4%) |
| Intermédiaire I | 17 (17%) |
| Intermédiaire II | 26 (25%) |
| Défavorable | 55 (54%) |

II Modalités et réponse au traitement par azacytidine

1 Modalités d'administration

Le nombre médian de cures administrées était de 5 cures [1-33]. 28% des patients ont reçu une association azacytidine, ATRA, acide valproïque. Les 4 cures de azacytidine n'ont pu être administrées chez 41 patients (40%). 21 patients sont décédés avant la réalisation de 4 cures en raison d'une progression de la maladie. 20 patients sont décédés avant l'évaluation de la réponse sans notion de progression dont 18 patients en raison d'une infection et 2 d'hémorragies cérébrales. 9 patients ont été allogreffés à l'issu du traitement par azacytidine.

2 *Réponse aux traitements*

La réponse globale (RC+RP+mCR) à l'azacytidine dans la cohorte était de 19% avec une durée médiane de réponse de 9 mois [2,5-38,7] avec 10% de RC, 2% de RP et 7% de mCR. Tous les patients en réponse avaient été évalués au cycle 6 sauf 2 patients en RC après 4 cycles d'azacytidine. 10% des patients obtenaient une stabilité de la maladie avec amélioration hématologique, parmi lesquels 50 % obtenaient une indépendance transfusionnelle. La durée de réponse médiane était de 5,9 mois [1,4-28,3].

Tableau n° 9: Réponse à l'azacytidine selon les critères IWG2006 dans la cohorte en intention de traiter

| | Réponse obtenue | | Durée (mois) | |
|-------------------------------------|-----------------|-----------|--------------|-----------------|
| | n | % | Médiane | étendue |
| Réponse globale (RC+RP+mRC) | 19 | 19 | 9,5 | 2,5-38,7 |
| RC | 10 | 10 | 6,3 | 2,5-38,7 |
| RP | 2 | 2 | 12,3 | 11,6-12,9 |
| mRC | 7 | 7 | 9 | 3,7-21,3 |
| SD avec HI | 10 | 10 | 5,9 | 1,4-28,3 |
| SD sans HI | 19 | 19 | | |
| Maladie progressive | 13 | 13 | | |
| Impossibilité à administrer 4 cures | 41 | 39 | | |

3 *Facteurs prédictifs de réponse*

3.1 *Facteurs prédictifs généraux*

Afin de déterminer les caractéristiques qui pourraient prédire l'obtention d'une réponse à l'azacytidine, les 102 patients étaient séparés en 2 groupes en fonction de leur réponse selon l'IWG 2006 avec les répondeurs (patients obtenant une RC, RP, mCR), et les non répondeurs (SD, maladie progressive, échec à l'administration de 4 cures). En analyse univariée, seule la ligne de traitement apparaît comme prédictif de réponse avec 26% de réponse globale en cas de traitement en première ligne contre 9% en cas de traitement par azacytidine en deuxième ligne et plus ($P= 0,03$) (tableau n°10). Il n'y a pas de différence significative d'obtention de réponse globale en fonction de l'âge, le caractère secondaire, l'association avec l'ATRA et acide valproïque, la blastose médullaire, le caryotype ainsi qu'avec pronostic ELN. L'analyse multivariée n'a donc pu être réalisée.

Tableau n° 10: Facteurs pronostiques de réponse

| | Réponse (analyse univariée) | | |
|------------------------------------|-----------------------------|----|-------|
| | n | % | p |
| Age | | | 0,17 |
| <65ans | 5/41 | 12 | |
| ≥65 ans | 14/61 | 23 | |
| Type de LAM | | | 0,5 |
| <i>De novo</i> | 8/50 | 16 | |
| Secondaire | 11/52 | 21 | |
| Nbr de lignes de traitement | | | 0,03 |
| 1ere ligne | 15/58 | 26 | |
| 2° ligne et plus | 4/44 | 9 | |
| Détail nbr de ligne | | | 0,056 |
| 1 ^{ere} ligne | 15/58 | 26 | |
| 2° ligne | 3/20 | 15 | |
| 3° ligne et plus | 1/24 | 4 | |
| Association | | | 0,9 |
| Non | 14/74 | 19 | |
| oui | 5/28 | 18 | |
| Blastose médullaire | | | 0,3 |
| <30% | 6/43 | 14 | |
| ≥30% | 13/59 | 22 | |
| Caryotype | | | 0,9 |
| Echec | 2/13 | 15 | |
| Intermédiaire | 8/37 | 22 | |
| Défavorable | 9/52 | 17 | |
| Classification ELN | | | 0,8 |
| Int-I | 4/17 | 24 | |
| Int-II | 4/26 | 15 | |
| Défavorable | 10/55 | 18 | |

3.2 Facteurs prédictifs moléculaires

Parmi les 102 patients de la cohorte, l'analyse moléculaire pour 12 gènes a pu être réalisée chez 52 patients pour lesquels quatre cures d'azacytidine avaient pu être administrées.

a Caractéristiques des 52 patients

L'âge médian est de 70 ans contre 68 ans dans la cohorte totale (tableau n°11). 60% des patients présentaient une LAM *de novo*. 58% des patients étaient traités en première ligne par azacytidine dont une majorité chez les plus de 70 ans (figure n°13). La répartition des LAM selon la classification FAB et OMS 2008 était sensiblement identique. La leucocytose médiane était de 2 740 /mm³ [300-34 200]. 54% des patients avaient une blastose médullaire supérieure ou égale à 30%. 40% des patients avaient un caryotype de pronostic intermédiaire contre 50% un caryotype défavorable. Parmi ceux-ci, 8% avaient un caryotype complexe et 25% un caryotype monosomal. Selon la classification de l'ELN, 4% des patients appartenaient au groupe favorable, 15% au groupe intermédiaire I, 31% au groupe intermédiaire II, 50% au groupe défavorable.

Figure n°13 : Répartition de la population des patients ayant atteints 4 cures en fonction de l'âge et de la ligne de traitement de l'Azacytidine

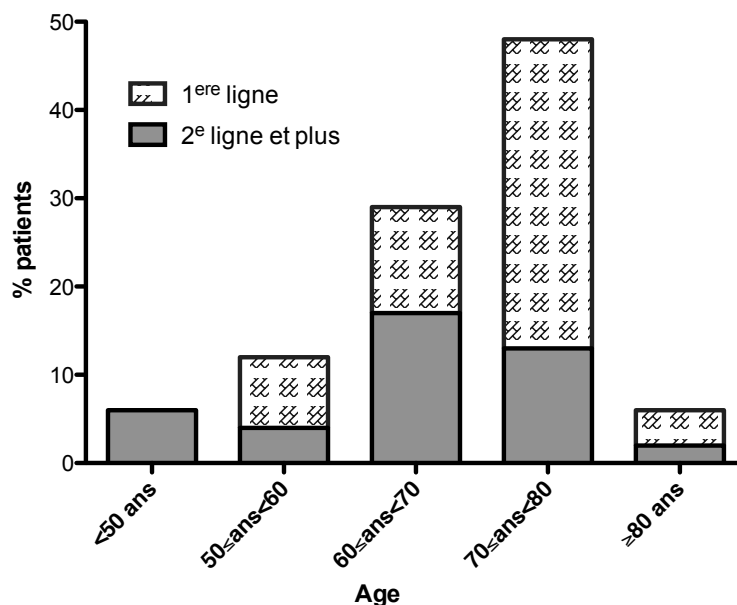


Tableau n°11 : Caractéristiques des 52 patients

| Nombre de patients | 52 |
|-----------------------------------------------------|--------------|
| Caractéristiques cliniques | |
| Sex ratio (M/F) | 1,08 (27/25) |
| Age médian, année [étendue] | 70 [20-82] |
| LAM | |
| <i>De novo</i> | 31 (60%) |
| Secondaire | 21 (40%) |
| SMD | 8 |
| SMP | 5 |
| SMD/SMP | 1 |
| induites | 7 |
| Nombre de lignes thérapeutiques | |
| 1 ^{ere} ligne | 30 (58%) |
| 2 ^e ligne et plus | 22 (42%) |
| Antécédents d'allogreffe | 1 |
| Classification FAB | |
| M0 | 7 (13%) |
| M1 | 10 (19%) |
| M2 | 19 (37%) |
| M4 | 2 (4%) |
| M5 | 0 |
| M6 | 2 (4%) |
| M7 | 0 |
| AREB-t | 8 (15%) |
| Inclassable | 4 (8%) |
| Classification OMS 2008 | |
| <u>Avec anomalies génétiques récurrentes</u> | |
| t(6 ;9) | 1 |
| NPM1 | 4 |
| CEBPA | 2 |
| <u>Avec anomalies associées aux myélodysplasies</u> | |
| Secondaire à un SMD | 7 |
| Avec anomalies cytogénétiques | 14 |
| Avec dysplasie multilignées | 1 |
| <u>Induite par un traitement</u> | |
| | 7 (13%) |
| <u>Sans spécificité</u> | |
| | 17 (33%) |

| | |
|--------------------------------------------|------------------|
| Caractéristiques biologiques | |
| Leucocytose initiale médiane,G/L [étendue] | 2,740 [0,3-34,2] |
| Leucocytose initiale \geq 20 G/L | 3 (6%) |
| Blastose médullaire <30% | 24 (46%) |
| Blastose médullaire \geq 30% | 28 (54%) |
| Caryotype | |
| <u>Intermédiaire</u> | 21 (40%) |
| Caryotype normaux | 9 (17%) |
| <u>Défavorable</u> | 26 (50%) |
| Caryotype complexe | 8 (8%) |
| Monosomaux | 13 (25%) |
| Echec | 5 (10%) |
| Classification ELN | |
| Favorable | 2 (4%) |
| Intermédiaire I | 8 (15%) |
| Intermédiaire II | 16 (31%) |
| Défavorable | 26 (50%) |
| Caractéristiques moléculaires | |
| NPM1 | 4 (8%) |
| CEBPA | 2 (4%) |
| Mono-allélique | 1 |
| Bi-allélique | 1 |
| FLT3-ITD | 4 (8%) |
| FLT3-TKD | 0 |
| IDH1 | 3 (6%) |
| IDH2 | 8 (15%) |
| R172 | 3 |
| R140 | 5 |
| TET2 | 8 (15%) |
| NRAS | 4 (8%) |
| TP53 | 11 (21%) |
| DNMT3A | 13 (25%) |
| ASXL1 | 7 (13%) |
| RUNX1 | 4 (8%) |
| EZH2 | 3 (6%) |

La fréquence des mutations est retrouvée dans le tableau n°11. Les mutations les plus fréquemment retrouvées chez les 52 patients étaient la mutation p53 (21%) et la mutation de *DNMT3A* (25%). Les patients avaient entre 0 et 4 mutations parmi ces 12 gènes (Figure n°14). 32 patients avaient 0 ou 1 mutation contre 20 patients qui avaient 2 mutations ou plus.

Tableau n° 12: Réponse à l'azacytidine selon les critères de l'IWG2006 dans la sous cohorte de 52 patients

| | Réponse obtenue | | Durée (mois) | |
|------------------------------------|-----------------|-----------|--------------|-----------------|
| | n | % | Médiane | étendue |
| Réponse globale (RC+RP+mRC) | 18 | 35 | 9,25 | 2,5-38,7 |
| RC | 9 | 17 | 6,21 | 2,5-38,7 |
| RP | 2 | 4 | 12,3 | 11,6-12,9 |
| mRC | 7 | 13 | 9 | 3,7-21,3 |
| SD avec HI | 7 | 13 | 5,32 | 1,4-28,3 |
| SD sans HI | 16 | 31 | | |
| Maladie progressive | 11 | 21 | | |

c Facteurs prédictifs de réponse

Dans cette cohorte de 52 patients, la ligne de traitement est le seul facteur prédictif de réponse avec 46% de réponse pour les patients traités en première ligne par azacytidine et 18% pour les patients traités en échec ou en rechute (P=0,03).

Concernant les facteurs prédictifs moléculaires, seul l'impact pronostique des mutations de *IDH2*, *TET2*, *DNMT3*, *p53* et *ASXL1* a pu être analysé, en raison d'un effectif trop faible avec les autres gènes.

La mutation *IDH2* apparaît comme un facteur prédictif péjoratif de réponse avec 0% de réponse en cas de mutation *IDH2* (P=0,04). Le nombre de mutations n'apparaît pas comme un facteur prédictif de réponse avec 37% de réponse en cas d'absence de mutation ou avec une seule mutation, contre 30% de réponse en cas de la présence de 2 mutations ou plus (P=0,6).

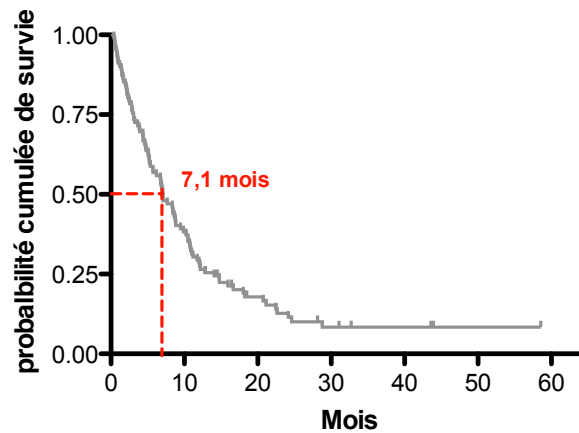
Tableau n°13 : Facteurs moléculaires pronostiques de réponse dans la cohorte de 52 patients

| | Réponse (analyse univariée) | | |
|----------------------------|-----------------------------|----|------|
| | n | % | p |
| IDH2 | | | 0,04 |
| Non muté | 18/44 | 40 | |
| Muté | 0/8 | 0 | |
| TET2 | | | 0,4 |
| Non muté | 14/44 | 32 | |
| Muté | 4/8 | 50 | |
| DNMT3A | | | 0,50 |
| Non muté | 15/39 | 38 | |
| Muté | 3/13 | 23 | |
| TP53 | | | 0,5 |
| Non muté | 13/41 | 32 | |
| Muté | 5/11 | 45 | |
| ASXL1 | | | 0,4 |
| Non muté | 17/45 | 38 | |
| Muté | 1/7 | 14 | |
| Nombre de mutations | | | 0,6 |
| 0 ou 1 mutation | 12/32 | 37 | |
| ≥ 2 mutations | 6/20 | 30 | |

III Survie globale et facteurs pronostiques de survie

Après un suivi médian de 7,1 mois, 89 patients sont décédés, dont 56 de progression de la maladie. La survie globale médiane était de 7,1 mois (Intervalle de confiance 95% : 5,3-8,8), avec une survie estimée à 1 ans de 28% et à 2 ans de 11%. 41 (40%) patients sont décédés avant de recevoir 4 cures. 12 patients sont en vie à la fin de la période de suivi dont 7 en RC, 1 en maladie stable et 4 en maladie progressive.

Figure n°16 : Survie globale de la cohorte des 102 patients



En analyse univariée, la réalisation d'un traitement par azacytidine en 3^e ligne et plus apparaît comme un facteur pronostique péjoratif pour la survie globale avec une survie médiane de 5,3 mois contre 8,4 et 8,8 mois pour le traitement en première et deuxième ligne ($P=0,03$) (figure n°17). De plus, l'existence d'une allogreffe de CSH antérieure au traitement par azacytidine est associée à une survie plus courte (2,5 vs 7,1, $p=0,02$) (figure n°18).

Figure n°17 : Survie globale en fonction du nombre de ligne thérapeutique

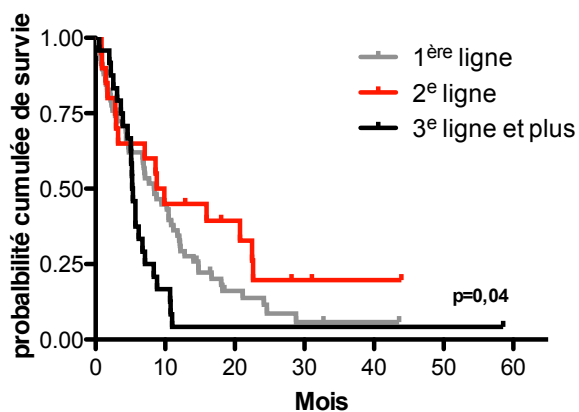
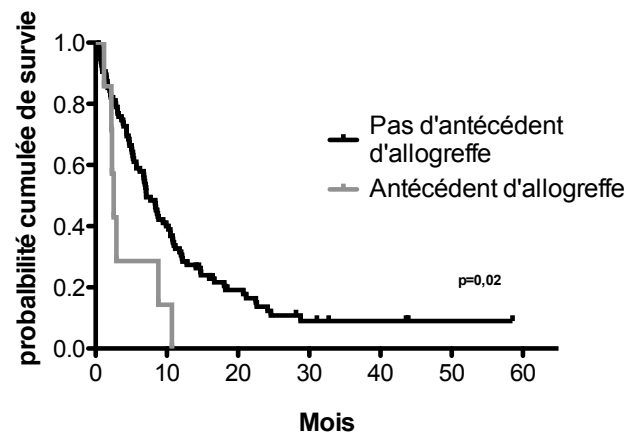


Figure n°18 : Survie globale en fonction antécédent d' allogreffe de CSH antérieure à l'azacytidine



Il existe une tendance positive sur la survie concernant les patients qui avaient une blastose médullaire à l'introduction de l'azacytidine inférieur à 30% (survie médiane de 8,4 vs 6,7 pour les blastoses \geq 30%, $P=0,09$). De même, les patients du groupe pronostique intermédiaire I de l'ELN tendent à avoir une amélioration de leur survie (11 mois de survie médiane vs 6,4 et 7 pour les intermédiaire II et Défavorable, $P=0,08$).

Il n'y pas de différence significative en fonction de l'âge, le caractère secondaire de la LAM, l'association avec ATRA et acide valproïque ainsi qu'en fonction des groupes pronostiques cytogénétiques (Tableau n°14).

Une amélioration de la survie est observée de manière significative chez les patients qui bénéficient d'une allogreffe de CSH à l'issu de leur traitement par azacytidine, avec une médiane de survie de 12,1 mois vs 6,8 mois pour les patients non allogreffés ($p= 0,01$) (figure n°19).

Figure n° 19: Survie globale en fonction de la réalisation ou non d'une allogreffe de CSH

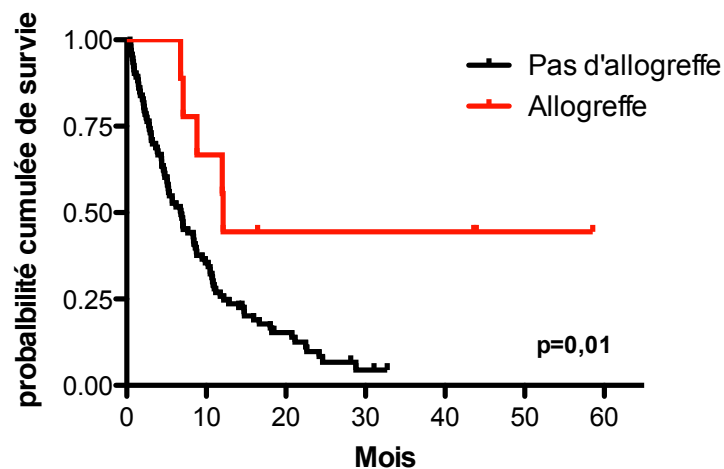


Tableau n° 14: Facteurs pronostiques de survie globale

| | Survie globale (analyse univariée) | |
|------------------------------------------------|------------------------------------|------|
| | Survie médiane (mois) | p |
| Age | | 0,1 |
| <65ans | 5,3 | |
| ≥65 ans | 8,6 | |
| Type de LAM | | 0,5 |
| <i>De novo</i> | 7,4 | |
| Secondaire | 6,8 | |
| Nbr de lignes de traitement | | 0,8 |
| 1ere ligne | 8,4 | |
| 2° ligne et plus | 6 | |
| Détail nbr de lignes | | 0,03 |
| 1 ^{ere} ligne | 8,4 | |
| 2° ligne | 8,8 | |
| 3° ligne et plus | 5,3 | |
| Antécédent allogreffe | | 0,02 |
| oui | 2,5 | |
| non | 7,1 | |
| Réalisation allogreffe post azacytidine | | 0,01 |
| oui | 12,1 | |
| non | 6,8 | |
| Association | | 0,6 |
| Non | 7 | |
| oui | 8,6 | |
| Blastose médullaire | | 0,09 |
| <30% | 8,4 | |
| ≥30% | 6,7 | |
| Caryotype | | 0,5 |
| Echec | 5,7 | |
| Intermédiaire | 8,4 | |
| Défavorable | 7 | |
| Classification ELN | | 0,08 |
| Int-I | 11 | |
| Int-II | 6,4 | |
| Défavorable | 7 | |

Dans la cohorte des 52 patients analysables pour la biologie moléculaire, aucune mutation n'apparaît comme pronostique pour la survie globale. Le nombre de mutation n'influe pas non plus de manière significative sur la survie. Dans ce groupe dont la réponse à l'azacytidine a été évaluée, l'obtention d'une réponse globale entre 4 et 6 cures modifie de manière significative la survie médiane par rapport à l'existence d'une maladie stable.

IV Description des patients allogreffés

9 patients ont pu être allogreffés avec une médiane d'âge de 61 ans [48-67]. La majorité de patients présentaient un risque cytogénétique défavorable. Le nombre de cure médian d'azacytidine avant la réalisation de l'allogreffe était de 5 cures [4-20] avec 2/3 des patients en réponse globale au moment de l'allogreffe. Sur les 9 patients allogreffés, 4 sont encore en vie à la date de point et en RC (parmi les 7 patients encore en vie et en RC dans la cohorte totale) (tableau n°15)

Tableau n°15 : Description des patients allogreffés

| | |
|----------------------------------------------|------------|
| Nombre de patients allogreffés | 9 |
| Age médian [étendue] | 61 [48-67] |
| De novo/Secondaire | 5/4 |
| Caryotype | |
| Défavorable/intermédiaire | 8/1 |
| Monosomaux | 5 |
| Complexe | 2 |
| Type de greffe | |
| Géno-identique | 2 |
| Phéno-identique 10/10e | 4 |
| 9/10e | 3 |
| Conditionnement | |
| Myélo-ablatif | 2 |
| Atténué | 7 |
| Azacytidine avant la greffe | |
| Nbr de cures médian [étendue] | 5 [4-20] |
| Association ATRA-DEPAKINE | 4 |
| Nombre de ligne | |
| 1 | 5 |
| 2 et plus | 4 |
| Statut pré-allogreffe selon l'IWG2006 | |
| Rémission complète | 3 |
| Rémission partielle | 1 |
| Rémission médullaire | 2 |
| Maladie stable | 3 |
| Etat à la date de point | |
| Vivant | 4 (en RC) |
| Décédé | 5 |
| Progression de la maladie | 3 |
| Infection | 1 |
| Complication greffe | 1 |

DISCUSSION

Cette étude rétrospective avait pour objectif d'évaluer l'efficacité en terme de réponse et de survie du traitement des LAM par azacytidine et mettre en évidence des facteurs pronostiques cliniques, cytogénétiques et moléculaires à ce traitement.

La médiane d'âge de la population était relativement élevée avec cependant un âge médian de 68 ans qui correspond à la médiane d'âge des LAM au diagnostic dans la plupart des registres (1,3). Cette cohorte était relativement hétérogène concernant les lignes thérapeutiques, avec la majorité de patients traitée en première ligne par azacytidine (58%) et avec cependant un peu plus d'un tiers des patients traités pour des échecs de traitements intensifs ou des rechutes avec des nombres de lignes différents, témoignant d'une certaine chimiorésistance des LAM. En terme de mauvais pronostic, il s'agit également pour la moitié de patients présentant une LAM secondaire. Concernant le facteur pronostique cytogénétique, la moitié des patients appartiennent au groupe défavorable. Il s'agit donc d'une cohorte relativement âgée et présentant un pronostic relativement sombre si on s'attache aux facteurs pronostiques connus dans la littérature.

Malgré son hétérogénéité concernant la ligne thérapeutique, il s'agit d'une cohorte prenant en compte uniquement des LAM contrairement à la plupart des études dans la littérature concernant le traitement par azacytidine mélangeant réponse des SMD de haut risque et LAM faiblement blastique (189,192,193,197,199,209). En intention de traiter, le taux de réponse globale à l'azacytidine dans notre cohorte est de 19%. Si on compare aux études publiées dans la littérature concernant la réponse au traitement à l'azacytidine pour les LAM, le taux de réponse globale dans notre cohorte est inférieure. Le taux de réponse globale à l'azacytidine dans les LAM semble plus proche de 30% dans les différentes études publiées. Cependant dans l'une d'entre elles (190), l'importance du groupe de cytogénétique est nettement moindre (30% vs 50% dans notre étude) et dans une autre la réponse comprend également les patients en amélioration hématologique (191). Thepot *et al* rapporte dans une étude concernant les LAM secondaires à un SMP Bcr-Abl négatif une réponse globale de 38%. Seulement, seules 14% des LAM sont traités par azacytidine en rechute. La durée médiane de réponse est de 9 mois dans cette étude ce qui correspond également à nos résultats (189).

Peu de facteurs pronostiques de réponse apparaissent dans notre étude en partie probablement à cause de l'effectif restreint de l'étude. Ainsi, la leucocytose n'a pu être examinée en raison du nombre trop restreint de patients hyperleucocytaires. Un biais de sélection intervient manifestement à l'encontre de ce facteur, l'azacytidine étant très peu proposée aux patients hyperleucocytaires en raison du peu d'effet cytoréducteur rapide. La cytogénétique qui a été validée comme facteur pronostique dans de multiples études appliquées à la chimiothérapie intensive (24,35,36,60,61) et à certaines études sur l'azacytidine pour les SMD de haut risque et les LAM faiblement blastiques (197) ne ressort pas comme pronostique de réponse dans notre étude et de même dans l'essai de phase II allemand (190). Dans notre cohorte cela vient peut être du fait que la majorité des patients qui présentent un caryotype intermédiaire sont traités en rechute ou en échec. En effet, seule l'existence d'un traitement antérieur à l'azacytidine apparaît comme un facteur prédictif clinique de mauvaise réponse avec 26% de réponse globale en cas de traitement en première ligne, contre 9% de réponse en cas de traitement par azacytidine pour rechute ou échec de traitement. Ce facteur pronostique de réponse est retrouvé également dans les deux études cités précédemment (190,191). Ce facteur mériterait d'être confirmé en élargissant notre cohorte bien qu'il semble que les patients en première ligne répondent mieux que les patients en rattrapage ou en rechute.

Dans notre cohorte 28% des patients reçoivent une association d'azacytidine, d'acide valproïque et d'ATRA sans gain de réponse significative par rapport aux patients ne recevant pas cette association. Dans la littérature, deux essais de phase II sont rapportés avec des réponses globale pour l'un sensiblement identique à nos taux de réponse (26% à 3 cycles mais ne concernant que les patients ayant reçu au moins 3 cycles) (193), et pour l'autre nettement supérieur, atteignant 42% sans réelle différence de cohorte, si ce n'est que la réévaluation s'effectuait à chaque cycle dans cette étude. Cette association n'a pas été évaluée dans un essai de phase III et ne semble pas privilégiée par rapport à d'autres notamment avec l'association avec le lenalidomide ou avec le gemtuzumab ozogamicin qui sont actuellement à l'étude (194–196).

L'objectif de notre étude était également d'obtenir des facteurs pronostiques moléculaires prédictifs de la réponse à l'azacytidine. Cette recherche s'inscrit dans la volonté de démembler à l'heure actuelle les mécanismes moléculaires impliqués dans la leucémogénèse, afin de proposer au patient la thérapeutique la plus adaptée en fonction des caractéristiques de

sa LAM qui reste une maladie très hétérogène au pronostic sombre. Plusieurs études mettent en avant ces facteurs pronostiques. Concernant l'azacytidine, Itzykson *et al*, retrouve un gain dans l'obtention de la réponse à l'azacytidine dans les SMD et les LAM faiblement blastiques en cas de mutation TET2. Récemment, l'équipe de Metzeler *et al* a mis en évidence sur une cohorte de 56 patients traités par decitabine pour LAM en première ligne un avantage significatif en terme de réponse complète (75% vs 34%) chez les patients présentant une mutation de *DNMT3A* renforcée en cas de mutation *NPM1* associée (210). L'impact des mutations *TET2*, *IDH1*, *IDH2*, *FLT3-ITD*, *FLT3-TKD* et *CEBPA* était également étudié mais sans résultat significatif avec une réserve sur le nombre très faible de mutations *IDH1/IDH2*. Dans notre étude, malgré un très grand nombre de gènes testés grâce à la nouvelle technologie de séquençage à ultra haut débit, peu d'entre eux étaient analysables en raison d'un nombre trop faible de patients et par conséquent du nombre trop faible de mutations pour une analyse statistique. De plus un biais de recrutement était inévitable dans une étude rétrospective avec une absence de prélèvement systématique notamment chez les personnes âgées en l'absence de conséquence thérapeutique. La seule mutation associée à un taux de réponse globale diminué est la mutation *IDH2* avec 0% de réponse pour les patients mutés contre 40% de réponse globale pour les patients non mutés. La mutation de *DNMT3A* n'apparaît pas comme un facteur pronostic de bonne réponse en sachant que cependant que quatre mutations *DNMT3A* sont associées à *IDH2* dans notre cohorte.

Si l'on examine la survie du patient de plus de 60 ans présentant un risque cytogénétique défavorable traité par chimiothérapie intensive, les résultats sont très sombre avec des survies médianes selon les études entre 3 à 6 mois (24,172,173,182). Une des approches à l'heure actuelle est de rechercher de nouveaux traitements plus efficaces pour ces patients (211). La survie médiane dans notre cohorte est de 7,1 mois avec une survie à 1 an estimée à 28%. Ces résultats sont légèrement inférieurs à la plupart des études rapportées dans la littérature avec cependant une proportion de patients en première ligne plus grande et/ou notamment une proportion de patient présentant une cytogénétique moins défavorable (189–191,193). De plus, il n'y a pas de biais de sélection protocolaire dans notre cohorte. Une étude de Fenaux *et al* diffère particulièrement de la notre avec une survie médiane obtenue de 24 mois dans le bras azacytidine contre 16 mois avec les traitements conventionnels (184). Une première remarque est que cette étude est beaucoup plus homogène que la notre et ne prend en compte que des patients en première ligne. Or, un des facteurs qui ressort dans notre étude est une

différence de réponse en fonction de la ligne avec une augmentation de la réponse globale en première ligne et une diminution significative de la survie globale en cas de traitement en 3^e ligne et plus ou en cas de rechute post allogreffe. Par ailleurs, 20% des patients décèdent dans notre cohorte avant 4 cures en raison d'une infection ce qui est nettement plus que dans l'étude de Fenaux et al. Cela pourrait s'expliquer par le fait qu'au moins la moitié de nos patients présente une LAM secondaire avec par conséquent des cytopénies anciennes. De plus, dans l'étude de Fenaux *et al*, il ne s'agit que de patients présentant une LAM avec moins de 30% de blastes. Dans notre cohorte, la blastose médullaire n'apparaît comme un facteur influant la réponse et il existe cependant une tendance à l'amélioration de la survie globale en cas de blastose médullaire inférieure à 30% avec une survie médiane de 8,4 mois contre 6,7 mois pour les LAM qui présentent une blastose médullaire supérieure à 30% (p=0,09). Ces résultats seront également à confirmer dans une cohorte de plus grand effectif.

Au final que pouvons-nous proposer pour augmenter la survie globale de ces patients âgés avec une cytogénétique défavorable ? Administrer un autre agent déméthylant ? Certaines études retrouvent avec la decitabine utilisée à la dose de 20mg/m² en intra-veineux pendant 10 jours des taux de RC atteignant 40% pour les patients traités en première ligne avec une survie médiane de 13 mois (210,212), mais les résultats semblent nettement moins bon en rechute et avec moins d'administrations hebdomadaires (187).

Trouver des associations efficaces avec l'azacytidine comme par exemple l'utilisation de gemtuzumab ozogamicin (194) ?

Ou bien proposer à plus de patients âgés en fonction de leur comorbidité une allogreffe de CSH ? Le facteur qui impacte le plus l'augmentation de la survie globale dans notre cohorte est la réalisation d'une allogreffe de CSH avec pourtant une médiane d'âge à la réalisation de l'allogreffe de 61 ans. La survie globale chez les patients allogreffés à l'issue du traitement par azacytidine est de 12,1 mois contre 6,8 mois chez les patients non allogreffés. Ces résultats sont retrouvés dans une étude franco-allemande s'intéressant au pronostic de patients âgés de 60 à 70 ans présentant un SMD de haut risque ou une LAM secondaire traitée par azacytidine en fonction de la présence d'un donneur pour une allogreffe de CSH ou non (213). Cette étude met en avant une amélioration de la survie globale significative à partir de 1 an de traitement et avec une survie à 2 ans de 39% pour les patients allogreffés *versus* 23% pour les patients non allogreffés. Cette piste mérite d'être explorée surtout à l'heure actuelle où les conditionnements atténués sont développés (181).

CONCLUSION

Les LAM sont des maladies très hétérogènes. Une des voies actuelles empruntées pour l'amélioration du pronostic est la mise en évidence de facteurs pronostiques et notamment moléculaires afin d'adapter au mieux la thérapeutique de chaque patient. Une autre stratégie, utilisée notamment chez le sujet âgé avec une cytogénétique défavorable, est l'utilisation de nouveaux traitements, la chimiothérapie classique ayant montré son inefficacité avec entre autre l'utilisation d'agents déméthylants répondant à la découverte de l'implication de l'hyperméthylation dans la leucémogénèse.

Cette étude rétrospective sur 102 patients traités par azacytidine pour une LAM avait pour but d'évaluer l'efficacité de ce traitement et de déterminer des facteurs pronostiques de réponse. Un des avantages de cette étude par rapport à celles rapportées dans la littérature est qu'elle ne prenait en compte que des patients traités pour une LAM et ne prenait pas en compte les patients présentant un SMD de haut risque. Une des faiblesses de cette cohorte est qu'elle était particulièrement hétérogène en terme de ligne de traitement, d'âge, et de caractéristiques moléculaires. Cependant malgré ces faiblesses, certains messages ressortent de cette cohorte. La survie médiane, plus que modeste, est cependant identique à celle obtenue avec la chimiothérapie standard chez les LAM de pronostic cytogénétique défavorable des patients âgés. On peut se poser la question d'une amélioration de la qualité de vie grâce à ce traitement par une prise en charge ambulatoire. Notre étude met en évidence le pronostic péjoratif des traitements par azacytidine en cas de LAM en rechute ou réfractaire, ce qui va dans le sens de la littérature actuelle et de l'hypothèse dans ce cas d'une plus grande susceptibilité aux complications infectieuses. Notre étude met également en avant l'intérêt d'une allogreffe de CSH chez ces patients traités par azacytidine chaque fois que les comorbidités et que la disponibilité d'un donneur le permettent.

Ces résultats pourraient à l'avenir être confortés après augmentation de la cohorte et une homogénéisation en limitant l'étude au LAM en première ligne. Cela pourrait également permettre la mise en évidence de facteurs pronostiques moléculaires qui semblent exploitables si on considère la littérature, et de confirmer le caractère défavorable de la mutation en terme de réponse à l'azacytidine.

BIBLIOGRAPHIE

1. Howlader N, Noone AM, Krapcho M, Neyman N, Aminou R, Waldron W, et al. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2009 (Vintage 2009 Populations), National Cancer Institute [Internet]. 2011. Available from: http://seer.cancer.gov/csr/1975_2009_pops09/
2. Sant M, Allemani C, Tereanu C, De Angelis R, Capocaccia R, Visser O, et al. Incidence of hematologic malignancies in Europe by morphologic subtype: results of the HAEMACARE project. *Blood*. 2010 Nov 11;116(19):3724–34.
3. Juliusson G, Antunovic P, Derolf A, Lehmann S, Möllgård L, Stockelberg D, et al. Age and acute myeloid leukemia: real world data on decision to treat and outcomes from the Swedish Acute Leukemia Registry. *Blood*. 2009 Apr 30;113(18):4179–87.
4. Hope KJ, Jin L, Dick JE. Acute myeloid leukemia originates from a hierarchy of leukemic stem cell classes that differ in self-renewal capacity. *Nat. Immunol*. 2004 Jul;5(7):738–43.
5. Gilliland DG, Jordan CT, Felix CA. The molecular basis of leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2004;80–97.
6. Kouzarides T. Chromatin modifications and their function. *Cell*. 2007 Feb 23;128(4):693–705.
7. Brodeur Joëlle, Toussaint Martin. Compaction de la chromatine. *Projetbleu*.
8. Bhalla KN. Epigenetic and chromatin modifiers as targeted therapy of hematologic malignancies. *J. Clin. Oncol*. 2005 Jun 10;23(17):3971–93.
9. Schones DE, Zhao K. Genome-wide approaches to studying chromatin modifications. *Nat. Rev. Genet*. 2008 Mar;9(3):179–91.
10. Herman JG, Baylin SB. Gene silencing in cancer in association with promoter hypermethylation. *N. Engl. J. Med*. 2003 Nov 20;349(21):2042–54.
11. Figueroa ME, Abdel-Wahab O, Lu C, Ward PS, Patel J, Shih A, et al. Leukemic IDH1 and IDH2 mutations result in a hypermethylation phenotype, disrupt TET2 function, and impair hematopoietic differentiation. *Cancer Cell*. 2010 Dec 14;18(6):553–67.
12. Figueroa ME, Lugthart S, Li Y, Erpelinck-Verschuere C, Deng X, Christos PJ, et al. DNA methylation signatures identify biologically distinct subtypes in acute myeloid leukemia. *Cancer Cell*. 2010 Jan 19;17(1):13–27.
13. Deneberg S, Guardiola P, Lennartsson A, Qu Y, Gaidzik V, Blanchet O, et al. Prognostic DNA methylation patterns in cytogenetically normal acute myeloid leukemia are predefined by stem cell chromatin marks. *Blood*. 2011 Nov 17;118(20):5573–82.
14. Löwenberg B, Downing JR, Burnett A. Acute myeloid leukemia. *N. Engl. J. Med*. 1999 Sep 30;341(14):1051–62.
15. Harris NL, Jaffe ES, Diebold J, Flandrin G, Muller-Hermelink HK, Vardiman J, et al. The World Health Organization classification of neoplastic diseases of the hematopoietic and lymphoid tissues. Report of the Clinical Advisory Committee meeting, Airlie House, Virginia, November, 1997. *Ann. Oncol*. 1999 Dec;10(12):1419–32.
16. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, Brunning RD, Borowitz MJ, Porwit A, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood*. 2009 Jul 30;114(5):937–51.

17. Mufti GJ, Bennett JM, Goasguen J, Bain BJ, Baumann I, Brunning R, et al. Diagnosis and classification of myelodysplastic syndrome: International Working Group on Morphology of myelodysplastic syndrome (IWGM-MDS) consensus proposals for the definition and enumeration of myeloblasts and ring sideroblasts. *Haematologica*. 2008 Nov 1;93(11):1712–7.
18. Döhner H, Estey EH, Amadori S, Appelbaum FR, Büchner T, Burnett AK, et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood*. 2010 Jan 21;115(3):453–74.
19. Fröhling S, Skelin S, Liebisch C, Scholl C, Schlenk RF, Döhner H, et al. Comparison of cytogenetic and molecular cytogenetic detection of chromosome abnormalities in 240 consecutive adult patients with acute myeloid leukemia. *J. Clin. Oncol*. 2002 May 15;20(10):2480–5.
20. Lugthart S, van Drunen E, van Norden Y, van Hoven A, Erpelinck CAJ, Valk PJM, et al. High EVI1 levels predict adverse outcome in acute myeloid leukemia: prevalence of EVI1 overexpression and chromosome 3q26 abnormalities underestimated. *Blood*. 2008 Apr 15;111(8):4329–37.
21. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, et al. Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group. *Br. J. Haematol*. 1976 Aug;33(4):451–8.
22. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, et al. Proposed revised criteria for the classification of acute myeloid leukemia. A report of the French-American-British Cooperative Group. *Ann. Intern. Med*. 1985 Oct;103(4):620–5.
23. Farag SS, Archer KJ, Mrózek K, Ruppert AS, Carroll AJ, Vardiman JW, et al. Pretreatment cytogenetics add to other prognostic factors predicting complete remission and long-term outcome in patients 60 years of age or older with acute myeloid leukemia: results from Cancer and Leukemia Group B 8461. *Blood*. 2006 Jul 1;108(1):63–73.
24. Fröhling S, Schlenk RF, Kayser S, Morhardt M, Benner A, Döhner K, et al. Cytogenetics and age are major determinants of outcome in intensively treated acute myeloid leukemia patients older than 60 years: results from AMLSG trial AML HD98-B. *Blood*. 2006 Nov 15;108(10):3280–8.
25. van der Holt B, Breems DA, Berna Beverloo H, van den Berg E, Burnett AK, Sonneveld P, et al. Various distinctive cytogenetic abnormalities in patients with acute myeloid leukaemia aged 60 years and older express adverse prognostic value: results from a prospective clinical trial. *Br. J. Haematol*. 2007 Jan;136(1):96–105.
26. Büchner T, Berdel WE, Haferlach C, Haferlach T, Schnittger S, Müller-Tidow C, et al. Age-related risk profile and chemotherapy dose response in acute myeloid leukemia: a study by the German Acute Myeloid Leukemia Cooperative Group. *J. Clin. Oncol*. 2009 Jan 1;27(1):61–9.
27. Appelbaum FR, Gundacker H, Head DR, Slovak ML, Willman CL, Godwin JE, et al. Age and acute myeloid leukemia. *Blood*. 2006 May 1;107(9):3481–5.
28. Juliusson G, Antunovic P, Derolf A, Lehmann S, Möllgård L, Stockelberg D, et al. Age and acute myeloid leukemia: real world data on decision to treat and outcomes from the Swedish Acute Leukemia Registry. *Blood*. 2009 Apr 30;113(18):4179–87.
29. Schneider F, Hoster E, Schneider S, Dufour A, Benthaus T, Kakadia PM, et al. Age-dependent frequencies of NPM1 mutations and FLT3-ITD in patients with normal karyotype AML (NK-AML). *Ann. Hematol*. 2012 Jan;91(1):9–18.
30. Sorrow ML, Maris MB, Storb R, Baron F, Sandmaier BM, Maloney DG, et al. Hematopoietic cell transplantation (HCT)-specific comorbidity index: a new tool for risk assessment before allogeneic HCT. *Blood*. 2005 Oct 15;106(8):2912–9.

31. Etienne A, Esterni B, Charbonnier A, Mozziconacci M-J, Arnoulet C, Coso D, et al. Comorbidity is an independent predictor of complete remission in elderly patients receiving induction chemotherapy for acute myeloid leukemia. *Cancer*. 2007 Apr 1;109(7):1376–83.
32. Giles FJ, Borthakur G, Ravandi F, Faderl S, Verstovsek S, Thomas D, et al. The haematopoietic cell transplantation comorbidity index score is predictive of early death and survival in patients over 60 years of age receiving induction therapy for acute myeloid leukaemia. *Br. J. Haematol*. 2007 Feb;136(4):624–7.
33. Marbello L, Ricci F, Nosari AM, Turrini M, Nador G, Nichelatti M, et al. Outcome of hyperleukocytic adult acute myeloid leukaemia: a single-center retrospective study and review of literature. *Leuk. Res*. 2008 Aug;32(8):1221–7.
34. Greenwood MJ, Seftel MD, Richardson C, Barbaric D, Barnett MJ, Bruyere H, et al. Leukocyte count as a predictor of death during remission induction in acute myeloid leukemia. *Leuk. Lymphoma*. 2006 Jul;47(7):1245–52.
35. Byrd JC, Mrózek K, Dodge RK, Carroll AJ, Edwards CG, Arthur DC, et al. Pretreatment cytogenetic abnormalities are predictive of induction success, cumulative incidence of relapse, and overall survival in adult patients with de novo acute myeloid leukemia: results from Cancer and Leukemia Group B (CALGB 8461). *Blood*. 2002 Dec 15;100(13):4325–36.
36. Slovak ML, Kopecky KJ, Cassileth PA, Harrington DH, Theil KS, Mohamed A, et al. Karyotypic analysis predicts outcome of preremission and postremission therapy in adult acute myeloid leukemia: a Southwest Oncology Group/Eastern Cooperative Oncology Group Study. *Blood*. 2000 Dec 15;96(13):4075–83.
37. Kantarjian H, O'Brien S, Cortes J, Giles F, Faderl S, Jabbour E, et al. Results of intensive chemotherapy in 998 patients age 65 years or older with acute myeloid leukemia or high-risk myelodysplastic syndrome: predictive prognostic models for outcome. *Cancer*. 2006 Mar 1;106(5):1090–8.
38. Wheatley K, Brookes CL, Howman AJ, Goldstone AH, Milligan DW, Prentice AG, et al. Prognostic factor analysis of the survival of elderly patients with AML in the MRC AML11 and LRF AML14 trials. *Br. J. Haematol*. 2009 Jun;145(5):598–605.
39. Goldstone AH, Burnett AK, Wheatley K, Smith AG, Hutchinson RM, Clark RE. Attempts to improve treatment outcomes in acute myeloid leukemia (AML) in older patients: the results of the United Kingdom Medical Research Council AML11 trial. *Blood*. 2001 Sep 1;98(5):1302–11.
40. Gahn B, Haase D, Unterhalt M, Drescher M, Schoch C, Fonatsch C, et al. De novo AML with dysplastic hematopoiesis: cytogenetic and prognostic significance. *Leukemia*. 1996 Jun;10(6):946–51.
41. Goasguen JE, Matsuo T, Cox C, Bennett JM. Evaluation of the dysmyelopoiesis in 336 patients with de novo acute myeloid leukemia: major importance of dysgranulopoiesis for remission and survival. *Leukemia*. 1992 Jun;6(6):520–5.
42. Wakui M, Kuriyama K, Miyazaki Y, Hata T, Taniwaki M, Ohtake S, et al. Diagnosis of acute myeloid leukemia according to the WHO classification in the Japan Adult Leukemia Study Group AML-97 protocol. *Int. J. Hematol*. 2008 Mar;87(2):144–51.
43. Haferlach T, Schoch C, Löffler H, Gassmann W, Kern W, Schnittger S, et al. Morphologic dysplasia in de novo acute myeloid leukemia (AML) is related to unfavorable cytogenetics but has no independent prognostic relevance under the conditions of intensive induction therapy: results of a multiparameter analysis from the German AML Cooperative Group studies. *J. Clin. Oncol*. 2003 Jan 15;21(2):256–65.

44. Miesner M, Haferlach C, Bacher U, Weiss T, Maciejewski K, Kohlmann A, et al. Multilineage dysplasia (MLD) in acute myeloid leukemia (AML) correlates with MDS-related cytogenetic abnormalities and a prior history of MDS or MDS/MPN but has no independent prognostic relevance: a comparison of 408 cases classified as “AML not otherwise specified” (AML-NOS) or “AML with myelodysplasia-related changes” (AML-MRC). *Blood*. 2010 Oct 14;116(15):2742–51.
45. Hann IM, Stevens RF, Goldstone AH, Rees JK, Wheatley K, Gray RG, et al. Randomized comparison of DAT versus ADE as induction chemotherapy in children and younger adults with acute myeloid leukemia. Results of the Medical Research Council’s 10th AML trial (MRC AML10). Adult and Childhood Leukaemia Working Parties of the Medical Research Council. *Blood*. 1997 Apr 1;89(7):2311–8.
46. Godwin JE, Kopecky KJ, Head DR, Willman CL, Leith CP, Hynes HE, et al. A double-blind placebo-controlled trial of granulocyte colony-stimulating factor in elderly patients with previously untreated acute myeloid leukemia: a Southwest oncology group study (9031). *Blood*. 1998 May 15;91(10):3607–15.
47. Löwenberg B, Suciú S, Archimbaud E, Haak H, Stryckmans P, de Cataldo R, et al. Mitoxantrone versus daunorubicin in induction-consolidation chemotherapy--the value of low-dose cytarabine for maintenance of remission, and an assessment of prognostic factors in acute myeloid leukemia in the elderly: final report. European Organization for the Research and Treatment of Cancer and the Dutch-Belgian Hemato-Oncology Cooperative Hovon Group. *J. Clin. Oncol.* 1998 Mar;16(3):872–81.
48. Löwenberg B, Suciú S, Archimbaud E, Ossenkoppele G, Verhoef GE, Vellenga E, et al. Use of recombinant GM-CSF during and after remission induction chemotherapy in patients aged 61 years and older with acute myeloid leukemia: final report of AML-11, a phase III randomized study of the Leukemia Cooperative Group of European Organisation for the Research and Treatment of Cancer and the Dutch Belgian Hemato-Oncology Cooperative Group. *Blood*. 1997 Oct 15;90(8):2952–61.
49. Hoyle CF, de Bastos M, Wheatley K, Sherrington PD, Fischer PJ, Rees JK, et al. AML associated with previous cytotoxic therapy, MDS or myeloproliferative disorders: results from the MRC’s 9th AML trial. *Br. J. Haematol.* 1989 May;72(1):45–53.
50. Stölzel F, Pffirmann M, Aulitzky WE, Kaufmann M, Bodenstern H, Bornhäuser M, et al. Risk stratification using a new prognostic score for patients with secondary acute myeloid leukemia: results of the prospective AML96 trial. *Leukemia*. 2011 Mar;25(3):420–8.
51. Smith SM, Le Beau MM, Huo D, Karrison T, Sobecks RM, Anastasi J, et al. Clinical-cytogenetic associations in 306 patients with therapy-related myelodysplasia and myeloid leukemia: the University of Chicago series. *Blood*. 2003 Jul 1;102(1):43–52.
52. Finch SC. Radiation-induced leukemia: lessons from history. *Best Pract Res Clin Haematol.* 2007 Mar;20(1):109–18.
53. Kern W, Haferlach T, Schnittger S, Hiddemann W, Schoch C. Prognosis in therapy-related acute myeloid leukemia and impact of karyotype. *J. Clin. Oncol.* 2004 Jun 15;22(12):2510–1.
54. Greenberg P, Cox C, LeBeau MM, Fenaux P, Morel P, Sanz G, et al. International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. *Blood*. 1997 Mar 15;89(6):2079–88.
55. Mufti GJ. Pathobiology, classification, and diagnosis of myelodysplastic syndrome. *Best Pract Res Clin Haematol.* 2004 Dec;17(4):543–57.
56. Tefferi A, Vardiman JW. Myelodysplastic syndromes. *N. Engl. J. Med.* 2009 Nov 5;361(19):1872–85.

57. Leith CP, Kopecky KJ, Godwin J, McConnell T, Slovak ML, Chen IM, et al. Acute myeloid leukemia in the elderly: assessment of multidrug resistance (MDR1) and cytogenetics distinguishes biologic subgroups with remarkably distinct responses to standard chemotherapy. A Southwest Oncology Group study. *Blood*. 1997 May 1;89(9):3323–9.
58. Tam CS, Nussenzveig RM, Popat U, Bueso-Ramos CE, Thomas DA, Cortes JA, et al. The natural history and treatment outcome of blast phase BCR-ABL- myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 2008 Sep 1;112(5):1628–37.
59. Mrózek K, Heerema NA, Bloomfield CD. Cytogenetics in acute leukemia. *Blood Rev*. 2004 Jun;18(2):115–36.
60. Grimwade D, Hills RK, Moorman AV, Walker H, Chatters S, Goldstone AH, et al. Refinement of cytogenetic classification in acute myeloid leukemia: determination of prognostic significance of rare recurring chromosomal abnormalities among 5876 younger adult patients treated in the United Kingdom Medical Research Council trials. *Blood*. 2010 Jul 22;116(3):354–65.
61. Grimwade D, Walker H, Harrison G, Oliver F, Chatters S, Harrison CJ, et al. The predictive value of hierarchical cytogenetic classification in older adults with acute myeloid leukemia (AML): analysis of 1065 patients entered into the United Kingdom Medical Research Council AML11 trial. *Blood*. 2001 Sep 1;98(5):1312–20.
62. Wheatley K, Brookes CL, Howman AJ, Goldstone AH, Milligan DW, Prentice AG, et al. Prognostic factor analysis of the survival of elderly patients with AML in the MRC AML11 and LRF AML14 trials. *Br. J. Haematol*. 2009 Jun;145(5):598–605.
63. Breems DA, Van Putten WLJ, De Greef GE, Van Zelderen-Bhola SL, Gerssen-Schoorl KBJ, Mellink CHM, et al. Monosomal karyotype in acute myeloid leukemia: a better indicator of poor prognosis than a complex karyotype. *J. Clin. Oncol*. 2008 Oct 10;26(29):4791–7.
64. Medeiros BC, Othus M, Fang M, Roulston D, Appelbaum FR. Prognostic impact of monosomal karyotype in young adult and elderly acute myeloid leukemia: the Southwest Oncology Group (SWOG) experience. *Blood*. 2010 Sep 30;116(13):2224–8.
65. Kayser S, Zucknick M, Döhner K, Krauter J, Köhne C-H, Horst HA, et al. Monosomal karyotype in adult acute myeloid leukemia: prognostic impact and outcome after different treatment strategies. *Blood*. 2012 Jan 12;119(2):551–8.
66. Renneville A, Roumier C, Biggio V, Nibourel O, Boissel N, Fenaux P, et al. Cooperating gene mutations in acute myeloid leukemia: a review of the literature. *Leukemia*. 2008 May;22(5):915–31.
67. Mrózek K, Marcucci G, Paschka P, Whitman SP, Bloomfield CD. Clinical relevance of mutations and gene-expression changes in adult acute myeloid leukemia with normal cytogenetics: are we ready for a prognostically prioritized molecular classification? *Blood*. 2007 Jan 15;109(2):431–48.
68. Schlenk RF, Döhner K, Krauter J, Fröhling S, Corbacioglu A, Bullinger L, et al. Mutations and treatment outcome in cytogenetically normal acute myeloid leukemia. *N. Engl. J. Med*. 2008 May 1;358(18):1909–18.
69. Falini B, Nicoletti I, Martelli MF, Mecucci C. Acute myeloid leukemia carrying cytoplasmic/mutated nucleophosmin (NPMc+ AML): biologic and clinical features. *Blood*. 2007 Feb 1;109(3):874–85.
70. Falini B, Mecucci C, Tiacci E, Alcalay M, Rosati R, Pasqualucci L, et al. Cytoplasmic nucleophosmin in acute myelogenous leukemia with a normal karyotype. *N. Engl. J. Med*. 2005 Jan 20;352(3):254–66.

71. Boissel N, Renneville A, Biggio V, Philippe N, Thomas X, Cayuela J-M, et al. Prevalence, clinical profile, and prognosis of NPM mutations in AML with normal karyotype. *Blood*. 2005 Nov 15;106(10):3618–20.
72. Döhner K, Schlenk RF, Habdank M, Scholl C, Rucker FG, Corbacioglu A, et al. Mutant nucleophosmin (NPM1) predicts favorable prognosis in younger adults with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics: interaction with other gene mutations. *Blood*. 2005 Dec 1;106(12):3740–6.
73. Schnittger S, Schoch C, Kern W, Mecucci C, Tschulik C, Martelli MF, et al. Nucleophosmin gene mutations are predictors of favorable prognosis in acute myelogenous leukemia with a normal karyotype. *Blood*. 2005 Dec 1;106(12):3733–9.
74. Verhaak RGW, Goudswaard CS, van Putten W, Bijl MA, Sanders MA, Hagens W, et al. Mutations in nucleophosmin (NPM1) in acute myeloid leukemia (AML): association with other gene abnormalities and previously established gene expression signatures and their favorable prognostic significance. *Blood*. 2005 Dec 1;106(12):3747–54.
75. Chou W-C, Tang J-L, Lin L-I, Yao M, Tsay W, Chen C-Y, et al. Nucleophosmin mutations in de novo acute myeloid leukemia: the age-dependent incidences and the stability during disease evolution. *Cancer Res*. 2006 Mar 15;66(6):3310–6.
76. Schnittger S, Kern W, Tschulik C, Weiss T, Dicker F, Falini B, et al. Minimal residual disease levels assessed by NPM1 mutation-specific RQ-PCR provide important prognostic information in AML. *Blood*. 2009 Sep 10;114(11):2220–31.
77. Becker H, Marcucci G, Maharry K, Radmacher MD, Mrózek K, Margeson D, et al. Favorable prognostic impact of NPM1 mutations in older patients with cytogenetically normal de novo acute myeloid leukemia and associated gene- and microRNA-expression signatures: a Cancer and Leukemia Group B study. *J. Clin. Oncol*. 2010 Feb 1;28(4):596–604.
78. Röllig C, Thiede C, Gramatzki M, Aulitzky W, Bodenstein H, Bornhäuser M, et al. A novel prognostic model in elderly patients with acute myeloid leukemia: results of 909 patients entered into the prospective AML96 trial. *Blood*. 2010 Aug 12;116(6):971–8.
79. Scholl S, Theuer C, Scheble V, Kunert C, Heller A, Mügge L-O, et al. Clinical impact of nucleophosmin mutations and Flt3 internal tandem duplications in patients older than 60 yr with acute myeloid leukaemia. *Eur. J. Haematol*. 2008 Mar;80(3):208–15.
80. Nerlov C. C/EBPalpha mutations in acute myeloid leukaemias. *Nat. Rev. Cancer*. 2004 May;4(5):394–400.
81. Pabst T, Mueller BU, Zhang P, Radomska HS, Narravula S, Schnittger S, et al. Dominant-negative mutations of CEBPA, encoding CCAAT/enhancer binding protein-alpha (C/EBPalpha), in acute myeloid leukemia. *Nat. Genet*. 2001 Mar;27(3):263–70.
82. Radomska HS, Huettner CS, Zhang P, Cheng T, Scadden DT, Tenen DG. CCAAT/enhancer binding protein alpha is a regulatory switch sufficient for induction of granulocytic development from bipotential myeloid progenitors. *Mol. Cell. Biol*. 1998 Jul;18(7):4301–14.
83. Leroy H, Roumier C, Huyghe P, Biggio V, Fenaux P, Preudhomme C. CEBPA point mutations in hematological malignancies. *Leukemia*. 2005 Mar;19(3):329–34.
84. Preudhomme C, Sagot C, Boissel N, Cayuela J-M, Tigaud I, de Botton S, et al. Favorable prognostic significance of CEBPA mutations in patients with de novo acute myeloid leukemia: a study from the Acute Leukemia French Association (ALFA). *Blood*. 2002 Oct 15;100(8):2717–23.
85. Fröhling S, Schlenk RF, Stolze I, Bihlmayr J, Benner A, Kreitmeier S, et al. CEBPA

mutations in younger adults with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics: prognostic relevance and analysis of cooperating mutations. *J. Clin. Oncol.* 2004 Feb 15;22(4):624–33.

86. Dufour A, Schneider F, Metzeler KH, Hoster E, Schneider S, Zellmeier E, et al. Acute myeloid leukemia with biallelic CEBPA gene mutations and normal karyotype represents a distinct genetic entity associated with a favorable clinical outcome. *J. Clin. Oncol.* 2010 Feb 1;28(4):570–7.

87. Pabst T, Eyholzer M, Fos J, Mueller BU. Heterogeneity within AML with CEBPA mutations; only CEBPA double mutations, but not single CEBPA mutations are associated with favourable prognosis. *Br. J. Cancer.* 2009 Apr 21;100(8):1343–6.

88. Wouters BJ, Löwenberg B, Erpelinck-Verschueren CAJ, van Putten WLJ, Valk PJM, Delwel R. Double CEBPA mutations, but not single CEBPA mutations, define a subgroup of acute myeloid leukemia with a distinctive gene expression profile that is uniquely associated with a favorable outcome. *Blood.* 2009 Mar 26;113(13):3088–91.

89. Dufour A, Schneider F, Hoster E, Benthaus T, Ksienzyk B, Schneider S, et al. Monoallelic CEBPA mutations in normal karyotype acute myeloid leukemia: independent favorable prognostic factor within NPM1 mutated patients. *Ann. Hematol.* 2012 Jul;91(7):1051–63.

90. Bacher U, Kern W, Schnittger S, Hiddemann W, Haferlach T, Schoch C. Population-based age-specific incidences of cytogenetic subgroups of acute myeloid leukemia. *Haematologica.* 2005 Nov;90(11):1502–10.

91. Gilliland DG, Griffin JD. The roles of FLT3 in hematopoiesis and leukemia. *Blood.* 2002 Sep 1;100(5):1532–42.

92. Kottaridis PD, Gale RE, Frew ME, Harrison G, Langabeer SE, Belton AA, et al. The presence of a FLT3 internal tandem duplication in patients with acute myeloid leukemia (AML) adds important prognostic information to cytogenetic risk group and response to the first cycle of chemotherapy: analysis of 854 patients from the United Kingdom Medical Research Council AML 10 and 12 trials. *Blood.* 2001 Sep 15;98(6):1752–9.

93. Fröhling S, Schlenk RF, Breittruck J, Benner A, Kreitmeier S, Tobis K, et al. Prognostic significance of activating FLT3 mutations in younger adults (16 to 60 years) with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics: a study of the AML Study Group Ulm. *Blood.* 2002 Dec 15;100(13):4372–80.

94. Thiede C, Steudel C, Mohr B, Schaich M, Schäkel U, Platzbecker U, et al. Analysis of FLT3-activating mutations in 979 patients with acute myelogenous leukemia: association with FAB subtypes and identification of subgroups with poor prognosis. *Blood.* 2002 Jun 15;99(12):4326–35.

95. Yamamoto Y, Kiyoi H, Nakano Y, Suzuki R, Kodera Y, Miyawaki S, et al. Activating mutation of D835 within the activation loop of FLT3 in human hematologic malignancies. *Blood.* 2001 Apr 15;97(8):2434–9.

96. Beran M, Luthra R, Kantarjian H, Estey E. FLT3 mutation and response to intensive chemotherapy in young adult and elderly patients with normal karyotype. *Leuk. Res.* 2004 Jun;28(6):547–50.

97. Yanada M, Matsuo K, Suzuki T, Kiyoi H, Naoe T. Prognostic significance of FLT3 internal tandem duplication and tyrosine kinase domain mutations for acute myeloid leukemia: a meta-analysis. *Leukemia.* 2005 Aug;19(8):1345–9.

98. Gale RE, Green C, Allen C, Mead AJ, Burnett AK, Hills RK, et al. The impact of FLT3 internal tandem duplication mutant level, number, size, and interaction with NPM1 mutations in a large cohort of young adult patients with acute myeloid leukemia. *Blood.* 2008 Mar 1;111(5):2776–84.

99. Whitman SP, Archer KJ, Feng L, Baldus C, Becknell B, Carlson BD, et al. Absence of the wild-type allele predicts poor prognosis in adult de novo acute myeloid leukemia with normal cytogenetics and the internal tandem duplication of FLT3: a cancer and leukemia group B study. *Cancer Res.* 2001 Oct 1;61(19):7233–9.
100. Stirewalt DL, Kopecky KJ, Meshinchi S, Engel JH, Pogosova-Agadjanyan EL, Linsley J, et al. Size of FLT3 internal tandem duplication has prognostic significance in patients with acute myeloid leukemia. *Blood.* 2006 May 1;107(9):3724–6.
101. Stirewalt DL, Kopecky KJ, Meshinchi S, Appelbaum FR, Slovak ML, Willman CL, et al. FLT3, RAS, and TP53 mutations in elderly patients with acute myeloid leukemia. *Blood.* 2001 Jun 1;97(11):3589–95.
102. Beran M, Luthra R, Kantarjian H, Estey E. FLT3 mutation and response to intensive chemotherapy in young adult and elderly patients with normal karyotype. *Leuk. Res.* 2004 Jun;28(6):547–50.
103. Whitman SP, Ruppert AS, Radmacher MD, Mrózek K, Paschka P, Langer C, et al. FLT3 D835/I836 mutations are associated with poor disease-free survival and a distinct gene-expression signature among younger adults with de novo cytogenetically normal acute myeloid leukemia lacking FLT3 internal tandem duplications. *Blood.* 2008 Feb 1;111(3):1552–9.
104. Mead AJ, Linch DC, Hills RK, Wheatley K, Burnett AK, Gale RE. FLT3 tyrosine kinase domain mutations are biologically distinct from and have a significantly more favorable prognosis than FLT3 internal tandem duplications in patients with acute myeloid leukemia. *Blood.* 2007 Aug 15;110(4):1262–70.
105. Krivtsov AV, Armstrong SA. MLL translocations, histone modifications and leukaemia stem-cell development. *Nat. Rev. Cancer.* 2007 Nov;7(11):823–33.
106. Harper DP, Aplan PD. Chromosomal rearrangements leading to MLL gene fusions: clinical and biological aspects. *Cancer Res.* 2008 Dec 15;68(24):10024–7.
107. Caligiuri MA, Schichman SA, Strout MP, Mrózek K, Baer MR, Frankel SR, et al. Molecular rearrangement of the ALL-1 gene in acute myeloid leukemia without cytogenetic evidence of 11q23 chromosomal translocations. *Cancer Res.* 1994 Jan 15;54(2):370–3.
108. Whitman SP, Liu S, Vukosavljevic T, Rush LJ, Yu L, Liu C, et al. The MLL partial tandem duplication: evidence for recessive gain-of-function in acute myeloid leukemia identifies a novel patient subgroup for molecular-targeted therapy. *Blood.* 2005 Jul 1;106(1):345–52.
109. Steudel C, Wermke M, Schaich M, Schäkel U, Illmer T, Ehninger G, et al. Comparative analysis of MLL partial tandem duplication and FLT3 internal tandem duplication mutations in 956 adult patients with acute myeloid leukemia. *Genes Chromosomes Cancer.* 2003 Jul;37(3):237–51.
110. Schnittger S, Kinkelin U, Schoch C, Heinecke A, Haase D, Haferlach T, et al. Screening for MLL tandem duplication in 387 unselected patients with AML identify a prognostically unfavorable subset of AML. *Leukemia.* 2000 May;14(5):796–804.
111. Muñoz L, Nomdedéu JF, Villamor N, Guardia R, Colomer D, Ribera JM, et al. Acute myeloid leukemia with MLL rearrangements: clinicobiological features, prognostic impact and value of flow cytometry in the detection of residual leukemic cells. *Leukemia.* 2003 Jan;17(1):76–82.
112. Barjesteh van Waalwijk van Doorn-Khosrovani S, Erpelinck C, van Putten WLJ, Valk PJM, van der Poel-van de Luytgaarde S, Hack R, et al. High EVI1 expression predicts poor survival in acute myeloid leukemia: a study of 319 de novo AML patients. *Blood.* 2003 Feb 1;101(3):837–45.

113. Gröschel S, Lugthart S, Schlenk RF, Valk PJM, Eiwen K, Goudswaard C, et al. High EVI1 expression predicts outcome in younger adult patients with acute myeloid leukemia and is associated with distinct cytogenetic abnormalities. *J. Clin. Oncol.* 2010 Apr 20;28(12):2101–7.
114. Lugthart S, Figueroa ME, Bindels E, Skrabanek L, Valk PJM, Li Y, et al. Aberrant DNA hypermethylation signature in acute myeloid leukemia directed by EVI1. *Blood.* 2011 Jan 6;117(1):234–41.
115. Levine AJ, Momand J, Finlay CA. The p53 tumour suppressor gene. *Nature.* 1991 Jun 6;351(6326):453–6.
116. Grossmann V, Schnittger S, Kohlmann A, Eder C, Roller A, Dicker F, et al. A novel hierarchical prognostic model of AML solely based on molecular mutations. *Blood* [Internet]. 2012 Aug 20 [cited 2012 Aug 30]; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22915647>
117. Christiansen DH, Andersen MK, Pedersen-Bjergaard J. Mutations with loss of heterozygosity of p53 are common in therapy-related myelodysplasia and acute myeloid leukemia after exposure to alkylating agents and significantly associated with deletion or loss of 5q, a complex karyotype, and a poor prognosis. *J. Clin. Oncol.* 2001 Mar 1;19(5):1405–13.
118. Bowen D, Groves MJ, Burnett AK, Patel Y, Allen C, Green C, et al. TP53 gene mutation is frequent in patients with acute myeloid leukemia and complex karyotype, and is associated with very poor prognosis. *Leukemia.* 2009 Jan;23(1):203–6.
119. Rucker FG, Schlenk RF, Bullinger L, Kayser S, Teleanu V, Kett H, et al. TP53 alterations in acute myeloid leukemia with complex karyotype correlate with specific copy number alterations, monosomal karyotype, and dismal outcome. *Blood.* 2012 Mar 1;119(9):2114–21.
120. Haferlach C, Dicker F, Herholz H, Schnittger S, Kern W, Haferlach T. Mutations of the TP53 gene in acute myeloid leukemia are strongly associated with a complex aberrant karyotype. *Leukemia.* 2008 Aug;22(8):1539–41.
121. Bowen DT, Frew ME, Hills R, Gale RE, Wheatley K, Groves MJ, et al. RAS mutation in acute myeloid leukemia is associated with distinct cytogenetic subgroups but does not influence outcome in patients younger than 60 years. *Blood.* 2005 Sep 15;106(6):2113–9.
122. Bacher U, Haferlach T, Schoch C, Kern W, Schnittger S. Implications of NRAS mutations in AML: a study of 2502 patients. *Blood.* 2006 May 15;107(10):3847–53.
123. Shih L-Y, Huang C-F, Wang P-N, Wu J-H, Lin T-L, Dunn P, et al. Acquisition of FLT3 or N-ras mutations is frequently associated with progression of myelodysplastic syndrome to acute myeloid leukemia. *Leukemia.* 2004 Mar;18(3):466–75.
124. Goll MG, Bestor TH. Eukaryotic cytosine methyltransferases. *Annu. Rev. Biochem.* 2005;74:481–514.
125. Ley TJ, Ding L, Walter MJ, McLellan MD, Lamprecht T, Larson DE, et al. DNMT3A mutations in acute myeloid leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2010 Dec 16;363(25):2424–33.
126. Thol F, Damm F, Lüdeking A, Winschel C, Wagner K, Morgan M, et al. Incidence and prognostic influence of DNMT3A mutations in acute myeloid leukemia. *J. Clin. Oncol.* 2011 Jul 20;29(21):2889–96.
127. Hou H-A, Kuo Y-Y, Liu C-Y, Chou W-C, Lee MC, Chen C-Y, et al. DNMT3A mutations in acute myeloid leukemia: stability during disease evolution and clinical implications. *Blood.* 2012 Jan 12;119(2):559–68.
128. Ribeiro AFT, Pratcorona M, Erpelinck-Verschueren C, Rockova V, Sanders M, Abbas S, et al.

Mutant DNMT3A: a marker of poor prognosis in acute myeloid leukemia. *Blood*. 2012 Jun 14;119(24):5824–31.

129. Yan H, Parsons DW, Jin G, McLendon R, Rasheed BA, Yuan W, et al. IDH1 and IDH2 mutations in gliomas. *N. Engl. J. Med.* 2009 Feb 19;360(8):765–73.

130. Mardis ER, Ding L, Dooling DJ, Larson DE, McLellan MD, Chen K, et al. Recurring mutations found by sequencing an acute myeloid leukemia genome. *N. Engl. J. Med.* 2009 Sep 10;361(11):1058–66.

131. Marcucci G, Maharry K, Wu Y-Z, Radmacher MD, Mrózek K, Margeson D, et al. IDH1 and IDH2 gene mutations identify novel molecular subsets within de novo cytogenetically normal acute myeloid leukemia: a Cancer and Leukemia Group B study. *J. Clin. Oncol.* 2010 May 10;28(14):2348–55.

132. Boissel N, Nibourel O, Renneville A, Gardin C, Reman O, Contentin N, et al. Prognostic impact of isocitrate dehydrogenase enzyme isoforms 1 and 2 mutations in acute myeloid leukemia: a study by the Acute Leukemia French Association group. *J. Clin. Oncol.* 2010 Aug 10;28(23):3717–23.

133. Schnittger S, Haferlach C, Ulke M, Alpermann T, Kern W, Haferlach T. IDH1 mutations are detected in 6.6% of 1414 AML patients and are associated with intermediate risk karyotype and unfavorable prognosis in adults younger than 60 years and unmutated NPM1 status. *Blood*. 2010 Dec 16;116(25):5486–96.

134. Mohr F, Döhner K, Buske C, Rawat VPS. TET genes: new players in DNA demethylation and important determinants for stemness. *Exp. Hematol.* 2011 Mar;39(3):272–81.

135. Delhommeau F, Dupont S, Della Valle V, James C, Trannoy S, Massé A, et al. Mutation in TET2 in myeloid cancers. *N. Engl. J. Med.* 2009 May 28;360(22):2289–301.

136. Abdel-Wahab O, Mullally A, Hedvat C, Garcia-Manero G, Patel J, Wadleigh M, et al. Genetic characterization of TET1, TET2, and TET3 alterations in myeloid malignancies. *Blood*. 2009 Jul 2;114(1):144–7.

137. Metzeler KH, Maharry K, Radmacher MD, Mrózek K, Margeson D, Becker H, et al. TET2 mutations improve the new European LeukemiaNet risk classification of acute myeloid leukemia: a Cancer and Leukemia Group B study. *J. Clin. Oncol.* 2011 Apr 1;29(10):1373–81.

138. Weissmann S, Alpermann T, Grossmann V, Kowarsch A, Nadarajah N, Eder C, et al. Landscape of TET2 mutations in acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 2012 May;26(5):934–42.

139. Nibourel O, Kosmider O, Cheok M, Boissel N, Renneville A, Philippe N, et al. Incidence and prognostic value of TET2 alterations in de novo acute myeloid leukemia achieving complete remission. *Blood*. 2010 Aug 19;116(7):1132–5.

140. Fisher CL, Randazzo F, Humphries RK, Brock HW. Characterization of Asx11, a murine homolog of Additional sex combs, and analysis of the Asx-like gene family. *Gene*. 2006 Mar 15;369:109–18.

141. Carbuccia N, Trouplin V, Gelsi-Boyer V, Murati A, Rocquain J, Adélaïde J, et al. Mutual exclusion of ASXL1 and NPM1 mutations in a series of acute myeloid leukemias. *Leukemia*. 2010 Feb;24(2):469–73.

142. Boultonwood J, Perry J, Pellagatti A, Fernandez-Mercado M, Fernandez-Santamaria C, Calasanz MJ, et al. Frequent mutation of the polycomb-associated gene ASXL1 in the myelodysplastic syndromes and in acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 2010 May;24(5):1062–5.

143. Chou W-C, Huang H-H, Hou H-A, Chen C-Y, Tang J-L, Yao M, et al. Distinct clinical and

- biological features of de novo acute myeloid leukemia with additional sex comb-like 1 (ASXL1) mutations. *Blood*. 2010 Nov 18;116(20):4086–94.
144. Metzeler KH, Becker H, Maharry K, Radmacher MD, Kohlschmidt J, Mrózek K, et al. ASXL1 mutations identify a high-risk subgroup of older patients with primary cytogenetically normal AML within the ELN Favorable genetic category. *Blood*. 2011 Dec 22;118(26):6920–9.
145. Pratcorona M, Abbas S, Sanders MA, Koenders JE, Kavelaars FG, Erpelinck-Verschueren CAJ, et al. Acquired mutations in ASXL1 in acute myeloid leukemia: prevalence and prognostic value. *Haematologica*. 2012 Mar;97(3):388–92.
146. Schnittger S, Eder C, Jeromin S, Alpermann T, Fasan A, Grossmann V, et al. ASXL1 exon 12 mutations are frequent in AML with intermediate risk karyotype and are independently associated with an adverse outcome. *Leukemia* [Internet]. 2012 Sep 11 [cited 2012 Sep 29]; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23018865>
147. Simon JA, Lange CA. Roles of the EZH2 histone methyltransferase in cancer epigenetics. *Mutat. Res*. 2008 Dec 1;647(1-2):21–9.
148. Ernst T, Chase AJ, Score J, Hidalgo-Curtis CE, Bryant C, Jones AV, et al. Inactivating mutations of the histone methyltransferase gene EZH2 in myeloid disorders. *Nat. Genet*. 2010 Aug;42(8):722–6.
149. Makishima H, Jankowska AM, Tiu RV, Szpurka H, Sugimoto Y, Hu Z, et al. Novel homo- and hemizygous mutations in EZH2 in myeloid malignancies. *Leukemia*. 2010 Oct;24(10):1799–804.
150. Tanaka S, Miyagi S, Sashida G, Chiba T, Yuan J, Mochizuki-Kashio M, et al. Ezh2 augments leukemogenicity by reinforcing differentiation blockage in acute myeloid leukemia. *Blood*. 2012 Aug 2;120(5):1107–17.
151. Xu F, Li X, Wu L, Zhang Q, Yang R, Yang Y, et al. Overexpression of the EZH2, RING1 and BMI1 genes is common in myelodysplastic syndromes: relation to adverse epigenetic alteration and poor prognostic scoring. *Ann. Hematol*. 2011 Jun;90(6):643–53.
152. Lutterbach B, Hiebert SW. Role of the transcription factor AML-1 in acute leukemia and hematopoietic differentiation. *Gene*. 2000 Mar 21;245(2):223–35.
153. Preudhomme C, Warot-Loze D, Roumier C, Gardel-Duflos N, Garand R, Lai JL, et al. High incidence of biallelic point mutations in the Runt domain of the AML1/PEBP2 alpha B gene in Mo acute myeloid leukemia and in myeloid malignancies with acquired trisomy 21. *Blood*. 2000 Oct 15;96(8):2862–9.
154. Harada H, Harada Y, Tanaka H, Kimura A, Inaba T. Implications of somatic mutations in the AML1 gene in radiation-associated and therapy-related myelodysplastic syndrome/acute myeloid leukemia. *Blood*. 2003 Jan 15;101(2):673–80.
155. Harada H, Harada Y, Niimi H, Kyo T, Kimura A, Inaba T. High incidence of somatic mutations in the AML1/RUNX1 gene in myelodysplastic syndrome and low blast percentage myeloid leukemia with myelodysplasia. *Blood*. 2004 Mar 15;103(6):2316–24.
156. Mandler JH, Maharry K, Radmacher MD, Mrózek K, Becker H, Metzeler KH, et al. RUNX1 Mutations Are Associated With Poor Outcome in Younger and Older Patients With Cytogenetically Normal Acute Myeloid Leukemia and With Distinct Gene and MicroRNA Expression Signatures. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology* [Internet]. 2012 Jul 2 [cited 2012 Aug 18]; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22753902>
157. Tang J-L, Hou H-A, Chen C-Y, Liu C-Y, Chou W-C, Tseng M-H, et al. AML1/RUNX1

- mutations in 470 adult patients with de novo acute myeloid leukemia: prognostic implication and interaction with other gene alterations. *Blood*. 2009 Dec 17;114(26):5352–61.
158. Gaidzik VI, Bullinger L, Schlenk RF, Zimmermann AS, Röck J, Paschka P, et al. RUNX1 mutations in acute myeloid leukemia: results from a comprehensive genetic and clinical analysis from the AML study group. *J. Clin. Oncol.* 2011 Apr 1;29(10):1364–72.
159. Schnittger S, Dicker F, Kern W, Wendland N, Sundermann J, Alpermann T, et al. RUNX1 mutations are frequent in de novo AML with noncomplex karyotype and confer an unfavorable prognosis. *Blood*. 2011 Feb 24;117(8):2348–57.
160. Greif PA, Konstandin NP, Metzeler KH, Herold T, Pasalic Z, Ksienzyk B, et al. RUNX1 mutations in cytogenetically normal acute myeloid leukemia are associated with poor prognosis and up-regulation of lymphoid genes. *Haematologica* [Internet]. 2012 Jun 11 [cited 2012 Aug 18]; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22689681>
161. Wheatley K, Burnett AK, Goldstone AH, Gray RG, Hann IM, Harrison CJ, et al. A simple, robust, validated and highly predictive index for the determination of risk-directed therapy in acute myeloid leukaemia derived from the MRC AML 10 trial. United Kingdom Medical Research Council's Adult and Childhood Leukaemia Working Parties. *Br. J. Haematol.* 1999 Oct;107(1):69–79.
162. Sekeres MA, Elson P, Kalaycio ME, Advani AS, Copelan EA, Faderl S, et al. Time from diagnosis to treatment initiation predicts survival in younger, but not older, acute myeloid leukemia patients. *Blood*. 2009 Jan 1;113(1):28–36.
163. Fernandez HF, Sun Z, Yao X, Litzow MR, Luger SM, Paietta EM, et al. Anthracycline dose intensification in acute myeloid leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2009 Sep 24;361(13):1249–59.
164. Byrd JC, Dodge RK, Carroll A, Baer MR, Edwards C, Stamberg J, et al. Patients with t(8;21)(q22;q22) and acute myeloid leukemia have superior failure-free and overall survival when repetitive cycles of high-dose cytarabine are administered. *J. Clin. Oncol.* 1999 Dec;17(12):3767–75.
165. Byrd JC, Ruppert AS, Mrózek K, Carroll AJ, Edwards CG, Arthur DC, et al. Repetitive cycles of high-dose cytarabine benefit patients with acute myeloid leukemia and inv(16)(p13q22) or t(16;16)(p13;q22): results from CALGB 8461. *J. Clin. Oncol.* 2004 Mar 15;22(6):1087–94.
166. Yanada M, Matsuo K, Emi N, Naoe T. Efficacy of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation depends on cytogenetic risk for acute myeloid leukemia in first disease remission: a metaanalysis. *Cancer*. 2005 Apr 15;103(8):1652–8.
167. Cornelissen JJ, van Putten WLJ, Verdonck LF, Theobald M, Jacky E, Daenen SMG, et al. Results of a HOVON/SAKK donor versus no-donor analysis of myeloablative HLA-identical sibling stem cell transplantation in first remission acute myeloid leukemia in young and middle-aged adults: benefits for whom? *Blood*. 2007 May 1;109(9):3658–66.
168. Koreth J, Schlenk R, Kopecky KJ, Honda S, Sierra J, Djulbegovic BJ, et al. Allogeneic stem cell transplantation for acute myeloid leukemia in first complete remission: systematic review and meta-analysis of prospective clinical trials. *JAMA*. 2009 Jun 10;301(22):2349–61.
169. Ferrara F, Palmieri S, Mele G. Prognostic factors and therapeutic options for relapsed or refractory acute myeloid leukemia. *Haematologica*. 2004 Aug;89(8):998–1008.
170. Breems DA, Van Putten WLJ, Huijgens PC, Ossenkoppele GJ, Verhoef GEG, Verdonck LF, et al. Prognostic index for adult patients with acute myeloid leukemia in first relapse. *J. Clin. Oncol.* 2005 Mar 20;23(9):1969–78.
171. Czibere A, Bruns I, Kröger N, Platzbecker U, Lind J, Zohren F, et al. 5-Azacytidine for the

treatment of patients with acute myeloid leukemia or myelodysplastic syndrome who relapse after allo-SCT: a retrospective analysis. *Bone Marrow Transplant.* 2010 May;45(5):872–6.

172. Rao AV, Valk PJM, Metzeler KH, Acharya CR, Tuchman SA, Stevenson MM, et al. Age-specific differences in oncogenic pathway dysregulation and anthracycline sensitivity in patients with acute myeloid leukemia. *J. Clin. Oncol.* 2009 Nov 20;27(33):5580–6.

173. Appelbaum FR, Gundacker H, Head DR, Slovak ML, Willman CL, Godwin JE, et al. Age and acute myeloid leukemia. *Blood.* 2006 May 1;107(9):3481–5.

174. Löwenberg B, Ossenkoppele GJ, van Putten W, Schouten HC, Graux C, Ferrant A, et al. High-dose daunorubicin in older patients with acute myeloid leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2009 Sep 24;361(13):1235–48.

175. Castaigne S, Pautas C, Terré C, Raffoux E, Bordessoule D, Bastie J-N, et al. Effect of gemtuzumab ozogamicin on survival of adult patients with de-novo acute myeloid leukaemia (ALFA-0701): a randomised, open-label, phase 3 study. *Lancet.* 2012 Apr 21;379(9825):1508–16.

176. Burnett AK, Russell NH, Hills RK, Kell J, Freeman S, Kjeldsen L, et al. Addition of Gemtuzumab Ozogamicin to Induction Chemotherapy Improves Survival in Older Patients With Acute Myeloid Leukemia. *J. Clin. Oncol.* [Internet]. 2012 Jul 30 [cited 2012 Sep 29]; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22851554>

177. Büchner T, Hiddemann W, Berdel WE, Wörmann B, Schoch C, Fonatsch C, et al. 6-Thioguanine, cytarabine, and daunorubicin (TAD) and high-dose cytarabine and mitoxantrone (HAM) for induction, TAD for consolidation, and either prolonged maintenance by reduced monthly TAD or TAD-HAM-TAD and one course of intensive consolidation by sequential HAM in adult patients at all ages with de novo acute myeloid leukemia (AML): a randomized trial of the German AML Cooperative Group. *J. Clin. Oncol.* 2003 Dec 15;21(24):4496–504.

178. Itzykson R, Gardin C, Pautas C, Thomas X, Turlure P, Raffoux E, et al. Impact of post-remission therapy in patients aged 65-70 years with de novo acute myeloid leukemia: a comparison of two concomitant randomized ALFA trials with overlapping age inclusion criteria. *Haematologica.* 2011 Jun;96(6):837–44.

179. Stone RM, Berg DT, George SL, Dodge RK, Paciucci PA, Schulman PP, et al. Postremission therapy in older patients with de novo acute myeloid leukemia: a randomized trial comparing mitoxantrone and intermediate-dose cytarabine with standard-dose cytarabine. *Blood.* 2001 Aug 1;98(3):548–53.

180. Becker H, Marcucci G, Maharry K, Radmacher MD, Mrózek K, Margeson D, et al. Favorable prognostic impact of NPM1 mutations in older patients with cytogenetically normal de novo acute myeloid leukemia and associated gene- and microRNA-expression signatures: a Cancer and Leukemia Group B study. *J. Clin. Oncol.* 2010 Feb 1;28(4):596–604.

181. Estey E, de Lima M, Tibes R, Pierce S, Kantarjian H, Champlin R, et al. Prospective feasibility analysis of reduced-intensity conditioning (RIC) regimens for hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) in elderly patients with acute myeloid leukemia (AML) and high-risk myelodysplastic syndrome (MDS). *Blood.* 2007 Feb 15;109(4):1395–400.

182. Knipp S, Hildebrand B, Kündgen A, Giagounidis A, Kobbe G, Haas R, et al. Intensive chemotherapy is not recommended for patients aged >60 years who have myelodysplastic syndromes or acute myeloid leukemia with high-risk karyotypes. *Cancer.* 2007 Jul 15;110(2):345–52.

183. Burnett AK, Milligan D, Prentice AG, Goldstone AH, McMullin MF, Hills RK, et al. A comparison of low-dose cytarabine and hydroxyurea with or without all-trans retinoic acid for acute

myeloid leukemia and high-risk myelodysplastic syndrome in patients not considered fit for intensive treatment. *Cancer*. 2007 Mar 15;109(6):1114–24.

184. Fenaux P, Mufti GJ, Hellström-Lindberg E, Santini V, Gattermann N, Germing U, et al. Azacitidine prolongs overall survival compared with conventional care regimens in elderly patients with low bone marrow blast count acute myeloid leukemia. *J. Clin. Oncol*. 2010 Feb 1;28(4):562–9.

185. Goffin J, Eisenhauer E. DNA methyltransferase inhibitors-state of the art. *Ann. Oncol*. 2002 Nov;13(11):1699–716.

186. Lübbert M, Rüter BH, Claus R, Schmoor C, Schmid M, Germing U, et al. A multicenter phase II trial of decitabine as first-line treatment for older patients with acute myeloid leukemia judged unfit for induction chemotherapy. *Haematologica*. 2012 Mar;97(3):393–401.

187. Kantarjian HM, Thomas XG, Dmoszynska A, Wierzbowska A, Mazur G, Mayer J, et al. Multicenter, randomized, open-label, phase III trial of decitabine versus patient choice, with physician advice, of either supportive care or low-dose cytarabine for the treatment of older patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia. *J. Clin. Oncol*. 2012 Jul 20;30(21):2670–7.

188. Fenaux P, Mufti GJ, Hellstrom-Lindberg E, Santini V, Finelli C, Giagounidis A, et al. Efficacy of azacitidine compared with that of conventional care regimens in the treatment of higher-risk myelodysplastic syndromes: a randomised, open-label, phase III study. *Lancet Oncol*. 2009 Mar;10(3):223–32.

189. Thepot S, Itzykson R, Seegers V, Raffoux E, Quesnel B, Chait Y, et al. Treatment of progression of Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms to myelodysplastic syndrome or acute myeloid leukemia by azacitidine: a report on 54 cases on the behalf of the Groupe Francophone des Myelodysplasies (GFM). *Blood*. 2010 Nov 11;116(19):3735–42.

190. Al-Ali HK, Jaekel N, Junghanss C, Maschmeyer G, Krahl R, Cross M, et al. Azacitidine in patients with acute myeloid leukemia medically unfit for or resistant to chemotherapy: a multicenter phase I/II study. *Leuk. Lymphoma*. 2012 Jan;53(1):110–7.

191. Maurillo L, Venditti A, Spagnoli A, Gaidano G, Ferrero D, Oliva E, et al. Azacitidine for the treatment of patients with acute myeloid leukemia: report of 82 patients enrolled in an Italian Compassionate Program. *Cancer*. 2012 Feb 15;118(4):1014–22.

192. Soriano AO, Yang H, Faderl S, Estrov Z, Giles F, Ravandi F, et al. Safety and clinical activity of the combination of 5-azacytidine, valproic acid, and all-trans retinoic acid in acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome. *Blood*. 2007 Oct 1;110(7):2302–8.

193. Raffoux E, Cras A, Recher C, Boëlle P-Y, de Labarthe A, Turlure P, et al. Phase 2 clinical trial of 5-azacitidine, valproic acid, and all-trans retinoic acid in patients with high-risk acute myeloid leukemia or myelodysplastic syndrome. *Oncotarget*. 2010 May;1(1):34–42.

194. Nand S, Godwin J, Smith S, Barton K, Michaelis L, Alkan S, et al. Hydroxyurea, azacitidine and gemtuzumab ozogamicin therapy in patients with previously untreated non-M3 acute myeloid leukemia and high-risk myelodysplastic syndromes in the elderly: results from a pilot trial. *Leuk. Lymphoma*. 2008 Nov;49(11):2141–7.

195. Pollyea DA, Kohrt HE, Gallegos L, Figueroa ME, Abdel-Wahab O, Zhang B, et al. Safety, efficacy and biological predictors of response to sequential azacitidine and lenalidomide for elderly patients with acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 2012 May;26(5):893–901.

196. Ramsingh G, Westervelt P, Cashen AF, Uy GL, Stockerl-Goldstein K, Abboud CN, et al. A phase 1 study of concomitant high-dose lenalidomide and 5-azacitidine induction in the treatment of AML. *Leukemia* [Internet]. 2012 Jul 25 [cited 2012 Sep 29]; Available from:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22828444>

197. Itzykson R, Thépot S, Quesnel B, Dreyfus F, Beyne-Rauzy O, Turlure P, et al. Prognostic factors for response and overall survival in 282 patients with higher-risk myelodysplastic syndromes treated with azacitidine. *Blood*. 2011 Jan 13;117(2):403–11.
198. van der Helm LH, Alhan C, Wijermans PW, van Marwijk Kooy M, Schaafsma R, Biemond BJ, et al. Platelet doubling after the first azacitidine cycle is a promising predictor for response in myelodysplastic syndromes (MDS), chronic myelomonocytic leukaemia (CMML) and acute myeloid leukaemia (AML) patients in the Dutch azacitidine compassionate named patient programme. *Br. J. Haematol*. 2011 Dec;155(5):599–606.
199. Itzykson R, Kosmider O, Cluzeau T, Mansat-De Mas V, Dreyfus F, Beyne-Rauzy O, et al. Impact of TET2 mutations on response rate to azacitidine in myelodysplastic syndromes and low blast count acute myeloid leukemias. *Leukemia*. 2011 Jul;25(7):1147–52.
200. Cheson BD, Greenberg PL, Bennett JM, Lowenberg B, Wijermans PW, Nimer SD, et al. Clinical application and proposal for modification of the International Working Group (IWG) response criteria in myelodysplasia. *Blood*. 2006 Jul 15;108(2):419–25.
201. Boissel N, Renneville A, Biggio V, Philippe N, Thomas X, Cayuela J-M, et al. Prevalence, clinical profile, and prognosis of NPM mutations in AML with normal karyotype. *Blood*. 2005 Nov 15;106(10):3618–20.
202. Kiyoi H, Naoe T, Yokota S, Nakao M, Minami S, Kuriyama K, et al. Internal tandem duplication of FLT3 associated with leukocytosis in acute promyelocytic leukemia. Leukemia Study Group of the Ministry of Health and Welfare (Kohseisho). *Leukemia*. 1997 Sep;11(9):1447–52.
203. Abu-Duhier FM, Goodeve AC, Wilson GA, Care RS, Peake IR, Reilly JT. Identification of novel FLT-3 Asp835 mutations in adult acute myeloid leukaemia. *Br. J. Haematol*. 2001 Jun;113(4):983–8.
204. Preudhomme C, Sagot C, Boissel N, Cayuela J-M, Tigaud I, de Botton S, et al. Favorable prognostic significance of CEBPA mutations in patients with de novo acute myeloid leukemia: a study from the Acute Leukemia French Association (ALFA). *Blood*. 2002 Oct 15;100(8):2717–23.
205. Callens C, Chevret S, Cayuela J-M, Cassinat B, Raffoux E, de Botton S, et al. Prognostic implication of FLT3 and Ras gene mutations in patients with acute promyelocytic leukemia (APL): a retrospective study from the European APL Group. *Leukemia*. 2005 Jul;19(7):1153–60.
206. Boissel N, Nibourel O, Renneville A, Gardin C, Reman O, Contentin N, et al. Prognostic impact of isocitrate dehydrogenase enzyme isoforms 1 and 2 mutations in acute myeloid leukemia: a study by the Acute Leukemia French Association group. *J. Clin. Oncol*. 2010 Aug 10;28(23):3717–23.
207. Boissel N, Nibourel O, Renneville A, Huchette P, Dombret H, Preudhomme C. Differential prognosis impact of IDH2 mutations in cytogenetically normal acute myeloid leukemia. *Blood*. 2011 Mar 31;117(13):3696–7.
208. Rothberg JM, Hinz W, Rearick TM, Schultz J, Mileski W, Davey M, et al. An integrated semiconductor device enabling non-optical genome sequencing. *Nature*. 2011 Jul 21;475(7356):348–52.
209. Platzbecker U, Wermke M, Radke J, Oelschlaegel U, Seltmann F, Kiani A, et al. Azacitidine for treatment of imminent relapse in MDS or AML patients after allogeneic HSCT: results of the RELAZA trial. *Leukemia*. 2012 Mar;26(3):381–9.
210. Metzeler KH, Walker A, Geyer S, Garzon R, Klisovic RB, Bloomfield CD, et al. DNMT3A

mutations and response to the hypomethylating agent decitabine in acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 2012 May;26(5):1106–7.

211. Estey EH. Treatment of acute myeloid leukemia in the elderly. *Haematologica*. 2011 Jun;96(6):795–8.

212. Blum W, Garzon R, Klisovic RB, Schwind S, Walker A, Geyer S, et al. Clinical response and miR-29b predictive significance in older AML patients treated with a 10-day schedule of decitabine. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2010 Apr 20;107(16):7473–8.

213. Platzbecker U, Schetelig J, Finke J, Trenschele R, Scott BL, Kobbe G, et al. Allogeneic hematopoietic cell transplantation in patients age 60-70 years with de novo high-risk myelodysplastic syndrome or secondary acute myelogenous leukemia: comparison with patients lacking donors who received azacitidine. *Biol. Blood Marrow Transplant*. 2012 Sep;18(9):1415–21.

AUTEUR : Nom : GAY-GUERINET

Prénom : Julie

Date de Soutenance : 22 octobre 2012

Titre de la Thèse : Facteurs de réponse dans les leucémies aiguës myéloblastiques traitées par azacytidine

Thèse, Médecine, Lille,

Cadre de classement : DES de Spécialités Médicales, Hématologie clinique

Mots-clés : Leucémie aiguë myéloblastique, agents déméthylant, biologie moléculaire

Résumé :

Contexte :

Les leucémies aiguës myéloblastiques (LAM) ont un pronostic sombre, nécessitant de nouveaux traitements. Des facteurs pronostiques ont été validés dans le cadre de traitements conventionnels afin d'adapter le traitement aux caractéristiques de chaque patient. L'azacytidine est un agent déméthylant ayant démontré son efficacité dans les syndromes myélodysplasiques de haut risque dont l'efficacité et les facteurs pronostiques de réponse nécessitent d'être explorés dans les LAM.

Méthodes :

De manière rétrospective, les patients du Nord-Pas-de-Calais et d'Amiens traités par azacytidine pour une LAM entre 2007 et 2011 ont été recensés. Une recherche de mutations de 12 gènes sur ADN génomique par biologie moléculaire « classique » et séquençage ultra haut débit a été réalisée afin d'en évaluer leur impact pronostique.

Résultats :

Dans cette cohorte de 102 patients, l'âge médian était de 68 ans [20-82]. Les LAM secondaires représentaient 51% des cas. 57% étaient traités en 1^{ère} ligne, 20% en 2^e ligne et 23% en 3^e ligne et plus. 51% des patients présentaient un risque cytogénétique défavorable. La blastose médullaire médiane était de 35% [9 ; 93]. Le taux de réponse globale était de 19% avec une durée médiane de 9,5 mois [2,5-38,7]. 9 patients étaient allogreffés au terme du traitement par azacytidine. 39% des patients n'atteignaient pas l'administration des 4 cures dont 20% en raison d'une progression de la maladie. La ligne thérapeutique apparaît comme pronostique de la réponse à l'azacytidine avec 26% de réponse globale en première ligne contre 9% en deuxième ligne et plus (p=0,03). IDH2 muté apparaît comme un facteur pronostic péjoratif de réponse (40% vs 0%) parmi la recherche de mutations réalisées. La survie médiane de la cohorte était de 7,1 mois [IC95 : 5,3-8,8]. La ligne thérapeutique avait un impact péjoratif avec une survie médiane diminuée à 5,3 mois en cas de 3^e ligne et plus (P=0,04) et à 2,5 mois en cas d'antécédent d'allogreffe (p=0.02). A l'inverse, la réalisation d'une allogreffe à l'issue de traitement par azacytidine permet un allongement de la survie médiane à 12,1 mois (p=0,01).

Conclusion :

L'azacytidine est un traitement qui est à envisager chez le patient âgé en première ligne pour une LAM à caryotype complexe permettant une prise en charge ambulatoire. L'allogreffe à conditionnement atténué devra être envisagée chaque fois que possible chez ces patients. IDH2 muté apparaît dans une première analyse avoir un impact péjoratif sur l'obtention de la réponse.

Composition du Jury

Président : Monsieur le Professeur Thierry FACON

Assesseurs : Monsieur le Professeur Ibrahim YAKOUB-AGHA

Madame le Docteur Céline BERTHON

Madame le Docteur Aline RENNEVILLE

Directeur de thèse : Monsieur le Professeur Claude PREUDHOMME

Adresse de l'auteur :