



Université Lille 2
Droit et Santé

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

Année : 2013

THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN MÉDECINE

Et

MÉMOIRE DE DIPLÔME D'ÉTUDES SPÉCIALISÉES
EN HÉMATOLOGIE – MALADIES DU SANG

Intérêt du suivi de la maladie résiduelle en RQ-PCR après traitement dans les
leucémies aiguës myéloïdes avec translocation t(8;21)(q22;q22)

Présentée et soutenue publiquement le 11/10/2013 à 16h

Au Pôle Recherche

Par Christophe WILLEKENS

Jury

Président : Monsieur le Professeur JOUET Jean-Pierre

Assesseurs : Monsieur le Professeur BOISSEL Nicolas
Monsieur le Docteur DE BOTTON Stéphane
Madame le Docteur BERTHON Céline

Directeur de Thèse : Monsieur le Professeur PREUDHOMME Claude

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ABBREVIATIONS	3
RESUME	5
INTRODUCTION	7
I. Les leucémies aiguës myéloïdes :	
0 Physiopathologie des LAM :	
0 Origines cellulaires des LAM :	
0 Mécanismes biologiques responsables de la survenue des LAM :	
0 Diagnostic et classifications diagnostiques des LAM :	
0 Présentations cliniques :	
0 Diagnostic biologiques d'une LAM :	
0 Facteurs pronostiques des LAM :	
0 Facteurs pronostiques liés au patient :	
0 Age du patient :	
2) Etat général et comorbidités :	
0 Facteurs pronostiques liés à la LAM :	
1) Caractère secondaire ou induit par des traitements de la LAM :	
2) Facteurs pronostiques cytologiques et biologiques :	
3) Facteurs pronostiques cytogénétiques :	
a) Mutation de NPM1	
b) Mutation de CEBPA	
c) Mutation de FLT3	
d) Autres anomalies moléculaires décrites dans les LAM	
5) Facteurs pronostiques après traitement :	
0 Généralités sur la prise en charge thérapeutique des LAM :	
a) Prise en charge des LAM du sujet jeune :	
b) Prise en charge des LAM du sujet âgé :	
II. Les leucémies aiguës myéloïdes du groupe CBF :	
1. Biologie et physiopathologie des LAM avec t(8;21)(q22 ;q22) - RUNX1/RUNX1T1 :	
2. Particularités cliniques, biologiques et pronostiques de la LAM avec t(8;21)(q22;q22) :	
3. Comparaison entre les LAM du groupe CBF : t(8;21) et inv(16)/t(16;16) :	
4. Prise en charge thérapeutique des LAM du groupe CBF :	
a. Prise en charge des LAM du groupe CBF du sujet jeune	
b. Prise en charge des LAM du groupe CBF du sujet âgé	
c. Prise en charge des LAM du groupe CBF en rechute	
III. Principes et intérêts de la maladie résiduelle dans les LAM :	
1. Méthodes de détection de la maladie résiduelle dans les LAM :	
2. Maladie résiduelle en biologie moléculaire dans les LAM :	
a. Suivi moléculaire de la surexpression de WT1 :	

- b. Suivi moléculaire des mutations géniques :
- c. Suivi moléculaire du taux de transcrit de fusion chimérique

3. Maladie résiduelle en biologie moléculaire dans les LAM du groupe CBF :

- a. Généralités sur la maladie résiduelle dans les LAM CBF :
- b. Maladie résiduelle en RQ-PCR dans les LAM avec inv(16)/t(16;16)
 - 1) Corrélacion des résultats selon le type de prélèvement
 - 2) Valeur pronostique de la MRD pendant le traitement :
 - 3) Valeur pronostique de la MRD après traitement et pendant le suivi
- c. Maladie résiduelle en RQ-PCR dans les LAM avec t(8;21)(q22;q22)
 - 1) Corrélacion des résultats selon le type de prélèvement
 - 2) Valeur pronostique de la MRD pendant le traitement
 - 3) Valeur pronostique de la MRD après traitement et pendant le suivi

OBJECTIFS DE L'ETUDE.....	68
PATIENTS, MATERIEL ET METHODES.....	70
I. Patients :	
II. Mutations géniques :	
III. Traitements :	
IV. Evaluation de la maladie résiduelle :	
V. Analyse statistique :	
RESULTATS	755
I. Description des patients et des prélèvements	
1. Caractéristiques initiales des patients	
2. Evolution des patients pendant le traitement et cours du suivi	
3. Description des prélèvements disponibles pour l'évaluation de la MRD et résultats descriptifs	
II. Corrélacions des résultats de MRD entre les prélèvements sanguins et médullaires	
III. Impact pronostique de la MRD réalisée en fin de traitement	
IV. Intérêt du suivi de la MRD après traitement	
1. Profil évolutif de la MRD sur sang au cours du suivi	
2. Etude de la valeur pronostique de l'évolution de la MRD sur sang au cours du suivi	
V. Cas des patients avec MRD détectable en fin de suivi sans rechute hématologique	
DISCUSSION.....	107
CONCLUSION.....	11616
BIBLIOGRAPHIE	11617

LISTE DES ABREVIATIONS

AML1	Acute myeloid leukemia 1
ASXL1	Additional sex comb-like 1
BAALC	Brain and acute leukemia cytoplasmic
CALGB	Cancer and leukemia group B
CBF	Core binding factor
CBL	Cbl proto-oncogene, E3 ubiquitin protein ligase
CEBPA	CCAAT/enhancer-binding protein
CIR	Cumulative incidence of relapse
CMF	Cytométrie en flux
CSH	Cellules souches hématopoiétiques
CSL	Cellule souche leucémique
DFS	Disease-free survival
DNMT3A	DNA-méthyltransferase 3A
ECOG	Eastern cooperative oncology group
EFS	Event-free survival
ELN	European leukemianet
ETO	Eight-twenty one
EV11	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	Duplication en tandem de FLT3
FLT3-TKD	Mutation ponctuelle du domaine tyrosine kinase de FLT3
FPD	Familial platelet disorder
GATA2	GATA binding protein 2
GO	Gemtuzumab ozogamycin
IC	Intervalle de confiance
IDH	Isocitrate deshydrogénase
IQ	Interquartiles
JAK2	Janus kinase 2

LISTE DES ABREVIATIONS

KIT	V-kit Hardy-Zuckerman 4 feline sarcoma viral oncogene homolog
LAIP	Leukemia associated immunophenotype
LAM	Leucémie aigue myéloïde
LDH	Lactate deshydrogenase
LIC	Leukemia initiating cell
MLL	Mixed-lineage leukemia
MLL-PTD	Duplication partielle en tandem de MLL
MO	Moelle osseuse
MPO	Myéloperoxidase
MRC	Medical research council
MRD	Minimal residual disease
MYH	Myosin heavy chain 11, smooth muscle
NF1	Neurofibromin 1
NPM1	Nucleophosmine 1
OMS	Organisation mondiale de la santé
OS	Survie globale
PCR	Polymerase chain reaction
PHF6	PHD finger protein 6
PML	Promyelocytic leukemia
PTEN	Phosphatase and tensin homolog
PS	Performans status
RARA	Retinoic acid receptor alpha
RAS	Rat sarcoma viral oncogene homolog
RC	Rémission complète
RQ PCR	Real-time quantitative polymerase chain reaction
RUNX1	Runt-related transcription factor 1
RUNX1T1	Runt-related transcription factor 1; translocated to, 1(cyclin D-related)
SEER	Surveillance epidemiology and ends results program
SWOG/ECOG	Southwest oncology group/eastern cooperative oncology group
TET	Ten eleven translocation
TP53	Tumor protein p53
WT1	Wilms tumor

RÉSUMÉ

Titre : Intérêt du suivi de la maladie résiduelle en RQ-PCR après traitement dans les leucémies aigues myéloïdes avec translocation t(8;21)(q22;q22).

Contexte :

Près d'un tiers des patients présentant une leucémie aigue myéloïde (LAM) avec t(8;21)(q22;q22) va présenter une rechute hématologique au cours du suivi malgré le pronostic favorable attribué à ce sous-type de LAM. Ces LAM sont caractérisées par la fusion des gènes *RUNX1* et *RUNX1T1* (issue de la translocation chromosomique) dont le transcrit de fusion peut être suivi par des techniques de PCR quantitative (RQ-PCR) permettant de détecter la « maladie résiduelle » (MRD) avec une excellente sensibilité après obtention de la rémission complète.

Méthodes :

De manière prospective, une évaluation de la MRD par RQ-PCR a été réalisée sur sang à la fin du traitement puis tous les 3 mois pendant 2 ans associée à une évaluation de la MRD sur moelle osseuse à la fin du traitement puis tous les ans pendant 2 ans.

Résultats :

Sur une cohorte de 96 patients, la MRD évaluée en fin de traitement est un facteur de risque de rechute et de décès lorsque qu'elle est détectable sur sang (incidence cumulée de rechute (CIR) à 4 ans à 50,9% contre 24,5%, $p=0,015$; survie globale (OS) à 4 ans à 63,6% contre 96,2%, $p=0,004$) mais pas sur moelle osseuse. Le suivi de la MRD sur sang permet de distinguer 3 profils de patients aux pronostics significativement différents ($p=0,001$) : les patients en réponse moléculaire de bon pronostic pour qui la MRD reste

indétectable pendant le suivi (CIR à 4 ans de 6,1%, OS à 4 ans de 93,9%), les patients dits réfractaires moléculaires pour qui la MRD reste toujours détectable (CIR à 4 ans de 46,1%, OS à 4 ans de 64,5%) et les patients présentant une rechute moléculaire définie par une MRD redevenant détectable après négativation (CIR à 4 ans de 86,1%, OS à 4 ans de 41,3%).

Conclusion :

Au cours des LAM avec t(8;21)(q22;q22), une évaluation de la MRD sur sang en fin de traitement et au cours du suivi tous les 3 mois pendant 4 ans permet de différencier des sous-groupes pronostiques de patients et de détecter la survenue d'une rechute hématologique.

INTRODUCTION

0 LES LEUCEMIES AIGUES MYELOIDES :

Les leucémies aigues myéloïdes (LAM) correspondent à un groupe hétérogène d'hémopathie maligne caractérisé par la prolifération anormale et excessive de cellules hématopoïétiques immatures généralement localisées dans la moelle osseuse et le sang. Ces cellules hématopoïétiques immatures, communément appelées blastes, sont bloquées dans leur différenciation à un stade précoce et inhibent le fonctionnement de la moelle osseuse normale.

Cette pathologie touche principalement les sujets âgés (âge médian : 67 ans) avec une incidence ajustée à l'âge de 3,7 pour 100.000 personnes par an aux Etats Unis entre 2006 et 2010 et une légère prédominance masculine (sex ratio homme/femme : 1,15) selon le registre SEER américain. En France, l'Institut de Veille Sanitaire a estimé l'incidence des leucémies aigues (myéloïdes et lymphoblastiques) en 2011 à 4,9 cas pour 100.000 hommes par an et 4,1 pour 100.000 femmes par an.

Quelques agents environnementaux peuvent être responsables de la survenue d'une LAM comme l'exposition au benzène ou aux rayonnements ionisants.

0 PHYSIOPATHOLOGIE DES LAM :

0 Origines cellulaires des LAM :

Les progrès réalisés ces dernières décennies dans l'étude de la leucémogénèse ont permis de mieux définir les caractéristiques des cellules à l'origine de la leucémie. Différents travaux expérimentaux (et notamment l'utilisation de modèles de xénogreffe sériées de LAM humaine à des souris immunodéficientes) ont fait émerger le concept de cellule souche leucémique (CSL). Ces CSL, représentant une partie de la masse

tumorale initiale, seraient des cellules capables de proliférer, de s'autorenouveler, de se différencier en cellules blastiques moins immatures et de se maintenir en quiescence. La présence de ce type de cellule permettrait d'expliquer les observations cliniques de rechute tardive de LAM chez l'homme. Toutefois, il apparaît plus exact de parler de cellule initiateurs de leucémie (LIC), étant donné les débats toujours ouverts quant à l'origine même de ces cellules (cellule souche ou progéniteur hématopoïétique ?). Il se pourrait même que l'origine de ces LIC soit différent d'un sous-type de LAM à un autre.¹

0 Mécanismes biologiques responsables de la survenue des LAM :

L'acquisition d'anomalies génétiques joue un rôle essentiel dans la leucémogénèse. Les LAM, comme les autres cancers et hémopathies, sont ainsi le résultat de plusieurs mutations se succédant par étapes. Les résultats observés sur des souris transgéniques exprimant *PML-RARA* (anomalie spécifique associée à la translocation (15;17) des leucémies aiguës promyélocytaïres) peuvent ainsi en attester alors que l'on y observait la survenue d'une LAM de manière non systématique et dans seulement 15 à 30% des cas.² De même, chez l'homme, de rares syndromes prédisposant aux LAM caractérisés par une mutation génique comme le syndrome de thrombopénie familiale avec prédisposition à développer une LAM (FPD/LAM) causé par une mutation germinale de *RUNX1*, ne développent une LAM que tardivement, ce délai permettant l'acquisition d'événement(s) secondaire(s) nécessaire(s) à la leucémogénèse.³

Les anomalies génétiques nécessaires à l'instauration d'une LAM ont donc été initialement classées en 2 groupes : les mutations de classe I responsables d'une augmentation de la prolifération et/ou de la survie des progéniteurs hématopoïétiques et les mutations de classe II responsables d'un blocage de la différenciation

hématopoïétique. Les mutations de classe I concernent des gènes ayant un rôle dans la signalisation cellulaire tels que *FLT3*, gène muté dans 20-30% des cas de LAM, aboutissant à l'activation constitutive de la tyrosine kinase FLT3.⁴ Il en est de même pour les mutations de N-RAS, K-RAS et du récepteur KIT. Les mutations de classe I confèrent un avantage prolifératif aux cellules. Les mutations de classe II concernent des gènes codant pour des facteurs de transcription ou des co-activateurs transcriptionnels ayant un rôle dans le développement hématopoïétique normal et notamment la différenciation en cellules hématopoïétiques matures (les mutations de ces gènes étant alors responsables d'une perte de leur fonction). On citera comme exemple les gènes du groupe CBF (*RUNX1* anciennement nommé *AML1* ou *CBFA2* et *CBFβ*) et le gène du récepteur de l'acide rétinoïque *RARA*. La survenue d'une LAM s'expliquerait donc par l'apparition successive de mutation de classe différente (« two-hit model »)⁵ comme le montrent les travaux réalisés sur des souris transgéniques exprimant *PML-RARA* et la mutation *FLT3-ITD*.⁶

La liste des gènes impliqués dans la leucémogénèse ne cesse d'augmenter depuis quelques années suite à l'apparition de nouvelles techniques d'analyse du génome. Ainsi les techniques de séquençage ciblé ont permis de mettre en évidence des mutations récurrentes du gène *TET2* en 2009⁷ tandis que les techniques de séquençage à haut débit ont par la suite mis en évidence des mutations récurrentes des gènes *IDH1* et *IDH2* en 2009⁸ et *DNMT3A* en 2010.⁹ Ces découvertes successives permettent aujourd'hui de trouver une mutation récurrente d'au moins 1 gène impliqué dans la leucémogénèse dans n'importe quel type de LAM.¹⁰ Ces gènes mutés de manière récurrente peuvent ainsi être classés selon leur fonction biologique : fusion de gènes facteurs de transcription (*PML-RARA*, *MYH11-CBFβ*, *RUNX1-RUNX1T1*), le gène *NPM1*, gènes suppresseurs de tumeurs (*TP53*, *WT1*, *PHF6*), gènes ayant un rôle dans

la méthylation de l'ADN (*DNMT3A*, *DNMT3B*, *DNMT1*, *TET1*, *TET2*, *IDH1*, *IDH2*), gènes impliqués dans la signalisation intracellulaire (*FLT3*, *KIT*, *KRAS/NRAS*), gènes facteurs de transcription myéloïde (*RUNX1*, *CEBPA*), gènes impliqués dans le remodelage de la chromatine (*MLL*, *ASXL1*, *EZH2*), gènes impliqués dans le complexe de la cohésine et les gènes du spliceosome.

Tableau 1 : classification par fonction des gènes mutés dans les LAM (d'après la publication du Cancer Genome Atlas Research Network ¹⁰)

	Gènes	Fréquence de mutation
Fusion de gènes facteurs de transcription	<i>PML-RARA</i> , <i>MYH11-CBFβ</i> , <i>RUNX1-RUNX1T1</i>	18% des cas
<i>NPM1</i>		27% des cas
Gènes suppresseurs de tumeurs	<i>TP53</i> , <i>WT1</i> , <i>PHF6</i>	16% des cas
Gènes ayant un rôle dans la méthylation de l'ADN	<i>DNMT3A</i> , <i>DNMT3B</i> , <i>DNMT1</i> , <i>TET1</i> , <i>TET2</i> , <i>IDH1</i> , <i>IDH2</i>	44% des cas
Gènes impliqués dans la signalisation intra-cellulaire	<i>FLT3</i> , <i>KIT</i> , <i>KRAS/NRAS</i>	59% des cas
Gènes facteurs de transcription myéloïde	<i>RUNX1</i> , <i>CEBPA</i>	22% des cas
Gènes impliqués dans le remodelage de la chromatine	<i>MLL</i> , <i>ASXL1</i> , <i>EZH2</i>	30% des cas
Gènes impliqués dans le complexe de la cohésine		14% des cas
Gènes du spliceosome		14% des cas

Suite au démembrement moléculaire des LAM, le classique « two-hit model » montre ses limites. En effet, les travaux du cancer network par séquençage du génome de LAM¹⁰ montrent que les mutations de classe I ne sont retrouvées que dans 59% des cas. Des travaux récents de la même équipe permettent de suggérer un autre modèle physiopathologique.¹¹ Dans ce modèle (comparant les données de séquençage du génome de LAM3 à des LAM1), on distingue :

- Les mutations initiatrices telles que *PML-RARA* dans les LAM3 ou les mutations de *NPM1*, *DNMT3A*, *IDH1* et *TET2* dans les LAM1 qui sont présentes de manière précoce, apparaissant avec l'âge, ne permettant pas à elles seules

d'induire une LAM, mais spécifiques de sous-types de LAM et favorisant la survenue d'événements génétiques secondaires.

- Des mutations coopératrices, telles que les mutations de *FLT3*, qui sont acquises secondairement, sont non spécifiques d'un sous-type de LAM et permettent l'apparition de la LAM.

0 DIAGNOSTIC ET CLASSIFICATIONS DIAGNOSTIQUES DES LAM :

0 Présentations cliniques :

Les manifestations cliniques les plus fréquemment révélatrices du diagnostic sont imputables à l'insuffisance médullaire et sont donc peu spécifiques. Ainsi la neutropénie sera révélée par un syndrome fébrile en lien avec une infection, une anémie par un syndrome anémique et la thrombopénie par un syndrome hémorragique.¹²

Un syndrome tumoral peut être présent au diagnostic, en lien avec une infiltration blastique, révélé par une splénomégalie, une hépatomégalie, une atteinte cutanéomuqueuse (hypertrophie gingivale) ou une atteinte neuro-méningée. L'hyperleucocytose pourra être suspectée devant des signes évocateurs de leucostase (atteinte respiratoire et/ou neurologique).

Dans la majorité des cas, le diagnostic de LAM sera donc suspecté devant la présence d'une ou plusieurs cytopénies et/ou l'existence de blastes circulants sur le frottis sanguin.

0 Diagnostic biologique d'une LAM :

Selon la classification de l'Organisation Mondiale de la Santé¹³ (OMS), le diagnostic de LAM repose sur la mise en évidence dans la moelle osseuse ou le sang périphérique de plus de 20% de blastes.

Il sera donc nécessaire dans le cadre du bilan diagnostique de réaliser un myélogramme (voire une biopsie ostéo-médullaire en cas d'échec du myélogramme). Le taux de blastes sur le sang et la moelle osseuse (colorés par le May-Grünwald-Giemsa) est évalué après avoir compter un minimum de 200 et 500 cellules nucléées respectivement. Les blastes sont des cellules plus ou moins arrondies, de taille variable (15-30µm) avec un rapport noyau/cytoplasme élevé. Le noyau présente un contour régulier, une chromatine fine et 1 ou plusieurs nucléoles. Le cytoplasme, quant à lui, est basophile et peut contenir des granulations, voire un ou plusieurs corps d'Auer (fin batonnet azurophile). Cette description ne s'adapte toutefois pas aux monoblastes.

Une fois l'excès de blastes mis en évidence, il sera nécessaire d'affirmer le caractère myéloïde de ces cellules. L'examen cytologique pourra apporter une réponse par la mise en évidence de grains azurophiles ou mieux de corps d'Auer dans le cytoplasme des blastes. L'examen cytochimique va rechercher une activité myéloperoxydasique des cellules blastiques. Si la myéloperoxydase (MPO) est retrouvée dans plus de 3% des blastes, le diagnostic de LAM pourra être retenu. A l'inverse, une activité myéloperoxydasique négative ne permet pas d'éliminer certains sous-types de LAM (LAM peu différenciées, monoblastiques, érythroblastique, mégacaryoblastiques ou bi-phénotypiques) et l'on pourra s'aider d'autres techniques de cytochimie (estérases). L'immunophénotypage des blastes par cytométrie en flux est devenu l'examen de référence, en association à l'examen cytologique et cytochimique, pour établir la nature myéloïde ou lymphoïde de la leucémie aigue. Cette technique permet de quantifier l'expression d'antigènes spécifiques d'une lignée présents sur les blastes (en surface ou en intra-cytoplasmique). Selon le type de marqueurs retrouvés (Tableau 2), on pourra affirmer le caractère myéloïde de la leucémie aiguë :

Tableau 2 : Marqueurs de surface ou cytoplasmiques détectés par cytométrie en flux permettant d'établir le caractère myéloïde de la leucémie aiguë. ¹⁴

Marqueurs de précurseurs immatures	CD34, CD38, CD117, CD133, HLA-DR
Marqueurs granuleux	CD13, CD15, CD16, CD33, CD65, myéloperoxydase cytoplasmique (cMPO)
Marqueurs monocytaires	Estérase non spécifique (NSE), CD11c, CD14, CD64, lysozyme, CD4, CD11b, CD36, NG2 homologue
Marqueurs mégacaryocytaires	CD41 (glycoprotéine IIb/IIIa), CD61 (glycoprotéine IIIa), CD42 (glycoprotéine 1b)
Marqueurs érythrocytaires	CD235a (glycophorin A)

Depuis l'instauration de la nouvelle classification diagnostique de l'OMS, les analyses cytogénétiques et moléculaires sont devenues des outils diagnostiques et non plus seulement pronostiques. Ainsi, le diagnostic de LAM peut être retenu en l'absence d'un taux de blastes >20% si le caryotype retrouve l'une des anomalies cytogénétiques suivantes : la t(15;17)(q22;q12), la t(8;21)(q22;q22), l'inversion du chromosome 16 inv(16)(p13.1q22) ou la t(16;16)(p13.1;q22). Il en est de même pour l'analyse en cytogénétique moléculaire par FISH et la recherche des gènes de fusion correspondant en biologie moléculaire (*PML-RARA*, *RUNX1-RUNX1T1*, *CBFB-MYH11*). En l'absence d'anomalie cytogénétique ou moléculaire caractéristique d'un sous-type de LAM, le terme de « LAM sans spécificité » sera retenu et l'examen cytologique standard permettra de classer la LAM selon la classification FAB. ¹⁵⁻¹⁸

L'ensemble de ces analyses réalisées sur les blastes médullaires et/ou sanguins (cytologie, cytochimie, cytogénétique conventionnelle ou moléculaire, biologie moléculaire), associées aux caractéristiques du patient, permet ainsi d'établir le diagnostic de LAM selon la classification OMS 2008 (Tableaux 3 et 4).

Tableau 3 : Classification diagnostique OMS 2008 des LAM, néoplasmes myéloïdes associées et des leucémies aiguës avec ambiguïté de lignée. ¹³

LAM avec anomalie génétique récurrente	<ul style="list-style-type: none"> - 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> - LAP 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 (megacaryoblastique) avec t(1;22)(p13;q13); <i>RBM15-MKL1</i> - Entité provisoire: LAM avec mutation de <i>NPM1</i> - Entité provisoire: LAM avec mutation de <i>CEBPA</i>
LAM avec anomalies de type myélodysplasie	<p>Plus de 20% de blastes dans le sang ou la moelle ET absence d'antécédent de traitement par agent cytotoxique ET 1 critère parmi :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Antécédent de syndrome myélodysplasique ou myéloprolifératif - Anomalie cytogénétique associée aux myélodysplasies (caryotype complexe, -7 ou del(7q); -5 ou del(5q); i(17q) ou t(17p); -13 ou del(13q); 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(5;12)(q33;p12); t(5;7)(q33;q11.2); t(5;17)(q33;p13); t(5;10)(q33;q21); t(3;5)(q25;q34) - Présence d'une dysplasie multi-lignée
Néoplasmes myéloïdes secondaires à des agents cytotoxiques	
LAM sans spécificité	<ul style="list-style-type: none"> - LAM avec différenciation minimale (M0 de FAB) - LAM sans maturation (M1) - LAM avec maturation (M2) - Leucémie aiguë myélomonocytaire (M4) - Leucémie aiguë monoblastique/monocytaire (M5) - Leucémie aiguë érythroïde (M6) : leucémie érythroïde pure ou érythroleucémie - Leucémie aiguë mégacaryoblastique (M7) - Leucémie aiguë à basophiles - Panmyélose aiguë avec myélofibrose
Sarcome myéloïde (ou granulocytaire)	
Prolifération myéloïde associée aux syndrome de Down	<ul style="list-style-type: none"> - Myélopoïèse anormale transitoire - Leucémie myéloïde associée au syndrome de Down
Leucémie à cellules plasmacytoïdes dendritiques	
Leucémies aiguës avec ambiguïté de lignée	<ul style="list-style-type: none"> - Leucémie aiguë indifférenciée - Leucémie aiguë biphénotypique avec t(9;22)(q34;q11.2); <i>BCR-ABL1</i> - Leucémie aiguë biphénotypique avec t(v;11q23); réarrangement de <i>MLL</i> - Leucémie aiguë biphénotypique B/myéloïde, sans spécificité. - Leucémie aiguë biphénotypique, T/myéloïde, sans spécificité - Entité provisoire: leucémie/lymphome lymphoblastique à cellules NK

Tableau 4 : classification FAB des LAM et caractéristiques par sous-type. ¹⁵⁻¹⁸

Types/sous types	Morphologie	% de blastes	Cytochimie
Myéloïde « indifférenciée » (M0)	Blastes non différenciées (B1)	> 30 %	Myéloperoxydase < 3 % Phénotype essentiel anticorps anti - MPO) (CD13, CD33, CD117)
Myéloblastique sans maturation (M1)	Blastes de taille variable, cytoplasmes basophiles, sans grains (B1) ou avec quelques grains (B2)	± 90 %	Myéloperoxydase ± 3 %
Myéloblastique avec maturation (M2)	Blastes B1 + B2 avec différenciation granuleuses (> 10 %) ± corps d'Auer. Peut s'accompagner de myélodysplasie. Si présence de gros corps d'Auer, de granulations pseudo - Chediak : t(8;21)	± 30 %	Myéloperoxydase ++
Promyélocytaire (M3)	Promyélocytes dystrophiques, avec granulations volumineuses et fagots de corps d'Auer.	± 30 %	Myéloperoxydase +++
Promyélocytaire variant (hyperleucocytose)	Noyaux bilobés, majorité des blastes sans corps d'Auer.		
Myélomonocytaire (M4)	Moelle osseuse : mélange de blastes myéloïdes (B1 et B2) et de monocytes à tous stades, dystrophiques	± 30 %	Myélopexoydase +
	Sang : monocytes à tous stades ; peut s'accompagner de PN éosinophiles à granulation basophiles (inv16)	> 5 × 10 ⁹ /l	
Monoblastique (M5)	Monoblastes ± maturation monocytaire	± 80 %	
	M5a : non différenciée	± 80 %	
	M5b : différenciée	< 80 %	
Erythroleucémie (M6)	Myéloblastes médullaires (hors Eb)	± 30 %	Myéloperoxydase +
	Erythroblastes médullaires	± 50 %	
	Dysérythropoïèse		
Mégacaryoblastiques (M7)	Myélofibrose + mégacaryoblastes/cytes très dystrophiques	Biopsie	Myéloperoxydase négative
		Moelle	Phénotypage essentiel (CD42, CD61)

0 FACTEURS PRONOSTIQUES DES LAM :

Le pronostic des LAM est très variable et va dépendre des caractéristiques du patient, des caractéristiques de la LAM, du traitement entrepris et de la réponse au traitement. Ces différentes caractéristiques vont jouer un rôle prépondérant dans la prise en charge thérapeutique immédiate et à plus long terme.

a. Facteurs pronostiques liés au patient :

1) Age du patient :

L'âge est un facteur pronostique majeur dans le cadre des LAM.¹⁹⁻²² Il semble que l'âge soit un facteur pronostique indépendant bien qu'il soit corrélé à un état général moins bon, à la présence de comorbidités, à un caryotype défavorable et à une augmentation de l'incidence d'expression de la glycoprotéine P (P-Gp, protéine membranaire induisant une chimiorésistance par efflux des produits de chimiothérapie classique). On distingue classiquement les patients de plus de 60 ans comme ayant un mauvais pronostic mais cette limite pourrait changer puisque certaines études retrouvent maintenant un âge supérieur à 70 ans comme facteur pronostique chez les patients traités par chimiothérapie intensive.²²

2) Etat général et comorbidités :

L'état général au diagnostic évalué par le *performans status* est un facteur pronostique majeur. De même, la présence de comorbidités influence le pronostic à court et long terme des LAM (en diminuant notamment l'intensité des traitements entrepris). Une diminution du taux de réponse et une survie globale diminuée sont ainsi observées corrélées au nombre de comorbidités.²³ Chez les sujets âgés, la présence de comorbidités (comme la dénutrition, une altération des fonctions cognitives ou des performances physiques diminuées) distingue des sous-groupes pronostiques.^{24,25}

L'impact pronostique des comorbidités est, en pratique quotidienne, le plus souvent évalué par le score publié par Sorror M.L. et al.²⁶ Ce score, initialement établi pour évaluer le pronostic après allogreffe de CSH, permet également de prédire la survie des patients présentant une LAM en fonction du nombre de comorbidités associées.²³

0 Facteurs pronostiques liés à la LAM :

1) Caractère secondaire ou induit par des traitements de la LAM :

Les LAM secondaires aux syndromes myéloprolifératifs et aux syndromes myélodysplasiques ont un pronostic plus péjoratif que les LAM de novo, ceci étant lié à une chimiorésistance accrue, un âge plus avancé du patient et aux traitements antérieurement reçus en ce qui concerne les syndromes myéloprolifératifs.

Les LAM induites par une chimiothérapie ou à une radiothérapie sont une entité de LAM reconnue par la classification OMS (« therapy-related AML ») associée à un mauvais pronostic. On distingue classiquement les LAM survenant 5 à 7 ans après un traitement comportant des agents alkylants (melphalan, cyclophosphamide) associées à des anomalies des chromosomes 5 et 7 et les LAM survenant plus précocement (2 à 3 ans) après une chimiothérapie par inhibiteur de topoisomérase II (etoposide, anthracyclines) et souvent associées à un réarrangement de MLL ou une mutation de RUNX1. Outre cette association à une cytogénétique défavorable, d'autres facteurs peuvent expliquer le mauvais pronostic des LAM induites par une chimiothérapie : la persistance du cancer ayant motivé la chimiothérapie, les dommages liés à la chimiothérapie subis par les différents organes, la déplétion en CSH normale, l'immunosuppression induite, etc.²⁷ Concernant les LAM induites par une radiothérapie, leur pronostic semble aujourd'hui similaire aux LAM de novo du fait de l'évolution des techniques de radiothérapie permettant de limiter l'irradiation de la moelle osseuse.²⁸

2) Facteurs pronostiques cytologiques et biologiques :

L'hyperleucocytose au diagnostic (>50 ou $100.000/\text{mm}^3$ selon les études)²⁹ et l'expression de la P-Gp par les blastes^{30,31} sont des facteurs de mauvais pronostic. La valeur pronostique d'une augmentation des LDH et de la présence d'une dysplasie

cytologique (définie par la présence d'une dysplasie sur plus de 50% des éléments d'au moins 2 des 3 lignées hématopoïétiques) reste débattue selon les études.^{32,33}

3) Facteurs pronostiques cytogénétiques :

Le caryotype standard sur moelle osseuse (ou sur sang), avec analyse d'au moins 20 métaphases, est anormal dans environ 50-55% des LAM. L'analyse cytogénétique conventionnelle reste aujourd'hui le facteur pronostique le plus important, intéressant aussi bien la réponse au traitement (obtention de la rémission complète) que la survie sans rechute.³⁴⁻³⁶

Le Tableau 5 résume les anomalies cytogénétiques les plus fréquentes et leurs valeurs pronostiques respectives.

Tableau 5 : Classification pronostique des anomalies cytogénétiques dans les LAM selon les résultats publiés par différents groupes coopérateurs.

Groupe pronostique	Groupe MRC ³⁶	Groupe SWOG/ECOG ³⁴	Groupe CALGB ³⁵ (valeur pronostique sur obtention RC)
Caryotype favorable	- t(8;21)(q22;q22) - t(15;17)(q22;q21) - inv(16)(p13q22) / t(16;16)(p13;q22)	- t(8;21)(q22;q22) isolée - t(15;17)(q22;q21) isolée - inv(16)(p13q22) / t(16;16)(p13;q22)	- t(8;21)(q22;q22) (- t(15;17)(q22;q21)) - inv(16)(p13q22) / t(16;16)(p13;q22)
Caryotype de pronostic intermédiaire	- Caryotype normal - autre anomalie non classée favorable ou défavorable	- Normal - Perte du Y - + 6 - + 8 - del(12p)	- Normal - Perte du Y - del(5q) - t(6;9) - t(6;11) - t(11;19)(q23 ;p13) - del(7q) / -7 - +8, +11, +13, +21 - del(9q), del(11q) del(20q)
Caryotype défavorable	- caryotype complexe ≥ 4 anomalies - anomalie en 3q (t(3 ;5) exclue) - inv(3)(q21q26) - t(3;3)(q21;q26) - add(5q)/del(5q)/-5 - add(7q)/del(7q)/-7 (à l'exclusion des associations avec caryotype favorable) - t(6;11)(q27 ;q23) - t(10;11)(p11;q23) - t(11q23) (t(9;11) et t(11;19) exclues) - t(9;22)(q34 ;q11) - -17/anomalie 17p	- Complexe ≥ 3 anomalies - del (5q) / -5 - del (7q) / -7 - Anomalie en 3q, 9q, 11q, 17p, 20q, 21q - t(9;22)(q34 ;q11) - t(6;9)	- Complexe ≥ 3 anomalies - inv(3)(q21q26) ou t(3;3)(q21;q26) - del(12p)

Malgré le fait que l'âge soit associé à une fréquence plus élevée de caryotype défavorable, le caryotype garde sa valeur pronostique chez le sujet âgé mais distingue surtout les patients de très mauvais pronostic à caryotype complexe des autres.^{22,37}

Plus récemment, une nouvelle entité cytogénétique pronostique, le caryotype dit monosomal, a été individualisée. Le caryotype monosomal se définit par la perte de 2 chromosomes autosomaux, ou par la perte d'un chromosome autosomal associé à une anomalie de structure (hormis celles de bon pronostic). Cette catégorie serait associée

à un pronostic encore plus effroyable que les caryotypes complexes. Ces données ont été rapportées par plusieurs équipes.³⁸⁻⁴¹

4) Facteurs pronostiques moléculaires :

Environ 50% des LAM présente un caryotype normal au diagnostic et cet examen s'avère donc insuffisant pour stratifier la moitié des patients. Les progrès réalisés dans les techniques de biologie moléculaire et de séquençage du génome ont permis de découvrir des mutations de gènes impliqués dans les LAM puis de leur attribuer une valeur pronostique par l'analyse de grandes cohortes de patients. Ces anomalies jouent aujourd'hui un rôle majeur dans la stratification thérapeutique et principalement dans le cas des LAM à caryotype normal. Ainsi, la classification diagnostique OMS 2008¹³ identifie certains sous-types de LAM en fonction du statut moléculaire tandis que l'ELN,¹⁴ chargé d'établir des recommandations thérapeutiques, a défini en 2010 les anomalies moléculaires à rechercher systématiquement, au moins dans le cas des LAM à caryotype normal : les mutations de *NPM1*, *CEBPA* et *FLT3*. Le Tableau 6 rappelle la stratification pronostique établie par l'ELN nécessaire à la prise en charge thérapeutiques des patients.

L'importance des anomalies moléculaires pourrait dans l'avenir supplanter le caryotype dans la détermination des sous-groupes pronostiques de LAM.⁴²

a) Mutations de *NPM1* :

En 2005, l'équipe de B.Falini mettait en évidence une localisation cytoplasmique anormale de la nucleophosmine 1 (*NPM1*) dans certaines LAM, cette localisation anormale étant en lien avec une mutation de l'exon 12 de *NPM1*.⁴³ Plusieurs dizaines de variants de mutation de *NPM1* ont été décrits, mais on en distingue 3 types principaux

(A, B et D). Sur le plan physiopathologique, les mutations de *NPM1* sont associées à une augmentation de l'auto-renouvellement des cellules leucémiques, de l'instabilité génétique et une inhibition de l'apoptose. Cette mutation, retrouvée dans près d'un tiers des LAM (et dans 50% des LAM à caryotype normal, ce qui en fait l'anomalie moléculaire la plus fréquente à ce jour dans les LAM), a par la suite été décrite par de nombreuses équipes.⁴⁴⁻⁴⁷ Les mutations de *NPM1* sont associées à certaines particularités cytologiques (LAM4/5 selon la classification FAB), phénotypiques (expression du CD33 et absence d'expression de CD34), cytogénétiques (caryotype normal, trisomies des chromosomes 8 et 4, délétion du bras long du chromosome 9) et moléculaires (présence de mutation de *FLT3*, *IDH1/2* et *DNMT3A*).⁴⁷⁻⁵³ Le statut mutationnel de *NPM1* est d'une importance majeure dans le cadre des LAM à caryotype normal en association avec le statut mutationnel de *FLT3*. Il a ainsi été montré que les LAM à caryotype normal avec mutation de *NPM1* sans mutation de *FLT3* avaient un pronostic similaire aux patients avec LAM du groupe *CBF* (en terme de taux de réponse et de survie globale).⁴⁸ On distingue donc actuellement, sur les plans diagnostiques et thérapeutiques, les LAM à caryotype normal avec mutation de *NPM1* associée ou non à une mutation de *FLT3*.

b) Mutation de *CEBPA* :

Les travaux de Pabst.T et al ont montré pour la 1^{ère} fois en 2001 la présence de mutation de *CEBPA* dans les LAM.⁵⁴ *CEBPA* est un facteur de transcription essentiel au cours de l'hématopoïèse et en particulier pour la granulopoïèse. Les mutations de *CEBPA* sont relativement rares au cours des LAM (5-10% des LAM) mais confèrent un bon pronostic à la pathologie.^{48,55-58}

Toutefois, il semble que seule la présence d'une double mutation de CEBPA (mutation sur les 2 allèles dans la majorité des cas), et non la présence d'une seule mutation, confère un bon pronostic à la LAM.^{59,60}

c) Mutation de *FLT3* :

En 1996, l'équipe de Nakao.M et al. mettait en évidence la présence d'une mutation de *FLT3* dans les LAM par duplication en tandem (ITD : internal tandem duplication) du domaine juxta-membranaire de ce récepteur à activité tyrosine kinase impliqué dans l'hématopoïèse.⁶¹ Cette mutation correspond à une duplication de 3 à 400 acides aminés situés dans les exons 14 et 15 du domaine juxta-membranaire de la protéine, responsable d'une altération de sa fonction inhibitrice sur le domaine kinase. Par la suite, un autre type de mutation de *FLT3* a été mis en évidence (mutation non sens situé sur l'exon 20 codant pour l'acide aminé 835) touchant la boucle d'activation du domaine tyrosine kinase (TKD : tyrosine kinase domain), dans environ 7% des LAM.⁶² Ces 2 anomalies moléculaires sont responsables d'une activation constitutive de la tyrosine kinase *FLT3* et des voies en aval. Les duplications en tandem de *FLT3* sont observées dans environ 20% des LAM et confèrent un mauvais pronostic en augmentant le risque de rechute, comme cela a pu être montré par de nombreuses équipes.⁶³⁻⁶⁸ L'augmentation du taux d'allèle muté (ratio *FLT3-ITD/FLT3* total) et la présence de la duplication de manière bi-allélique augmentent encore le risque de rechute et sont associées à une diminution de la survie globale.⁶⁹ L'impact pronostique des mutations de type *FLT3-TKD* reste quant à lui controversé.^{67,68}

d) Autres anomalies moléculaires décrites dans les LAM :

Tandis que la valeur pronostique du statut mutationnel des gènes *NPM1*, *FLT3* et *CEBPA* est désormais validée, plusieurs gènes se sont vus découvrir une mutation récurrente dans les LAM dont l'impact pronostique reste à valider. On peut citer les mutations de *WT1*, *RUNX1*, *ASXL1*, *IDH1* et *2*, *TET2*, *DNMT3A*, la duplication en tandem de *MLL*, *TP53*, *NF1*, *PHF6*, *CBL*, *EZH2*, *PTEN*, *GATA2*, *JAK2*, *U2AF1* et *BCOR*. Les principales mutations récurrentes découvertes dans les LAM, leur fréquence et leur valeur pronostique respective sont présentées dans le Tableau 7.

D'autres anomalies moléculaires que les mutations géniques ont été décrites comme ayant une valeur pronostique. C'est le cas de la surexpression de certains gènes comme *WT1*, *EVI1*, *MN1*, *MLL5*, *BAALC* et *ERG*.

Tableau 6 : classification pronostique de l'ELN établie en 2010 se basant sur la cytogénétique et le statut mutationnel en biologie moléculaire.¹⁴

Groupe pronostique	Anomalie cytogénétique et/ou moléculaire
Pronostic 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)
Pronostic intermédiaire 1	- 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)
Pronostic intermédiaire 2	- t(9;11)(p22;q23); <i>MLLT3-MLL</i> - Anomalies cytogénétiques non classées comme favorables ou défavorables
Pronostic défavorable	- inv(3)(q21q26.2) ou t(3;3)(q21;q26.2); <i>RPN1-EVI1</i> - t(6;9)(p23;q34); <i>DEK-NUP214</i> - t(v;11)(v;q23); réarrangement <i>MLL</i> - -5 ou del(5q); -7; anomalie en (17p); - Caryotype complexe (≥ 3 anomalies à l'exclusion des anomalies récurrentes de la classification OMS)

INTRODUCTION

Tableau 7 : Principales mutations géniques récurrentes dans les LAM

Gène muté	Fonction biologique normale de la protéine	Fréquence de la mutation dans les LAM	Fréquence de la mutation dans les LAM à caryotype normal	Association à autres mutations	Valeur pronostique	Références bibliographiques
<i>NPM1</i>	Phosphoprotéine de transport nucléo-cytoplasmique	≈30%	≈50-60%	<i>FLT3-ITD</i> et <i>FLT3-TKD</i> , <i>DNMT3A</i> , <i>IDH1/2</i> Mutuellement exclusif avec CBF, <i>ASXL1</i> et <i>CEBPA</i> double muté	Bon pronostic si isolée ou associée à mutation de <i>IDH1/2</i>	44-46,48,70-72
<i>CEBPA</i>	Facteur de transcription impliqué dans la granulopoïèse	≈5-10%	≈15%	Peu associé à <i>NPM1</i>	Bon pronostic si double mutation de <i>CEBPA</i>	48,55-58,73
<i>FLT3</i>	Récepteur tyrosine kinase impliqué dans la prolifération et la survie des progéniteurs hématopoïétiques	<i>FLT3-ITD</i> ≈ 20% <i>FLT3-TKD</i> ≈5-10%	<i>FLT3-ITD</i> ≈ 30% <i>FLT3-TKD</i> ≈ 10%	Associé à <i>NPM1</i> , <i>IDH1/2</i> et <i>DNMT3A</i>	<i>FLT3-ITD</i> : Diminue le taux de réponse et la survie <i>FLT3-TKD</i> : discutée	48,63-68
<i>IDH1</i>	Enzymes impliquées dans la régulation épigénétique	≈ 8%	≈ 15%	Exclusion mutuelle avec <i>TET2</i> et <i>WT1</i>	<i>IDH1</i> R132 : discuté <i>IDH1</i> SNP rs11554137 : mauvais pronostic ?	49-51,53,74,75
<i>IDH2</i>		≈ 8%	≈ 15%	<i>IDH2</i> R140 : associé au génotype <i>NPM1+</i> <i>FLT3</i> Exclusion mutuelle avec <i>TET2</i> et <i>WT1</i>	<i>IDH2</i> R140 : bon pronostic ? Neutre ? <i>IDH2</i> R172 : mauvais pronostic ? Neutre ?	
<i>TET2</i>	Protéine impliquée dans la régulation épigénétique	≈10-20%	≈15-30%	Exclusion mutuelle avec <i>IDH1</i> et <i>IDH2</i>	Mauvais pronostic si cytogénétique intermédiaire (discuté)	75-81
<i>DNMT3A</i>	Protéine impliquée dans la régulation épigénétique	≈15-25%	≈20-30%	Exclusion mutuelle avec <i>MLL-PTD</i> , associé à <i>NPM1</i> , <i>FLT3</i> et <i>IDH1/2</i>	Mauvais pronostic	9,76,82-86
<i>RUNX1</i>	Facteur de transcription impliqué dans l'hématopoïèse	≈5-10%	≈5-10%	Associé à <i>ASXL1</i> et <i>MLL</i> , peu associé à <i>NPM1</i> et <i>CEBPA</i>	Mauvais pronostic	87-90
<i>ASXL1</i>	Protéine impliquée dans le remodelage de la chromatine.	≈10%	≈10%	Associé à <i>RUNX1</i> , exclusion mutuelle avec <i>NPM1</i> et <i>FLT3</i>	Mauvais pronostic	75,91-93
<i>WT1</i>	Facteur de transcription impliqué dans la prolifération et la survie des progéniteurs hématopoïétiques	≈ 5-10%	≈ 5-10%	Associé à <i>FLT3-ITD</i>	Mauvais pronostic	94-98
<i>MLL-PTD</i>	Protéine impliqué dans la régulation épigénétique de gènes de l'hématopoïèse	≈ 5-10%	≈ 5-10%	Exclusion mutuelle avec CBF et <i>NPM1</i>	Mauvais pronostic	99-101

NB : Les mutations des gènes *RAS* et *KIT* seront abordés dans la 2^{ème} partie, étant donné leur implication dans les LAM du groupe CBF.

5) Facteurs pronostiques après traitement :

L'obtention de la rémission complète après traitement d'induction (myélogramme avec moins de 5% de blastes, absence de blastes avec corps d'Auer, absence de maladie extra-médullaire, récupération hématologique avec polynucléaires neutrophiles >1G/L, plaquettes >100G/L et indépendance transfusionnelle) est un facteur pronostique essentiel. En effet, en cas de LAM dite « réfractaire primaire », le pronostic est beaucoup plus sombre. Il en est de même lors d'une rechute de la maladie et en particulier si la rechute a lieu dans l'année qui suit la fin du traitement.¹⁰²

L'évaluation de la réponse au traitement peut maintenant se faire au niveau moléculaire (maladie résiduelle ou MRD pour *minimal residual disease*) et semble avoir également un impact pronostique. Les cibles mesurés et les méthodes utilisées seront discutés dans le chapitre III de l'introduction.

4. GENERALITES SUR LA PRISE EN CHARGE THERAPEUTIQUE DES LAM :

La prise en charge thérapeutique d'une LAM dépend des facteurs pronostiques sus-cités et en particulier de l'âge, de l'état général et des comorbidités, des anomalies cytogénétiques et moléculaires. On distingue habituellement la prise en charge des sujets jeunes (<60-65ans dans la plupart des études) de celle des sujets âgés (>60-65ans) bien que la frontière entre les 2 soit parfois difficile à établir. Le cas des leucémies aiguës promyélocytaires (LAM3) ne sera pas abordée ici.

a. Prise en charge des LAM du sujet jeune :

Le traitement standard initial d'une LAM (hors LAM3) du sujet de moins de 60-65 ans repose sur une chimiothérapie d'induction de type « 3+7 » qui comporte trois

jours d'anthracyclines (daunorubicine 60-90mg/m²/j ou idarubicine 10-12mg/m²/j voire mitoxantrone 10-12mg/m²/j) et sept jours d'aracytine (100-200mg/m²/j) et qui doit être instaurée dans les jours suivant le diagnostic.^{103,104} Cette chimiothérapie d'induction a pour objectif d'obtenir une rémission complète hématologique (objectif atteint dans 60 à 80% des cas) en faisant diminuer le nombre total de cellules tumorales de 10¹² au diagnostic au seuil minimal de détection cytologique qui est d'environ 10¹⁰.¹⁴

Il persiste encore plusieurs controverses quant aux doses de chacune des molécules de chimiothérapie à appliquer. Ainsi il pourrait s'avérer bénéfique d'augmenter les doses d'anthracyclines (et notamment de daunorubicine à 90mg/m²/j) afin d'améliorer le taux de réponse complète et la survie sans rechute.^{105,106} De même, l'augmentation des doses d'aracytine lors de la chimiothérapie d'induction reste débattue même si elle s'accompagne d'une toxicité accrue.¹⁰⁷ En revanche, l'ajout d'un 3^{ème} produit de chimiothérapie a rarement montré de supériorité face au traitement standard même si l'on pourra retenir un essai français associant le classique 3+7 au gemtuzumab-ozogamycin (anticorps monoclonal anti-CD33 couplé à la calicheamycine, un agent cytotoxique) délivré en doses fractionnées, signant par là l'arrivée des thérapies ciblées dans le traitement des LAM.¹⁰⁸

Une fois la réponse complète obtenue, un traitement de consolidation s'avère indispensable afin d'éviter une rechute précoce de la maladie et de prévenir les rechutes à long terme.¹⁰⁹⁻¹¹¹ Le rôle des facteurs pronostiques initiaux, et surtout de la cytogénétique et du statut moléculaire, est aujourd'hui majeur pour décider du traitement de consolidation et surtout de l'indication d'une allogreffe de CSH en cas de donneur compatible.¹¹² Ainsi, il est aujourd'hui admis que les patients de pronostic favorable selon la classification ELN (LAM du groupe *CBF* avec t(8;21), inv(16) ou t(16;16), LAM à caryotype normal avec mutation de *CEBPA* ou mutation de *NPM1*

sans mutation de *FLT3*) ne bénéficient pas d'une allogreffe de CSH après obtention de la RC, ces patients ayant un risque plus important de décéder des complications inhérentes d'une allogreffe que de rechuter de leur maladie après chimiothérapie de consolidation.⁴⁸ Chez ces patients de bon pronostic, l'utilisation de fortes doses d'aracytine (3g/m²/12h à J1, J3 et J5) à raison de 3 ou 4 cycles est devenu le traitement de consolidation de référence dans la majorité des cas.¹¹³ Concernant les patients de pronostic intermédiaire et défavorable selon la classification ELN, il est recommandé de procéder à une allogreffe de CSH en présence d'un donneur compatible (familial après conditionnement myéloablatif de préférence) après obtention de la RC, cette approche permettant de diminuer le risque de rechute à plus ou moins long terme.⁴⁸

b. Prise en charge des LAM du sujet âgé :

L'âge est un facteur pronostique essentiel corrélé à des caractéristiques défavorables de la LAM.

Pour les patients âgés avec un état général correct (PS<2), en l'absence de comorbidités majeures ou d'une cytogénétique défavorable, une chimiothérapie d'induction intensive peut être proposée sur le schéma du 3+7 du sujet jeune avec des doses adaptées (anthracyclines : daunorubicine 45-60mg/m²/j ou équivalent pendant 3 jours ; aracytine 100-200mg/m²/j pendant 7 jours). Une RC est observée dans 50% des cas environ. Il n'existe à l'heure actuelle pas de consensus concernant le traitement de consolidation dans ces situations mais un schéma intensif adapté à l'âge paraît adapté (cures d'aracytine 1.5g/m²/j pendant 5 jours ou 6 cures de «1+5» : daunorubicine 45mg/m² ou idarubicine 9mg/m² à J1 et aracytine 60mg/m²/12h pendant 5 jours).¹¹⁴ L'allogreffe de CSH à conditionnement atténué en

cas de donneur compatible semble être une option thérapeutique efficace chez les patients de moins de 70 ans.^{115,116}

Les patients âgés (>75ans) ou présentant de nombreuses comorbidités (évaluées notamment par les échelles d'évaluation gériatriques) ne peuvent bénéficier d'une chimiothérapie intensive du fait de la toxicité trop importante d'un tel traitement. Le traitement par aracytine sous-cutanée (20mg/m²/j pendant 10 à 14 jours toutes les 4 à 6 semaines) est une option possible permettant d'obtenir une RC dans 20% des cas, cette réponse n'étant pas durable dans le temps.^{117,118} Les traitements par agents déméthylants peuvent être une option acceptable (azacytidine en cas de blastes médullaires <30% ou decitabine) s'accompagnant d'une toxicité limitée.

Les patients âgés avec une cytogénétique défavorable ne bénéficient pas d'une chimiothérapie d'induction intensive, du fait d'un faible taux de réponse au traitement et de la survenue de rechute précoce en cas d'obtention d'une RC. Il n'existe pas de standard de traitement chez ces patients même si les agents déméthylants peuvent être une option. Une inclusion à des essais thérapeutiques peut être proposée dans ces situations.

II. LES LEUCEMIES AIGUES MYELOÏDE DU GROUPE CBF ET LA LEUCEMIE AIGUE MYELOÏDE AVEC TRANSLOCATION (8;21)(q22;q22)

Les LAM du groupe *CBF* font partie du sous-groupe des LAM avec cytogénétique récurrente selon la classification diagnostique de l'OMS et contiennent 2 entités clinico-biologiques définies par un réarrangement chromosomique équilibré intéressant les gènes des 2 sous-unités du facteur de transcription CBF.¹³ Ce facteur de transcription est impliqué dans l'hématopoïèse normale et notamment la granulopoïèse normale. Ces 2 sous-entités sont donc définies par leur réarrangement chromosomique : la LAM avec t(8;21)(q22;q22) responsable de la formation du gène de fusion *RUNX1-RUNX1T1* et la LAM avec inversion péricentrique du chromosome 16 (inv(16)(p13.1q22)) ou avec t(16;16)(p13.1;q22) responsables de la formation du gène de fusion *CBFβ-MYH11*. Ces 2 sous-entités partagent ainsi une caractéristique diagnostique : l'anomalie chromosomique peut être détectée par des méthodes de cytogénétique classique et leurs contreparties géniques par des techniques de biologie moléculaire de manière équivalente.¹¹⁹

Une particularité diagnostique, partagée avec les leucémies aigues promyélocytaïres, a émergé depuis la classification OMS 2001 puisque le diagnostic de LAM du groupe CBF peut être retenu en présence de l'une de ces anomalies cytogénétiques malgré l'absence d'excès de blastes.¹²⁰

Les LAM du groupe CBF représente environ 15% des LAM (se répartissant à peu près également entre les t(8;21) et les anomalies du chromosome 16) et touchent plus particulièrement les sujets jeunes.

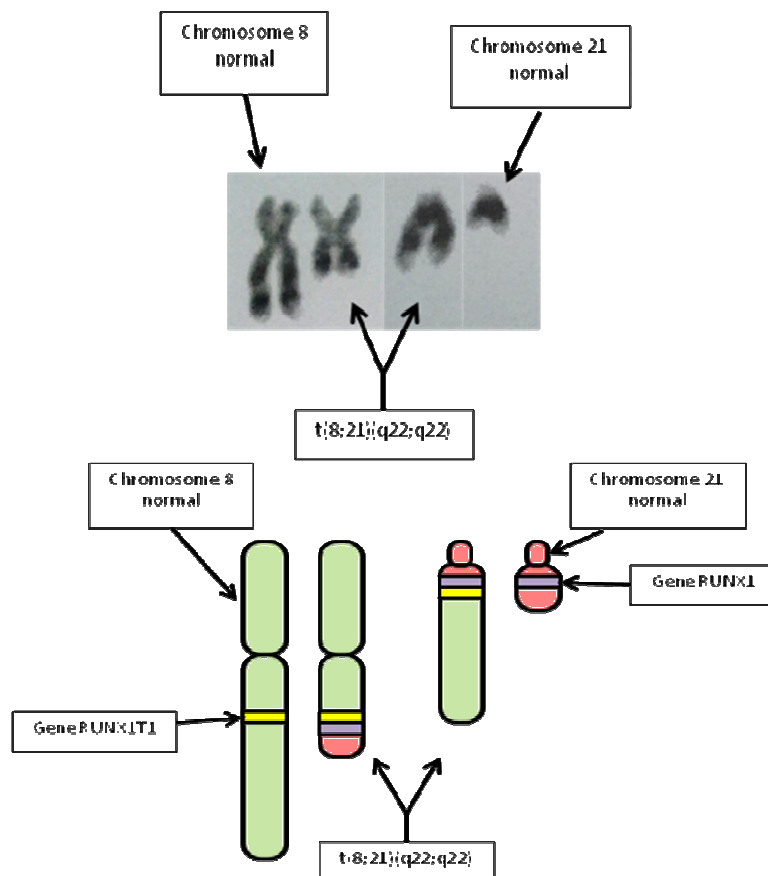
Ces LAM sont caractérisées par leur pronostic favorable, en comparaison des autres LAM, et ce indépendamment de l'âge. En effet, le taux de rémission complète

après chimiothérapie d'induction est de 90% et la survie globale à long terme approche les 50-60%.^{34,35,121} De plus, en cas de rechute, les LAM du groupe CBF présentent une meilleure chimiosensibilité que les autres LAM et l'obtention d'une 2^{ème} rémission complète est possible dans près de 60% des cas après chimiothérapie intensive.

1. BIOLOGIE ET PHYSIOPATHOLOGIE DES LAM AVEC t(8;21)(q22;q22) - RUNX1-RUNX1T1 :

La présence au cours d'une LAM d'une translocation réciproque équilibrée entre les bras longs des chromosomes 8 (en q22) et 21 (en q22), détectée par caryotype conventionnel (Figure 1), a été décrite pour la 1^{ère} fois en 1973.¹²²

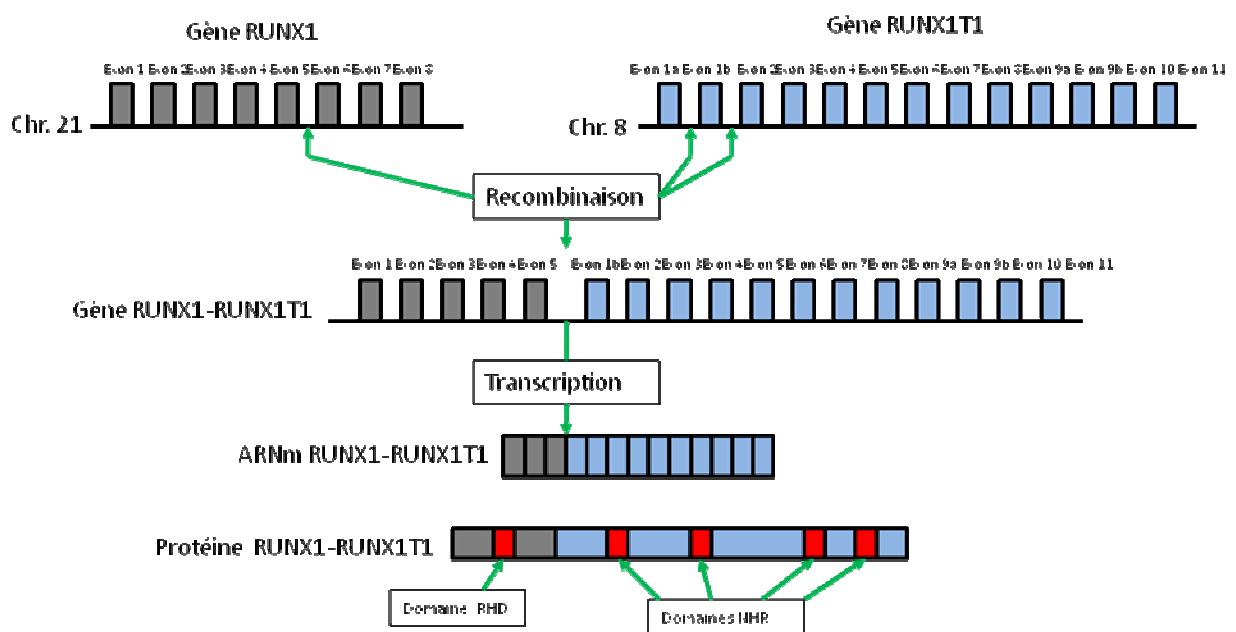
Figure 1 : Caryotype conventionnel et schéma de la t(8;21)(q22;q22).



Dans les années 1990, il était montré que cette translocation est responsable de la fusion des gènes *RUNX1T1* (anciennement appelé *ETO* ou *MTG8*) et *RUNX1* (anciennement appelé *AML1* ou *CBF α* ou *PEBP2 α B*).^{123,124}

La fusion de ces gènes est à l'origine de la synthèse d'un transcrite puis d'une protéine de fusion *RUNX1-RUNX1T1* spécifique de ce sous-type de LAM. (Figure 2)

Figure 2 : génomique de la t(8;21)(q22;q22)



Le gène *RUNX1*, situé sur le bras long du chromosome 21, est composé de 8 exons et appartient à la famille *RUNX* composée de 3 membres (*RUNX1*, *RUNX2*, *RUNX3*). Trois isoformes de la protéine *RUNX1* (*RUNX1a*, *RUNX1b* et *RUNX1c*) ont été décrites qui possèdent toutes un domaine de liaison à l'ADN (domaine RHD, analogue au domaine Runt de la drosophile) et vont former un hétérodimère avec *CBF β* pour se lier à l'ADN et jouer leur rôle de facteur de transcription.¹²⁵ La protéine *RUNX1* est un facteur de transcription jouant un rôle essentiel dans l'hématopoïèse puisque les souris invalidées pour le gène *RUNX1* décèdent in utero sans

développement de l'hématopoïèse.¹²⁶ RUNX1 exerce sa fonction via son interaction avec d'autres facteurs de transcription également essentiels pour l'hématopoïèse normale tels que CEBPA,^{127,128} PU.1,^{128,129} Fli1,¹³⁰ Pax5¹³¹ et GATA1.^{132,133}

Le gène *RUNX1T1*, situé sur le bras long du chromosome 8, possède 13 exons et peut donner 4 isoformes différentes de protéines après épissage. La protéine RUNX1T1 appartient à la famille ETO (qui contient 3 membres) et possède 4 domaines NHR (Nervy Homology Region) essentiels pour permettre l'interaction avec différentes protéines (dont les autres protéines de la famille ETO, les histones déacétylases, le corépresseur mSin3A) mais pas de site de liaison à l'ADN. La protéine RUNX1T1 joue un rôle important dans le développement du système nerveux mais pas dans l'hématopoïèse.

Lors de la translocation (8;21)(q22;q22), le site de cassure du gène RUNX1 est situé dans l'intron 5. La région N-terminale de la protéine RUNX1-RUNX1T1 va comporter le domaine RHD de liaison à l'ADN de RUNX1 permettant d'expliquer l'une des caractéristiques principales de RUNX1-RUNX1T1, à savoir sa capacité à se lier à l'ADN sur les sites de liaison de RUNX1. L'acétylation de certaines lysines de la portion correspondant à RUNX1 par la protéine p300 est essentielle pour la fonction de la protéine de fusion.¹³⁴ Le site de cassure du gène *RUNX1T1* est quant à lui situé dans les introns 1a ou 1b, ce qui explique que la quasi-totalité de la protéine RUNX1T1 soit retrouvée dans la protéine chimérique RUNX1-RUNX1T1 (excepté dans les transcrits alternatifs).¹³⁵ La protéine issue du gène de fusion *RUNX1-RUNX1T1* va notamment comporter le domaine NHR2 de RUNX1T1, domaine permettant l'oligomérisation de RUNX1-RUNX1T1 et sa liaison à d'autres protéines.¹³⁶

Ces propriétés structurales vont permettre à cette protéine chimérique d'agir en tant que répresseur transcriptionnel des gènes cibles de RUNX1 mais également d'autres gènes.^{137,138} RUNX1-RUNX1T1 va ainsi recruter (via les domaines NHR) des corépresseurs transcriptionnels (NCoR nuclear receptor co receptor, SMRT silencing mediator of retinoid and thyroid hormone receptor, mSin3A) et les E-protéines pour former un complexe de facteurs de transcription, phénomène essentiel et nécessaire à la leucémogénèse.¹³⁹⁻¹⁴² RUNX1-RUNX1T1 va également recruter des histones déacétylases qui vont modifier la conformation de la chromatine et ainsi modifier le programme transcriptionnel des cellules.

Sur le plan fonctionnel, RUNX1-RUNX1T1 est responsable d'un blocage de la différenciation myéloïde,¹⁴³ lymphoïde et érythroïde¹⁴⁴ et ce par plusieurs mécanismes : absence d'assemblage du complexe CBF, délocalisation nucléaire de RUNX1-RUNX1T1,^{145,146} régulation négative de facteurs de transcription essentiels à la différenciation hématopoïétique tels que CEBPA,^{147,148} PU.1,¹⁴⁹ Gfi-1,¹⁵⁰ SFRP1,¹⁵¹ régulation négative du miR-223,¹⁵² régulation négative de la synthèse du GM-CSF.¹⁵³ *RUNX1-RUNX1T1* rentre ainsi dans le cadre des mutations de classe II du « two-hits model ».

RUNX1-RUNX1T1 induit également la prolifération cellulaire via une régulation positive du récepteur au M-CSF et au G-CSF,^{154,155} une dérégulation négative de l'expression de certains gènes impliqués dans le cycle cellulaire (*p21^{WAF1}*, *miR-193a*),^{156,157} et une diminution de l'apoptose en activant la transcription de *Bcl-2* et de *Bcl-xL* (via le détournement de la signalisation induite par MPL).^{158,159} D'autres fonctions ont été attribuées à la protéine de fusion RUNX1-RUNX1T1 : induction d'un défaut de réparation de l'ADN,^{160,161} diminution de l'expression de

gènes suppresseurs de tumeur comme $p14^{ARF}$,¹⁶² et dérégulation de l'expression de microARN (*miR-126*).¹⁶³

Il est donc bien établi que la fusion des gènes *RUNX1* et *RUNX1T1* est un événement initiateur de la leucémogénèse en bloquant notamment la différenciation hématopoïétique. Cependant, il est également clairement établi que la présence de cette protéine de fusion n'est pas suffisante pour induire, à elle seule, une LAM. En effet, les différents modèles murins transgéniques¹⁶⁴⁻¹⁶⁸ et les greffes de CSH murines transduites avec *RUNX1-RUNX1T1*^{144,169,170} permettant d'induire l'expression de *RUNX1-RUNX1T1* dans les CSH de la souris adulte ou les modèles de xéno greffe de progéniteurs hématopoïétiques humains exprimant *RUNX1-RUNX1T1*¹⁷¹ ne permettent pas d'induire de leucémie aigue chez ces souris. Chez l'homme, plusieurs arguments supportent également cette hypothèse : la détection du gène de fusion *RUNX1-RUNX1T1* chez des nouveaux nés qui ont présenté plusieurs années après une LAM avec t(8;21)(q22;q22),¹⁷² la présence du transcrit *RUNX1-RUNX1T1* dans la moelle osseuse de patients ne présentant pas de LAM¹⁷³ et la persistance au long terme de la détection du transcrit *RUNX1-RUNX1T1* chez des patients suivis pour LAM avec t(8;21)(q22;q22) alors même qu'ils sont toujours considérés en rémission complète.¹⁷⁴ Une seule exception existe toutefois à cette règle : la forme tronquée de sa partie C-terminale (et donc du domaine NHR4) de la protéine de fusion issue du transcrit variant *AML1-ETO9a* est capable d'induire à elle seule la survenue d'une LAM chez la souris.¹⁷⁵⁻¹⁷⁷

L'acquisition d'anomalies secondaires semble donc essentielle à l'instauration d'une LAM en présence d'une translocation (8;21)(q22;q22). Plusieurs arguments étayent également cette théorie de manière directe. Ainsi, l'induction de dommages à l'ADN par des procédés chimiques sur un modèle murin transgénique pour *RUNX1-*

RUNX1T1 a permis d'observer la survenue d'une LAM, suggérant la nécessité d'événements génétiques secondaires.¹⁶⁶ De manière expérimentale, l'association de *RUNX1-RUNX1T1* à des mutations géniques de classe I selon la théorie du « two-hits model », telles que l'association de *RUNX1-RUNX1T1* à une mutation de *KIT*,¹⁷⁸⁻¹⁸⁰ à une mutation de *N-RAS*,¹⁸¹ à une duplication en tandem de *FLT3*¹⁸² ou au gène de fusion *TEL-PDGFRβ*¹⁸³ a également permis d'observer la survenue d'une LAM. Chez l'homme, la présence non fortuite d'anomalies cytogénétiques additionnelles au diagnostic de LAM avec t(8;21), tels que la perte des chromosomes sexuels (perte du chromosome Y chez près de la moitié des patients, perte d'un chromosome X chez 20% des femmes)^{184,185} et la présence non négligeable de mutations de *KIT*, *N-RAS*, *K-RAS* ou *FLT3* suggèrent également la nécessité d'événements génétiques secondaires.

2. PARTICULARITES CLINIQUES, BIOLOGIQUES ET PRONOSTIQUES DE LA LAM AVEC T(8;21)(Q22 ;Q22) :

Les LAM du groupe CBF touchent préférentiellement des sujets jeunes (médiane d'âge de 37-39 ans) et ne représentent que 5% des LAM survenant chez les patients de plus de 60 ans selon les 2 études principales établissant les caractéristiques cliniques des patients avec LAM du groupe CBF.^{186,187} La classification ELN garde sa valeur pronostique chez les sujets âgés puisque la présence d'une t(8;21) en cas de LAM est associée à un meilleur pronostic.^{21,188} Toutefois, au sein des LAM avec t(8;21), l'âge reste un facteur de mauvais pronostic.

La majorité des cas de LAM avec t(8 ;21) sont des LAM de novo. Toutefois, près de 20% des patients présentent une LAM secondaire.¹⁸⁷ Ces cas de LAM

secondaires peuvent être induits par les inhibiteurs de topoisomérase 2 et la valeur pronostique du caractère secondaire de la LAM semble identique aux autres sous-types de LAM.^{187,189-192}

Une atteinte extra-médullaire, sous la forme de sarcome granulocyttaire, est fréquemment observée dans les LAM avec t(8;21) puisqu'elle est observée, et ce parfois de manière isolée, dans près de 20% des cas au cours de l'évolution. Ces atteintes extra-médullaires sont associées à un mauvais pronostic de la LAM.^{186,193,194}

Sur le plan cytologique, les LAM avec t(8;21) sont clairement associées aux LAM2 de la classification FAB (leucémies aiguës myéloblastiques avec maturation) puisque près de 80-90% des cas de LAM avec t(8;21) sont classées en LAM2 et qu'elles représentent environ 25% des cas de LAM2. Les blastes de LAM avec t(8;21) sont décrits comme de grands myéloblastes avec un cytoplasme basophile abondant comprenant souvent un corps d'Auer isolé et sont associés à un certain degré de maturation et une dysplasie des lignées granuleuse et érythroïde. La présence de mastocytes et d'éosinophiles en excès dans la moelle osseuse est également classique.^{195,196} Les LAM avec t(8;21) sont peu fréquemment hyperleucocytaires mais il apparaît clairement que l'hyperleucocytose ($>10 \times 10^9/L$) est un facteur pronostique majeur dans cette catégorie de patients.^{197,198} De même, le pourcentage de blastes médullaires pourrait avoir une valeur pronostique.¹⁹⁹ En cytométrie en flux, les blastes de LAM avec t(8;21) sont caractérisées par l'expression de plusieurs marqueurs classiques d'immaturation et de lignage myéloïde : HLA-DR+, CD34+ et CD117+ et par la présence de marqueurs aberrants tels que le CD19 (marqueur de la lignée lymphoïde B), la TdT (Terminal Deoxynucleotidyl Transferase, marqueur de lignée lymphoïde) et le CD56 (marqueur de la lignée

lymphoïde NK). L'expression de CD56 par les blastes de LAM avec t(8;21) est corrélée à un mauvais pronostic.^{200,201}

Les LAM avec t(8;21) présentent également des caractéristiques cytogénétiques particulières puisque des anomalies chromosomiques additionnelles sont observées dans 70 à 80% des cas. Elles sont essentiellement représentées par la perte d'un chromosome sexuel (perte du chromosome Y chez près de la moitié des hommes, perte d'un chromosome X chez 20% des femmes), la présence d'une délétion du bras long du chromosome 9 (del(9q), 15-20% des cas) ou l'association de la t(8;21) au sein d'un caryotype complexe dans environ 20% des cas.^{186,187,202,203}

La perte du chromosome Y, la délétion (9q) ou l'association de la t(8;21) à une trisomie du chromosome 4 (retrouvée dans moins de 5% des cas) sont associées à un mauvais pronostic.^{184,203,204} De manière surprenante, Medeiros BC et al. ont montré que le nombre de métaphases normales au diagnostic serait associé à un pronostic défavorable.²⁰⁵

Les LAM avec t(8;21) sont associées à d'autres anomalies géniques dans près de 50% des cas et celles-ci permettent de distinguer des sous-groupe de patients à plus haut risque de rechute. Les mutations de *KIT* sont les anomalies moléculaires les plus fréquemment retrouvées et sont relativement spécifiques des LAM du groupe CBF. Le gène *KIT* est constitué de 21 exons situés sur le chromosome 4 et la protéine *KIT* (CD117) est un récepteur à activité tyrosine kinase. Différentes mutations de *KIT* ont été décrites dans les LAM du groupe CBF : mutation non sens de l'exon 17 codant pour le domaine tyrosine kinase (dont la plus fréquente est la mutation D816V),²⁰⁶ délétion/insertion dans l'exon 8 codant pour le domaine permettant la dimérisation du récepteur *KIT*,²⁰⁷ et plus rarement mutation des exons 10 et 11 codant pour les domaines transmembranaire et

juxtamembranaire de KIT. Ces mutations sont associées à une activation constitutive de KIT favorisant la leucémogénèse. Les mutations de *KIT* sont retrouvées dans 10 à 48% des cas de LAM avec t(8;21) selon les études^{178,208-214} mais les 2 plus importantes séries de patients retrouvent une incidence plus proche de 20-25% avec une nette prédominance de mutation touchant l'exon 17.^{199,215} Les mutations de *KIT* sont corrélées à la présence d'une hyperleucocytose, d'atteintes extra-médullaires et à la perte du chromosome Y.^{212,215-217} La présence d'une mutation de *KIT* dans les LAM avec t(8;21) ne semble pas affecter la réponse au traitement mais est clairement associée à un risque de rechute plus important (mutations D816V de l'exon 17 en particulier). Son impact sur la survie globale reste contradictoire.^{199,210-215} Une autre caractéristique des mutations de *KIT*, pouvant également expliquer sa valeur pronostique, est leur association à l'expression du transcrit variant *AML1-ETO9a*, dont on sait qu'il est capable d'induire à lui seul une LAM chez la souris.²¹⁸ Par ordre de fréquence, les mutations de *RAS* sont les plus fréquemment associées au LAM avec t(8;21) après les mutations de *KIT*. Les protéines RAS (N-RAS, K-RAS et H-RAS) sont des protéines G impliquées dans la signalisation intracellulaire de divers récepteurs membranaires dont KIT et FLT3. Les mutations de *RAS* sont associées à la t(8;21) dans environ 15-20% des cas.^{199,215} Ces mutations touchent les exons 1 et 2 des gènes *K-RAS* et *N-RAS* (avec une incidence plus importante pour ce dernier). Les mutations de RAS ne semblent pas avoir d'impact pronostique dans les différentes études.

Les mutations de *FLT3*, à l'instar des autres LAM, sont également retrouvées dans les LAM du groupe CBF mais dans une moindre importance puisque les duplications en tandem de *FLT3* ne sont retrouvées que dans 6 à 9% des LAM avec t(8;21) mais gardent une valeur pronostique défavorable (en diminuant la survie globale).^{64,215} Les

mutations du domaine tyrosine kinase de *FLT3* sont quant à elles retrouvées dans moins de 5% des cas avec une valeur pronostique indéterminée.^{68,199,215} Récemment, une nouvelle mutation du domaine tyrosine kinase de *FLT3* (mutation N676K) a été rapportée par Opatz S. et al.²¹⁹ Cette mutation s'avère toutefois relativement rare (moins de 3% des cas) et sa valeur pronostique reste indéterminée. Des mutations récurrentes dans le domaine en doigt de zinc de la protéine c-CBL sont décrites depuis peu dans le cadre des LAM avec t(8;21) dans 7% des cas dans l'étude rapporté par Allen C et al.²¹⁵ Enfin, parmi les anomalies moléculaires rencontrées dans les LAM avec t(8;21), une surexpression de WT1 ou de BAALC seraient des facteurs de mauvais pronostic.^{220,221}

L'une des caractéristiques partagée par les LAM du groupe CBF est la possibilité de quantifier le taux de transcrit spécifique du réarrangement chromosomique, *RUNX1-RUNX1T1* dans la cas de la LAM avec t(8;21)(q22;q22). Cette quantification peut être évaluée à tout moment : au diagnostic, après chimiothérapie d'induction, en cours de traitement de consolidation et au cours du suivi après traitement permettant de quantifier la présence de cellules leucémiques avec une excellente sensibilité et ainsi de déterminer la maladie résiduelle non détectée par les techniques de cytologie conventionnelle. Les concepts de maladie résiduelle et la valeur pronostique de la quantification du transcrit à chacun de ces moments seront abordés dans le chapitre III de l'introduction.

3. COMPARAISON ENTRE LES LAM DU GROUPE CBF : T(8;21) ET INV(16)/T(16;16) :

Les LAM avec t(8;21) *RUNX1-RUNX1T1* et les LAM avec inv(16)/t(16;16) *CBFβ-MYH11* présentent des similitudes clinico-biologiques puisqu'elles touchent des sujets jeunes, sont associées à un bon pronostic et aux mutations de KIT et de RAS et sont chacune en lien avec une altération d'une sous-unité du complexe CBF essentiel pour l'hématopoïèse.

Toutefois, ces 2 sous-type de LAM présentent également des différences notables tant sur les plans clinique, cytologique, cytogénétique que moléculaire.^{186,187,199,215}

De même, les résultats obtenus sur d'importantes cohortes de patients sur le long terme ont permis d'observer une différence significative en terme de réponse au traitement puisque les patients atteints de LAM avec t(8;21) présentent une survie globale moins longue que les patients avec inv(16)/t(16;16), du fait d'une moins bonne chimiosensibilité lors des rechutes.^{184,186,187}

Ces principales différences sont résumées dans le Tableau 8

Tableau 8 : Différences clinico-biologiques entre les LAM du groupe CBF

	LAM avec t(8;21)(q22;q22)	LAM avec inv(16)/t(16;16)
Caractéristiques cliniques	Atteinte extra-médullaire plus fréquente (sous la forme de sarcome granulocyttaire).	- Touchent plus fréquemment des patients afro-américain. - Atteinte extra-médullaire moins fréquente mais plus souvent neuro-méningée.
Caractéristiques cytologiques	Associé à la LAM2 selon la classification FAB.	- Associé à la LAM4 à composante éosinophile selon la classification FAB. - Hyperleucocytose plus fréquente. - % blastes médullaire plus élevé.
Caractéristiques phénotypiques	Expression aberrante du CD19, de la Tdt et du CD56.	
Anomalies cytogénétiques additionnelles	Perte d'un chromosome sexuel (-Y chez l'homme, -X chez la femme) et del(9q).	Moins fréquentes, trisomie des chromosomes 22 (de bon pronostic), 8 ou 21, del(7q).
Anomalies moléculaires additionnelles	Mutation <i>FLT3-ITD</i> plus fréquente.	Anomalies moléculaires associées plus fréquentes, mutations de <i>RAS</i> , de l'exon 8 de <i>KIT</i> et <i>FLT3 TKD</i> plus fréquentes.
Pronostic	Survie globale moins longue.	Meilleure chimiosensibilité à la rechute.

Les récentes études du profil d'expression génique des LAM confortent également l'hypothèse d'une nette distinction entre ces 2 sous-entités.²²²⁻²²⁵

4. PRINCIPES DE PRISE EN CHARGE THERAPEUTIQUE DES LAM DU GROUPE

CBF :

Malgré les différences observées entre les 2 sous-types de LAM du groupe CBF, il n'existe à l'heure actuelle aucune différence dans leur prise en charge thérapeutique. Une seule exception existe à cette règle : l'intérêt d'une prophylaxie neuro-méningée en cas de LAM *CBF β -MYH11* hyperleucocytaire étant donné le risque de rechute neuro-méningée élevé dans cette catégorie de patients.²²⁶

La pierre angulaire du traitement des LAM du groupe CBF reste l'utilisation d'aracytine à fortes doses.

a. Prise en charge des LAM du groupe CBF chez le sujet

jeune :

La chimiothérapie d'induction la plus utilisée dans les LAM du groupe CBF du sujet jeune demeure le classique « 3+7 » qui permet d'obtenir une RC dans près de 90% des cas. Etant donné l'importance de l'aracytine à doses élevée dans ce sous-groupe de patients, plusieurs groupes coopérateurs ont tenté de démontrer, sans succès, l'intérêt d'augmenter les doses de cytarabine au cours de la chimiothérapie d'induction.^{107,227} Le groupe français coopérateur ALFA-GOELAMS a étudié dans un essai de phase III l'intérêt d'augmenter les doses d'aracytine pendant la chimiothérapie d'induction dans les LAM du groupe CBF.¹⁹⁹ Dans cette étude, 198 patients présentant une LAM du groupe CBF (dont 96 LAM avec t(8;21)) ont été

randomisés entre une chimiothérapie d'induction « 3+7 » classique (daunorubicine 60mg/m²/j de J1 à J3, aracytine 200mg/m²/j de J1 à J7 soit une dose totale d'aracytine de 1,4g/m²) et une chimiothérapie d'induction séquentielle systématique (daunorubicine 60mg/m²/j de J1 à J3 et 35mg/m²/j de J8 à J9, aracytine 500mg/m²/j de J1 à J7 et 1g/m²/12h de J8 à J10 soit une dose totale d'aracytine de 7,5g/m²). Aucune différence significative n'était mise en évidence entre les 2 bras concernant la survie sans rechute à 36 mois (64% dans les 2 bras, p=0,91). Les résultats de cet essai sont à mettre en balance avec le fait que les patients recevaient des cures de consolidation par aracytine hautes doses, annulant possiblement l'effet bénéfique qu'aurait pu avoir l'augmentation des doses de cytarabine lors de l'induction.

Concernant les doses d'anthracyclines dans les LAM du groupe CBF, le groupe coopérateur américain ECOG a rapporté les résultats d'un essai de phase III où la dose de daunorubicine était différente (45mg/m²/j ou 90mg/m²/j) pendant 3 jours (associé à l'aracytine 100mg/m²/j pendant 7 jours) chez des patients de moins de 60 ans présentant une LAM. Parmi l'ensemble de la cohorte, 89 patients présentaient une LAM du groupe CBF et l'on ne retrouvait pas de différence significative sur la survie globale entre les 2 bras de traitement de ce sous-groupe.¹⁰⁶

Une fois la rémission complète obtenue (> 90% des cas de LAM du groupe CBF), il est absolument nécessaire d'instaurer un traitement de consolidation. Le traitement de consolidation le plus largement utilisé dans cette situation, et ce depuis 20 ans, demeure l'utilisation de cures d'aracytine à hautes doses (3g/m²/12h à J1, J3 et J5) suite à la publication du groupe coopérateur américain CALGB.¹¹³ Ce type de consolidation permet d'observer une survie sans rechute de 78% à 5 ans après une chimiothérapie d'induction avec des doses standard d'aracytine.²²⁸ Il est également admis qu'au moins 3 cures d'aracytine hautes doses sont nécessaires pour améliorer

significativement le pronostic des LAM CBF.^{229,230} Le fait que le bénéfice des cures de consolidation par aracytine hautes doses soit associé aux mutations de *RAS* explique de manière indirecte l'intérêt de l'aracytine dans les LAM CBF.²³¹ Toutefois, il semble que l'utilisation de cures d'aracytine hautes doses en consolidation ne soit pas nécessaire lorsque la chimiothérapie d'induction comportait déjà de l'aracytine à forte dose, démontrant que la dose cumulée d'aracytine pendant le traitement soit plus importante que le moment où elle est reçue.²³² D'autres alternatives aux cures d'aracytine hautes doses ont été testées par différents groupes sans amélioration significative de la survie globale et parfois au prix d'une toxicité plus importante.²³³⁻²³⁵ L'intensification thérapeutique avec autogreffe de CSH est une alternative envisageable aux cures de consolidation par aracytine hautes doses avec une efficacité similaire.^{184,236,237}

Il n'existe pas à l'heure actuelle d'indication d'allogreffe de CSH en 1^{ère} RC en cas de LAM CBF. En effet, le fait que la probabilité de rechute soit inférieure à 35% associée au fait que les LAM du groupe CBF conservent une bonne chimiosensibilité lors des rechutes font que les patients avec LAM CBF ne bénéficient pas d'une allogreffe de CSH avec donneur géno-identique après conditionnement myélo-ablatif où l'on observe une mortalité liée à la procédure qui approche les 20%.^{112,238-240} Toutefois, cette stratégie pourrait évoluer avec l'avènement des conditionnements à intensité réduite et l'importance pronostique des mutations de *KIT* et de la maladie résiduelle dans ce sous-groupe.

L'intérêt de l'ajout d'une 3^{ème} drogue dans les LAM CBF n'a jamais été réellement démontré hormis peut être l'adjonction de gemtuzumab ozogamycin (GO). Le groupe du MRC a ainsi rapporté une meilleure survie globale sur une cohorte comportant 132 patients avec LAM CBF traités par chimiothérapie intensive avec une

injection de GO à 3 mg/m² à J1 de l'induction (OS à 5 ans : 79% contre 51% sans GO, p=0,0003).²⁴¹ Des résultats similaires ont été observés dans l'étude française de phase III ALFA0701 sur des patients âgés de 50 à 70ans (bien que le groupe de cytogénétique favorable soit peu représenté).¹⁰⁸ Une meilleure survie sans rechute et une tendance non significative à une meilleure survie globale ont aussi été observées dans l'étude intergroupe S0106 lors de l'ajout de GO à la chimiothérapie d'induction parmi les 71 patients de moins de 60 ans présentant une LAM CBF.²⁴² Malheureusement, l'interprétation des résultats obtenus sur les différentes études évaluant l'intérêt de l'adjonction de GO à la chimiothérapie classique se heurte à des doses et des schémas d'utilisation du GO différents. L'adjonction du GO semble en tout cas plus intéressante lors de la chimiothérapie d'induction qu'en consolidation ou en maintenance.^{237,241,243,244}

b. Prise en charge des LAM du groupe CBF chez le sujet âgé :

Les LAM du groupe CBF représentent environ 5% des LAM du sujet âgé de plus de 60 ans et constituent, comme chez le sujet jeune, un sous-groupe de LAM de bon pronostic. En effet, la survie globale des patients de plus de 65 ans avec LAM CBF atteint environ 22% à 5 ans, ce qui est bien supérieur aux autres sous-types de LAM dans cette tranche d'âge.¹⁸⁷ Dans une étude rétrospective, Prebet T. et al rapportaient les résultats obtenus sur une cohorte de 147 patients âgés de plus de 60 ans avec une LAM CBF traités par chimiothérapie intensive. Une RC était obtenue dans 88% des cas (résultats comparables à ceux obtenus chez les sujets jeunes) tandis que la survie sans rechute et la survie globale étaient estimées à 26% et 31% à 5 ans respectivement. Cette étude montre également l'intérêt d'une chimiothérapie de consolidation par aracytine à doses élevées (de manière

significative dans le sous-groupe de LAM avec t(8;21) lorsque l'état clinique du patient le permet).²⁴⁵ Plus récemment, une amélioration de la survie sans rechute et de la survie globale lors de l'ajout de GO à une chimiothérapie intensive a été rapportée chez les sujets âgés avec cytogénétique favorable (mais pas chez les sujets non éligibles pour une chimiothérapie intensive).^{244,246}

c. Prise en charge des LAM du groupe CBF en rechute :

Malgré un bon pronostic, environ un tiers des sujets jeunes avec LAM du group CBF vont rechuter. Fait intéressant, le pronostic des LAM avec t(8;21) en rechute est moins favorable que celui des LAM avec inv(16). En effet, une 2^{ème} RC n'est obtenue après chimiothérapie intensive que dans 33% des cas (contre 78% des cas de LAM avec inv(16)) ce qui pourrait expliquer que la survie globale des patient avec t(8;21) soit moins favorable que celle des patients présentant une LAM avec inv(16).¹⁸⁴ Une durée de 1^{ère} RC <12 mois, un âge élevé à la rechute et l'apparition d'anomalies cytogénétiques associées (plus fréquente en cas de LAM avec t(8;21)) sont des facteurs de mauvais pronostic à la rechute.

La chimiothérapie de rattrapage comporte classiquement de l'aracytine à doses élevées sans qu'il n'y ait pour autant d'étude randomisée pour démontrer son intérêt. Plusieurs schéma de chimiothérapie de rattrapage ont été proposés associant de fortes doses d'aracytine à l'amsacrine, à la fludarabine seule (FLAG) ou avec idarubicine (FLAG-IDA), à la mitoxantrone seule (HAM) ou avec GO (MIDAM).^{247,248} Aucun de ces schémas de traitement n'est reconnu comme supérieur à un autre. Une allogreffe de CSH est indiquée en cas de LAM CBF en rechute après obtention de la 2^{ème} RC afin d'améliorer la survie globale (surtout en cas de LAM avec t(8 ;21)).^{249,250} De Labarthe et al. rapportent ainsi une survie globale à 5 ans de la

rechute à 42% en cas de donneur géno-identique contre 15% en l'absence de donneur.

Concernant les LAM CBF du sujet âgé en rechute, il semble que ces patients bénéficient d'un schéma de chimiothérapie intensive surtout en cas d'inversion du chromosome 16 et de rechute survenant plus d'un an après obtention de la 1^{ère} RC.²⁴⁵ L'allogreffe de CSH après conditionnement réduit pourrait avoir un rôle dans cette sous-catégorie de patients.

Différents traitements dits ciblés sont actuellement ou prochainement à l'essai dans le cadre des LAM du groupe CBF basés sur les différentes découvertes physiopathologiques citées plus haut. On retiendra essentiellement les inhibiteurs de tyrosine kinase tel le dasatinib qui pourrait jouer un rôle dans les LAM CBF avec mutation de *KIT*, les inhibiteurs d'histone deacetylase ou les inhibiteurs de certaines voies de signalisation (JAK2 ou PI3K/Akt).

III. PRINCIPES ET INTERET DE LA MALADIE RESIDUELLE DANS LES LAM :

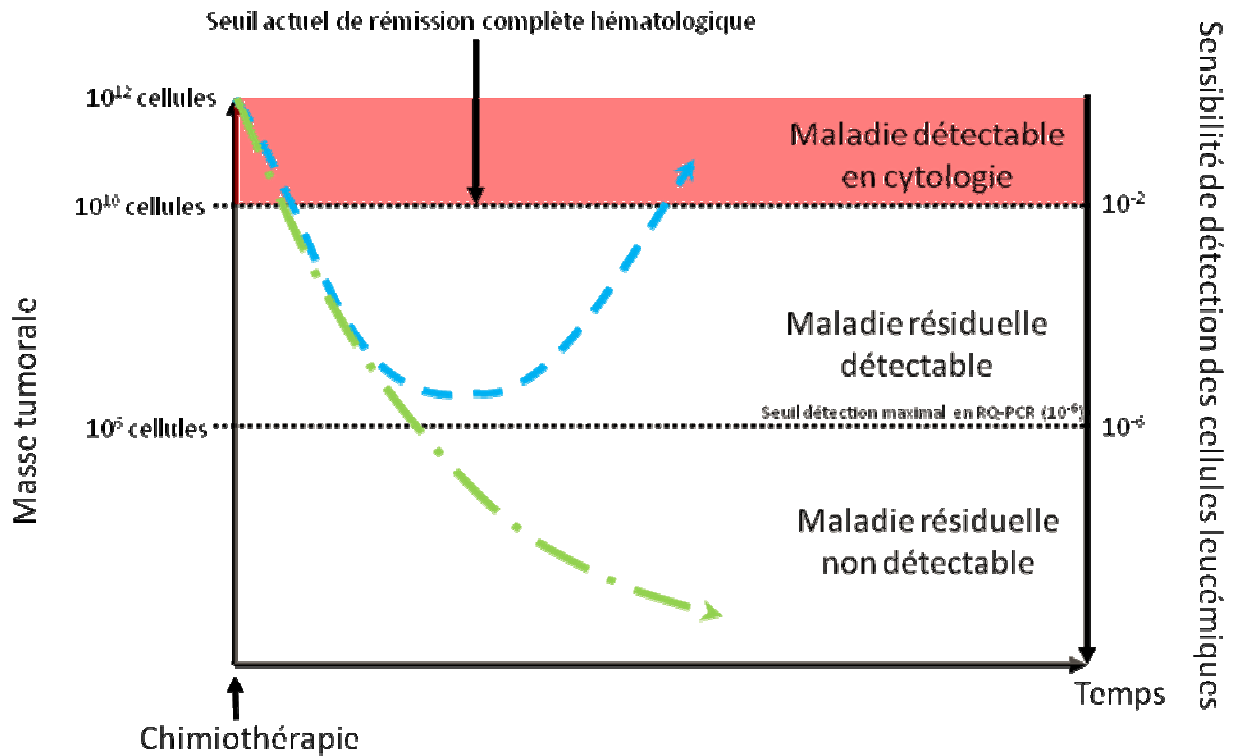
La totalité de la prise en charge thérapeutique des LAM est basée sur leurs caractéristiques initiales comme vu précédemment et le seul facteur pronostique couramment évalué après traitement reste l'obtention d'une rémission complète hématologique. La RC, définie sur des paramètres cytologiques, est un facteur pronostique majeur mais sa sensibilité est extrêmement limitée (au maximum 10^{-2}) ce qui en fait un grossier indicateur de la réponse thérapeutique. Cette limite de détection permet d'expliquer qu'une partie des patients rechutent à distance du

traitement alors même qu'ils étaient considérés en RC. Une meilleure sensibilité de détection de la « maladie résiduelle » (MRD) pourrait permettre de déterminer précocement les patients les plus à risque de rechuter et d'adapter la stratégie thérapeutique en conséquence (ex : indication d'allogreffe de CSH chez les patients dits de risque favorable, intensification du schéma thérapeutique ou mise en place de traitement de consolidation ou de maintenance adapté).

De la même manière, le suivi à long terme de manière répétée d'une cible spécifique de la LAM pourrait permettre de détecter les rechutes de manière beaucoup plus précoce et de pouvoir utiliser des thérapies moins lourdes (immunothérapies, thérapies ciblées) pour prévenir la rechute hématologique chez des patients présentant une faible masse tumorale.

Les techniques de cytométrie en flux et de biologie moléculaire ont toute leur place dans la détermination de cette MRD.^{251,252}

Figure 3: Principe de la maladie résiduelle. On peut observer que les 2 profils de patients obtiennent une rémission complète après chimiothérapie selon les critères actuels. Toutefois le profil d'évolution en bleu montre la persistance d'une maladie détectable (MRD), suivie d'une rechute à distance, qui peut être anticipée par l'ascension préalable de la MRD.



1. METHODES DE DETECTION DE LA MALADIE RESIDUELLE DANS LES LAM :

Deux approches différentes, d'une grande sensibilité, ont fait leur apparition dans l'évaluation de la MRD dans les LAM.

Une comparaison des différents avantages et inconvénients des techniques de détection de la MRD par CMF et biologie moléculaire est présentée dans le Tableau 9.

Tableau 9 : avantages et inconvénients de la cytométrie en flux et de la biologie moléculaire dans l'évaluation de la maladie résiduelle au cours des LAM

	Cytométrie en flux	Biologie moléculaire (RQ-PCR)
Avantages	<ul style="list-style-type: none"> - Applicable chez 85-90% des patients - Résultats possibles en 24h - Grande spécificité - 1 résultat positif unique semble suffisant 	<ul style="list-style-type: none"> - Applicable chez plus de 50% des patients - Technique standardisée et reproductible - Meilleure sensibilité - Fusion de gène ou mutation génique stable dans le temps ou surexpression de gène
Inconvénients	<ul style="list-style-type: none"> - Manque de reproductibilité entre les laboratoires - Ne tient pas compte des changements de phénotype possibles lors d'émergence de sous-clone - Ne peut être suivi si le LAIP n'a pas été établi au diagnostic 	<ul style="list-style-type: none"> - Délai de rendu de résultats plus longs - L'interprétation d'un seul résultat peut être difficile notamment en cas de MRD faiblement positive

D'un côté, la détection de la MRD par cytométrie en flux est basée sur l'expression d'antigènes aberrants présents à la surface des cellules blastiques au diagnostic définissant un phénotype spécifique de la LAM du patient (Ex : expression de CD7, marqueur lymphoïde, à la surface des blastes de LAM). Le terme LAIP (Leukemia-Associated ImmunoPhenotype) désigne la présence d'un phénotype particulier pouvant être suivi en CMF. La détection de la MRD en CMF présente plusieurs intérêts : une utilisation possible dans près de 85% des LAM (toute cytogénétique confondue), une obtention rapide des résultats, une grande spécificité, la capacité de distinguer les cellules mortes et une sensibilité avec les techniques 4 couleurs qui se situe entre 10^{-4} et 10^{-5} . Malheureusement, cette technique se heurte à un manque de reproductibilité flagrant entre chaque laboratoire avec pour conséquence un seuil de positivité qui reste indéterminé limitant son usage de manière standardisée.

La détection de la MRD par les techniques de biologie moléculaire (RT-PCR et surtout RQ-PCR) peut être réalisée de manière robuste en présence d'une translocation chromosomique responsable d'une fusion de gènes, mais aussi en

présence d'une mutation génique ou d'une surexpression de gènes dérégulés dans les LAM. L'utilisation de la RQ-PCR pour l'évaluation de la MRD a de nombreux avantages et est devenue la méthode de référence dans l'évaluation de la MRD par biologie moléculaire. Il s'agit en effet d'une méthode très sensible (10^{-3} - 10^{-4} pour la détection de gènes surexprimés, jusqu'à 10^{-5} - 10^{-6} pour la recherche de transcrit de fusion ou de mutation de gènes) et standardisée depuis 2003 pour certaines cibles.²⁵³ Les différentes cibles de suivi de la MRD en biologie moléculaire vont être détaillées dans la partie suivante. Dans un avenir proche, les techniques de séquençage haut débit pourraient probablement se substituer à la RQ-PCR, en particulier pour la quantification des mutations géniques.

Enfin, une autre alternative de suivi de la MRD semble émerger depuis peu chez les patients présentant une LAM avec mutation d'*IDH1* ou *IDH2*. En effet, les mutations d'*IDH1* et 2 sont responsables d'une augmentation de la production de 2-hydroxyglutarate, cette molécule étant détectable dans les myéloblastes, le sérum et les urines des patients par technique de chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse.²⁵⁴ Cette technique permet de détecter le 2-hydroxyglutarate jusqu'à un seuil de 10ng/mL et pourrait s'avérer utile dans l'évaluation de la réponse au traitement et le suivi de la MRD chez les patients avec mutation d'*IDH1/2*.^{255,256}

2. MALADIE RESIDUELLE EN BIOLOGIE MOLECULAIRE DANS LES LAM :

L'évaluation de la MRD en biologie moléculaire pourrait donc permettre une stratification thérapeutique pendant le traitement et jouer le rôle de marqueur de suivi de la maladie après traitement. Ces techniques se heurtent malheureusement à plusieurs problématiques : nécessité d'un marqueur stable dans le temps et à la

rechute, nécessité de déterminer le type de prélèvement le plus adéquat (sang ou moelle osseuse), nécessité d'établir un seuil de positivité significatif et reproductible, nécessité d'établir les meilleurs moments pour réaliser cette MRD pendant le traitement (pendant l'induction, après induction, pendant la consolidation, après consolidation ?) et au cours du suivi (délais entre chaque prélèvement ?).

a. Suivi moléculaire de la surexpression de *WT1* :

WT1 est un facteur de transcription jouant un rôle essentiel dans le développement normal (notamment rénal) et dont l'expression, à l'âge adulte, est restreinte aux podocytes des glomérules rénaux et à une partie des progéniteurs hématopoïétiques présents dans la moelle osseuse.²⁵⁷ Ce gène est surexprimé dans 80-90% des cas de LAM au niveau sanguin et médullaire ce qui en fait théoriquement une cible de choix dans l'évaluation de la MRD par RQ-PCR, avec une bonne sensibilité avoisinant 10^{-3} .²⁵⁸ Malheureusement, l'expression de *WT1* est détectable chez des sujets sains et à des taux relativement élevés dans la moelle osseuse ce qui nécessite de déterminer un seuil pathologique limitant l'usage de ce marqueur à la moitié environ des patients atteints de LAM.²⁵⁹

De nombreuses études mesurant l'expression de *WT1* ont montré qu'un taux élevé ou une diminution insuffisante du taux de *WT1* était un facteur pronostique prédictif de rechute à différents temps thérapeutiques (en cours d'induction, après induction ou après traitement de consolidation).²⁶⁰⁻²⁶² Malheureusement, la variabilité des techniques, du type de prélèvement (moelle osseuse ou sang) et des seuils de positivité utilisés rendent difficile l'interprétation des résultats. Une étude rapportée par Cilloni et al. réalisée au sein de l'ELN a permis de standardiser la méthode de quantification de l'expression de *WT1* et de définir les valeurs physiologiques

d'expression de *WT1*.²⁵⁹ Cette étude a aussi montré que la réduction de 2-log du taux de transcrit de *WT1* après chimiothérapie d'induction standard et la normalisation du taux de transcrit après traitement de consolidation chez des patients en RC étaient des facteurs pronostiques importants associés à un moindre risque de rechute.

La mesure du taux de transcrit de *WT1* permet également de détecter de manière précoce les rechutes dites moléculaires ce d'autant plus que ce marqueur s'avère stable au cours de l'évolution de la maladie. Les différentes études menées en suivi après obtention de la RC ont permis d'établir des délais entre rechute moléculaire et rechute hématologique de 1 mois lorsque *WT1* est recherché dans le sang et 4 mois pour la moelle osseuse.²⁶¹ La détection des rechutes moléculaires pourrait ainsi permettre de prévenir les rechutes hématologiques en utilisant des traitements efficaces sur une faible masse tumorale. L'injection de lymphocytes du donneur chez les patients allogreffés demeure aujourd'hui l'immunothérapie la plus fréquemment utilisée en cas de rechute post-allogreffe avec des résultats parfois spectaculaires. L'effet de cette thérapeutique chez 17 patients allogreffés pour LAM présentant une rechute moléculaire basée sur la mesure de *WT1* a ainsi été rapporté récemment.²⁶³ Une différence significative de survie globale était observée en comparaison avec 21 patients en rechute moléculaire qui n'ont pas reçu de DLI. Ces résultats intéressants montrent l'intérêt d'une stratégie thérapeutique basée sur la MRD mais méritent confirmation.

D'autres gènes que *WT1*, comme *EVI1* et *BAALC*, dont l'expression est dérégulée dans les LAM font l'objet d'étude et pourraient devenir des marqueurs de suivi de la MRD.

b. Suivi moléculaire des mutations géniques :

Parmi l'ensemble des mutations décrites dans les LAM, les mutations de *NPM1* demeurent les plus fréquentes notamment chez les patients avec LAM à caryotype normal. Ceci ajouté au fait que la mutation de *NPM1* reste stable à la rechute dans plus de 90% des cas en fait un marqueur de suivi potentiel dans l'évaluation de la MRD.²⁶⁴

En 2006, l'équipe de B.Falini montrait qu'il était possible d'évaluer la MRD en utilisant comme cible les mutations de *NPM1*, avec une sensibilité de 10^{-4} – 10^{-5} .²⁶⁵ Par la suite, 3 études sur d'importantes cohortes ont validé le fait que le taux de transcrite de *NPM1* muté après induction et en fin de traitement avait une valeur pronostique en identifiant des patients à risque de rechute élevé.^{264,266,267} Une MRD positive en fin de traitement s'avère ainsi de mauvais pronostic. Ces études rapportent également une bonne corrélation entre l'évaluation de la MRD sur sang et sur moelle, cette dernière étant toutefois plus sensible. Au cours du suivi, après traitement de consolidation, un seuil de 0,2 à 1% selon les études et les techniques utilisées est prédictif d'une rechute hématologique dans un délai de 2 à 4 mois, laissant imaginer un délai suffisant à la mise en place de thérapies ciblées ou immunologiques. Sockel et al. ont d'ailleurs rapporté les résultats de la mise en place d'un traitement par agent déméthylant (5-azacytidine) chez 10 patients suivis pour une LAM et présentant une rechute moléculaire basée sur le taux de mutation de *NPM1* (ratio *NPM1 muté/ABL* >1%).²⁶⁸ Parmi ces 10 patients, 3 patients seulement ont rechuté après un suivi médian de 10 mois et une réponse moléculaire (diminution d'au moins 1 log du ratio *NPM1 muté/ABL*) a été observée chez 7 patients. Une étude de plus large envergure est d'ailleurs en cours afin de démontrer l'intérêt d'une telle stratégie.

D'autres mutations de gènes pourraient également être des marqueurs de suivi moléculaire de la réponse au cours des LAM. La duplication en tandem de *FLT3*, présente dans environ 30% des cas de LAM à caryotype normal, représente ainsi un marqueur d'évaluation possible de la MRD.²⁶⁹ Plusieurs études ont montré que le taux de *FLT3-ITD* après chimiothérapie d'induction avait une valeur pronostique sur le risque de rechute et la survie.²⁷⁰⁻²⁷² Cependant, le caractère instable de cette mutation à la rechute (environ 10-20% des patients perdent la mutation; un changement de la longueur de la duplication est également observée) et les difficultés techniques rencontrées rendent son utilisation relativement difficile en tant que marqueur de MRD.^{264,270,273,274}

CEBPA est un gène muté dans 5 à 10% des LAM et cette mutation semble stable lors des rechutes ce qui en fait un marqueur potentiel de MRD par RQ-PCR ou mieux par séquençage à haut débit.²⁷⁵⁻²⁷⁶ La duplication en tandem de *MLL*, retrouvée dans 5-10% des LAM, représente également un marqueur de suivi potentiel. L'importance de la réduction du taux de transcrite après chimiothérapie pourrait également s'avérer pronostique et le suivi après traitement a révélé un délai médian entre rechute moléculaire et hématologique de 35 jours.²⁷⁷ Enfin, les mutations de *DNMT3A*, retrouvées dans environ 25% des LAM à caryotype normal, pourraient être utilisées dans l'évaluation de la MRD étant donné leur caractère stable à la rechute mais le fait que ces mutations peuvent être retrouvées lors d'états pré-leucémiques ou chez des sujets sains rend difficile l'interprétation des résultats de suivi après traitement.²⁷⁸

c. Suivi moléculaire du taux de transcrit de fusion chimérique :

La quantification du transcrit issu d'un gène de fusion obtenu par translocation entre 2 chromosomes est actuellement la méthode la plus robuste et sensible pour le suivi de la MRD au cours des LAM, mais ne concerne malheureusement que 20-30% des LAM. A l'instar de *BCR-ABL* dans la leucémie myéloïde chronique, gène de fusion issu de la translocation entre les chromosomes 9 et 22, dont l'importance du suivi en biologie moléculaire est essentielle, la quantification du transcrit *PML-RARA* (issu de la translocation entre les chromosomes 15 et 17) est devenue indispensable dans le suivi des leucémies aiguës promyélocyaires afin de prédire les rechutes et de mettre en place des thérapeutiques avant la rechute hématologique.²⁷⁹⁻²⁸²

D'autres sous-types de LAM, comme les LAM avec réarrangement du gène *MLL* (*MLL-AF6*, *MLL-AF9*, *MLL-MLLT3*...) ou les LAM avec t(6;9) présentant le gène de fusion *DEK-NUP214*, pourraient également bénéficier d'un suivi en biologie moléculaire par RQ-PCR, mais l'intérêt pour ces autres transcrits de fusion est plus limité en pratique courante compte tenu de leur plus faible incidence et de la diversité des points de cassure.²⁸³⁻²⁸⁶

Ainsi, concernant les LAM non promyélocyaires, la grande majorité des publications sur la détection de gènes de fusion en biologie moléculaire a trait aux LAM du groupe CBF que sont les LAM avec t(8;21) et inv(16).

3. MALADIE RESIDUELLE EN BIOLOGIE MOLECULAIRE DANS LES LAM DU

GROUPE CBF :

a. Généralités sur la maladie résiduelle dans les LAM CBF :

Les translocations chromosomiques observées dans les LAM avec t(8;21)(q22 ;q22) et les LAM avec inv(16)/t(16;16) sont responsables de la fusion des gènes *RUNX1* avec *RUNX1T1* et *CBFβ* avec *MYH11* respectivement. Leur détection est devenue possible en routine dans les années 1990 avec l'avènement des techniques de RT-PCR puis de RT-PCR nichée.^{287,288} Ces techniques permettent de détecter de manière qualitative la persistance du transcrite issu du gène de fusion et donc d'apprécier plus finement la réponse obtenue après chimiothérapie. Toutefois, des résultats discordants et plusieurs problématiques ont limité l'intérêt de ces 2 techniques. En effet, alors que certains auteurs rapportaient l'importance pronostique d'une négativation de la MRD en RT-PCR après traitement,²⁸⁹⁻²⁹¹ d'autres publications faisaient état de la présence de patients en RC depuis plusieurs années avec persistance d'une MRD positive en RT-PCR, en particulier dans les LAM avec t(8;21).²⁹²⁻²⁹⁵

Ces résultats ont démontré la nécessité d'utiliser la RQ-PCR, technique sensible d'évaluation quantitative du taux de transcrite dans les LAM du groupe CBF. Les 1^{ères} publications utilisant la RQ-PCR ont permis de montrer qu'une diminution du taux de transcrite spécifique de chaque LAM du groupe CBF était observée après traitement (diminution de 2 à 4 log après chimiothérapie d'induction, diminution de 1 à 3 log après chimiothérapie de consolidation).²⁹⁶⁻²⁹⁹ Par la suite, d'autres études ont tenté de déterminer sur de plus grandes cohortes de patients, une valeur pronostique à la cinétique de réduction du taux de transcrite et d'établir des seuils prédictifs de

rechute hématologique. Toutefois, de nombreuses disparités entre les publications gênent l'interprétation des résultats obtenus : traitement d'induction et de consolidation différents selon les études (même si les études utilisent toujours un schéma intensif), type de prélèvement différent (moelle osseuse et/ou sang), techniques d'extraction de l'ARN et de RQ-PCR différentes selon les laboratoires avec notamment utilisation de gène rapporteur différents et expression des résultats de manière différente.

b. Maladie résiduelle en RQ-PCR dans les LAM avec inv(16)/t(16;16) :

1) Corrélation des résultats selon le type de prélèvement (moelle osseuse ou sang) :

Dans le cas des LAM *CBF β -MYH11*, les différentes études réalisées rapportent une bonne corrélation entre les résultats obtenus sur moelle osseuse et sur sang.^{300,301} Toutefois, cette corrélation semble bien meilleure en cas de taux élevé de transcrite (uniquement si la valeur de MRD était supérieure à 0,1% selon Guièze R. et al).³⁰² De plus, cette corrélation semble variable au cours du temps. En effet, une excellente corrélation est observée au diagnostic et au cours du suivi alors qu'une moins bonne corrélation est observée pendant ou au décours de la chimiothérapie. En effet, durant la période de traitement, plusieurs auteurs ont rapporté de nombreux prélèvements où la MRD était positive sur moelle osseuse alors même qu'elle était négative sur sang.^{301,303-306} Il n'existe pas d'explication claire à ce phénomène mais la moelle osseuse étant le site originel de la LAM, il pourrait sembler logique que la clairance blastique soit plus rapide dans le sang.

2) Valeur pronostique de la MRD en RQ-PCR pendant le traitement :

Plusieurs études se sont intéressées à l'étude de la MRD par RQ-PCR au diagnostic et pendant le traitement avec pour objectif de définir des sous-groupes de patients de moins bon pronostic. L'objectif de ces études serait à terme d'établir une stratégie thérapeutique dynamique basée sur la réponse au traitement évaluée par RQ-PCR (et notamment une stratégie d'allogreffe de CSH en 1^{ère} RC). A ce jour, aucune étude utilisant cette stratégie n'a été publiée concernant les LAM avec inv(16). La majorité des résultats publiés est résumé dans le tableau 10.

On peut observer que la majorité de ces études n'a pas retrouvé d'impact pronostique du taux de transcrit *CBFβ-MYH11* au diagnostic (bien qu'il soit corrélé à la blastose médullaire) alors que la réduction du taux de transcrit après chimiothérapie d'induction (au moins 2 log) semble être un facteur de bon pronostic dans la majorité des études. L'évaluation de la MRD par RQ-PCR en cours de traitement de consolidation semble être celle avec la valeur pronostique la plus importante selon toutes les études pour évaluer le risque de rechute. Ainsi l'obtention d'un seuil de MRD de 0,1% (voire une MRD négative) en cours de traitement de consolidation semble être un facteur limitant le risque de rechute ultérieure.^{199,302,306} De même, l'évaluation de la cinétique de réduction du taux de transcrit pendant les cures de consolidation semble être un facteur pronostique essentiel puisque dans l'étude CBF2006 de l'intergroupe français d'étude des LAM, une réduction de 3 log du taux de transcrit avant la 2^{ème} cure de consolidation par rapport au diagnostic était le seul facteur pronostique de rechute retrouvé en analyse multivariée.¹⁹⁹

Tableau 10 : Valeur pronostique de la PCR quantitative (RQ-PCR) dans les inv(16) avant et en cours de traitement :

(MO : moelle osseuse, OS : survie globale, EFS : survie sans événement, RFS : survie sans rechute, CIR : incidence cumulée de rechute)

Référence bibliographique	N patients	Type de prélèvement	Gène rapporteur	Valeur pronostique de la MRD au diagnostic	Valeur pronostique de la MRD après induction	Valeur pronostique de la MRD pendant les cures de consolidation
Marcucci G. Leukemia 2001 ³⁰⁷	16	MO	<i>18S</i>	Non		
Guerrasio A. Leukemia 2002 ²⁹⁹	16	MO	<i>ABL</i>	Non	Oui (RFS) avec seuil de 100 copies pronostique	
Schnittger S. Blood 2003 ³⁰⁸	122	MO	<i>ABL</i>	Oui (OS et EFS)		
Krauter J. JCO 2003 ³⁰⁹	15	MO et sang	<i>GAPDH</i>		Oui (RFS avec seuil de 1% par rapport à la valeur au diagnostic ou si diminution du ratio inférieure à 2 log)	
Boeckx N. Leukemia 2005 ³⁰⁴	10	MO et sang	<i>GUS</i>	Non		
Stentoft J. Leuk Res 2006 ³⁰⁰	13	MO et sang	<i>B2 microglobuline et ABL</i>		Oui (EFS selon réduction de 2 log)	
Perea G. Leukemia 2006 ³¹⁰	27	MO	<i>ABL</i>		Non	
Corbacioglu A. JCO 2010 ³⁰⁵	53	MO et sang	<i>B2 microglobuline</i>	Non	Non	Oui (RFS selon obtention d'une MRD négative sur MO)
Guieze R. Leukemia 2010 ³⁰²	59	MO et sang	<i>ABL</i>	Non	Oui (RFS selon seuil 0.5%)	Oui (RFS si seuil >0,1% ou absence de réduction de 3 log après 1 ^{ère} cure de consolidation)
Yin JA. Blood 2012 ³⁰⁶	115	MO et sang	<i>ABL</i>	Non	Oui (CIR et OS selon seuil de 10 copies dans le sang)	Oui (CIR et OS selon seuil de 10 copies dans le sang)
Jourdan E. Blood 2013 ¹⁹⁹	102	MO et sang	<i>ABL</i>		Réduction du taux de transcrit dépend du type d'induction mais pas pronostique	Oui (RFS avant la 2 ^{ème} cure de consolidation selon la réduction de 3 log du taux de transcrit ou selon le seuil de 0,1%)
Hoyos M. Eur J Hematol 2013 ³¹¹	76	MO	<i>ABL</i>	Oui (DFS)	Oui (DFS)	

3) Valeur pronostique de la MRD en RQ-PCR après traitement :

L'objectif ultime du suivi de la MRD en RQ-PCR après traitement est d'évaluer le risque de rechute hématologique et d'instaurer un traitement préemptif voire de réaliser d'emblée une allogreffe de CSH avant la rechute hématologique

Plusieurs questions ont été posées dans cette situation dans les différentes études jusqu'ici publiées. Le rôle pronostique de l'obtention d'une MRD négative en RQ-PCR en fin de traitement et au cours du suivi semble être un facteur pronostique essentiel dans les LAM *CBFβ-MYH11*.^{302,305,308} Deux équipes ont confirmé, sur 1 cohorte différente, qu'un taux de transcrit <0,12% est prédictif de l'absence de rechute tandis qu'un taux >0,25% est prédictif d'une rechute hématologique.^{312,313} Toutefois, il a été rapporté (de manière beaucoup moins fréquente que dans les LAM avec t(8;21)) des cas de patients en RC hématologique avec persistance d'un transcrit *CBFβ-MYH11* détectable en RQ-PCR. Guerrasio A. et al ont ainsi rapporté le cas d'un patient présentant toujours une MRD positive en RQ-PCR à 20 mois du début de traitement sans présenter de rechute hématologique.²⁹⁹ Cependant, de nombreux auteurs insistent sur la nécessité d'un suivi plus long de ces patients, cette situation étant dans la majorité des cas suivie d'une rechute hématologique à l'inverse de ce qui est observée chez certains patients avec LAM t(8;21). Au cours du suivi de la MRD après traitement, le délai médian entre la rechute moléculaire et la rechute hématologique est de 1 à 8 mois selon les études. Toutefois, la majorité des auteurs s'accordent pour un suivi de la MRD tous les 3 mois (voire 6 mois pour Ommen HB et al)³⁰¹ pendant 18-24 mois sans que cela n'ait été jusqu'à présent évalué de manière prospective.

Il n'existe à ce jour aucune publication traitant d'une thérapie basée sur la MRD en RQ-PCR dans les LAM *CBFβ-MYH11*. Toutefois, Laczika K. et al. ont

rapporté leur expérience obtenue chez 2 patients allogreffés de CSH pour une LAM avec inv(16) qui ont présenté une réascension de la MRD évaluée par RT-PCR. Un arrêt du traitement immunosuppresseur par ciclosporine était alors entrepris permettant d'observer une négativation de la MRD par la suite (et l'absence de rechute hématologique).³¹⁴

Le tableau 11 résume les résultats observés dans les différentes études publiées sur l'étude la MRD en RQ-PCR après traitement d'une LAM *CBF β -MYH11*.

Tableau 11 : Valeur pronostique de la PCR quantitative (RQ-PCR) dans les inv(16) après traitement :

(MO : moelle osseuse, OS : survie globale, EFS : survie sans événement, RFS : survie sans rechute, CIR : incidence cumulée de rechute)

Référence bibliographique	N patients	Type de prélèvement	Gène rapporteur	Valeur pronostique de la MRD après consolidation	Intérêt du suivi de la MRD après traitement
Van der Reijden BH. BJH 2002 ³⁰³	6	MO et sang	<i>Albumine</i>		Délai rechute moléculaire e rechute hémato de 4 mois
Buonamici S. Blood 2002 ³¹²	21	MO	<i>ABL</i>		Pas de rechute si taux de transcrit $\leq 0,12\%$ Rechute si taux de transcrit $\geq 0,25\%$
Guerrasio A. Leukemia 2002 ²⁹⁹	16	MO	<i>ABL</i>		Pas de rechute si le taux de transcrit <1 copie
Schnittger S. Blood 2003 ³⁰⁸	122	MO	<i>ABL</i>	Oui (OS et EFS) avec ratio <0,014%	Délai entre rechute moléculaire et hématologique de 1-5 mois
Krauter J. JCO 2003 ³⁰⁹	15	MO et sang	<i>GAPDH</i>		Délai entre rechute moléculaire et hématologique de 99 jours si MRD $\geq 1\%$
Martinelli G. Haematologica 2004 ³¹⁵	17	MO et sang	<i>ABL</i>		Pas de rechute si taux de transcrit $\leq 0,12\%$ Rechute si taux de transcrit $\geq 0,25\%$
Boeckx N. Leukemia 2005 ³⁰⁴	10	MO et sang	<i>GUS</i>		Rechute hématologique dans les 2,5-4 mois si augmentation d'1 log dans le sang
Stentoft J. Leuk Res 2005 ³⁰⁰	13	MO et sang	<i>B2 microglobuline et ABL</i>		Augmentation d'1 log tous les 100 jours jusqu'à la rechute
Perea G. Leukemia 2006 ³¹⁰	27	MO	<i>ABL</i>		Seuil de 10 copies de transcrit pronostique sur CIR
Clozel T. Haematologica 2009 ³¹⁵	9	MO	<i>ABL</i>		Délai moyen de 6.4 mois entre rechute moléculaire et rechute hématologique
Corbacioglu A. JCO 2010 ³⁰⁵	53	MO et sang	<i>B2 microglobuline</i>	Oui (RFS selon persistance d'une MRD négative sur MO)	Délai moyen entre rechute moléculaire (seuil 0,001%) et rechute hématologique de 6 mois
Ommen HB. Blood 2010 ³⁰¹	31	MO et sang	<i>B2 microglobuline et ABL</i>		Délai moyen entre rechute moléculaire et rechute hématologique de 8 mois
Guieze R. Leukemia 2010 ³⁰²	59	MO et sang	<i>ABL</i>	Oui (RFS si MRD négative sur sang)	
Yin JA. Blood 2012 ³⁰⁶	115	MO et sang	<i>ABL</i>		Rechute si > seuil de 50 copies dans moelle osseuse ou 10 copies dans le sang avec un délai moyen entre rechute moléculaire et rechute hématologique de 3 mois
Hoyos M. Eur J Hematol 2013 ³¹¹	76	MO	<i>ABL</i>	Oui (CIR et OS)	

c. Maladie résiduelle en RQ-PCR dans les LAM avec t(8;21) :

1) Corrélation des résultats selon le type de prélèvement (moelle osseuse ou sang) :

Dans le cas des LAM *RUNX1-RUNX1T1*, une bonne corrélation entre les résultats obtenus sur moelle osseuse et sur sang a été rapportée par plusieurs auteurs. Tobal K. et al. ont retrouvé une bonne corrélation entre les résultats obtenus sur moelle osseuse et sur sang avec toutefois des valeurs plus importantes dans la moelle osseuse (de l'ordre de 2 log).²⁹⁷ Leroy H. et al. ont également retrouvé sur une cohorte de 21 patients une bonne corrélation entre les 2 types de prélèvements.³¹⁶ D'autres auteurs ont retrouvé des résultats identiques.^{300,301} Yin JA et al rapportaient en 2012 la plus importante série de patients avec t(8;21) avec un total de 394 paires de prélèvements (MO et sang) évalués en RQ-PCR à différents moments du traitement.³⁰⁶ Ils retrouvaient également une bonne corrélation entre les 2 types de prélèvements bien que cette corrélation soit moins bonne pendant le traitement ou immédiatement au décours du fait de nombreux prélèvements avec une MRD positive sur MO et négative sur sang (28% des échantillons après la 3^{ème} cure de consolidation puis 16% au cours du suivi).

2) Valeur pronostique de la MRD en RQ-PCR pendant le traitement :

A l'instar des LAM avec inv(16), l'intérêt de l'évaluation de la MRD en cours de traitement par RQ-PCR a été abordé par plusieurs études dans les LAM avec t(8;21) et souvent dans les mêmes études. Le tableau 12 résume les différents résultats publiés sur la MRD par RQ-PCR pendant le traitement dans ce sous-type de LAM.

On peut observer que le taux de transcrit au diagnostic n'a pas non plus de valeur pronostique dans la majorité des études. On pourra noter que les différents auteurs rapportent une plus grande hétérogénéité dans la valeur du taux de transcrit en cas de LAM avec t(8;21) qu'en cas de LAM avec inv(16). A l'image de ce qui est observée dans l'autre LAM du groupe CBF, le taux de transcrit et la cinétique de réduction du taux de transcrit après chimiothérapie d'induction et encore plus pendant les cures de consolidation ont une valeur pronostique majeure sur le risque de rechute. Une réduction de 3 log avant la 2^{ème} cure de consolidation semble être un facteur de bon pronostic selon les 3 principales études s'étant intéressées à cette situation.^{199,306,317}

Une seule publication à ce jour a été rapportée concernant une stratégie thérapeutique basée sur la MRD en cours de traitement. En effet, Zhu HH et al. ont montré qu'une allogreffe de CSH en 1^{ère} RC pouvait avoir un intérêt en cas de mauvaise réponse moléculaire (absence de diminution du taux de transcrit de 3 log) ou en cas de perte de réponse moléculaire.³¹⁷ Certes, cette étude présente de nombreux biais mais il apparait tout de même un net bénéfice en faveur d'une allogreffe de CSH en 1^{ère} RC dans cette situation.

Tableau 12 : Valeur pronostique de la PCR quantitative (RQ-PCR) dans les LAM t(8;21) pendant le traitement

(MO : moelle osseuse, OS : survie globale, EFS : survie sans événement, RFS : survie sans rechute, CIR : incidence cumulée de rechute)

Référence bibliographique	N patients	Type de prélèvement	Gène rapporteur	Valeur pronostique de la MRD au diagnostic	Valeur pronostique de la MRD après induction	Valeur pronostique de la MRD pendant les cures de consolidation
Marcucci G. Leukemia 1998 ²⁹⁸	6	MO	<i>Bactin, GAPDH</i>		Rechute possible si persistance $\geq 10^2$ copies après induction	
Tobal K. Blood 2000 ²⁹⁷	25	MO et sang	<i>ABL</i>	Non		
Schnittger S. Blood 2003 ³⁰⁸	106	MO	<i>ABL</i>	Oui (OS et EFS)		
Krauter J. JCO 2003 ³⁰⁹	22	MO et sang	<i>GAPDH</i>		Oui (RFS avec seuil de 1% par rapport à la valeur au diagnostic ou si diminution du ratio inférieure à 2 log)	
Yoo SJ. Haematologica 2005 ³¹⁸	21	MO et sang	<i>GAPDH</i>	Oui (EFS)	Oui (EFS si réduction du taux de transcrit de 3 log)	
Leroy H. Leukemia 2005 ³¹⁶	21	MO et sang	<i>ABL</i>	Non	Oui (EFS si réduction de 3 log)	
Stentoft J. Leuk Res 2006 ³⁰⁰	11	MO et sang	<i>B2 microglobuline et ABL</i>		Oui (EFS selon seuil de 1% ou réduction de 2 log)	
Perea G. Leukemia 2006 ³¹⁰	28	MO	<i>ABL</i>		Non	
Weisser M. Leukemia 2007 ³¹⁹	45	MO	<i>ABL</i>	Non	Oui (CIR et OS selon seuil de 0,01% ou réduction de 4 log)	
Yin JA. Blood 2012 ³⁰⁶	163	MO et sang	<i>ABL</i>	Non	Oui (CIR selon réduction de 3 log du taux de transcrit dans la MO, seuil de 100 copies (0,1%) dans MO ou seuil de 1000 copies (1%) sur sang)	Après 2 ^{ème} consolidation : oui (CIR si réduction de 4 log du taux de transcrit dans la MO ou seuil de 500 copies (0,5%) dans MO)
Zhu HH. Blood 2013 ³¹⁷	116	MO	<i>ABL</i>	Non		Oui avant 2 ^{ème} cure de consolidation (CIR selon le seuil de 0,4% soit une réduction de 3 log)
Jourdan E. Blood 2013 ¹⁹⁹	96	MO et sang	<i>ABL</i>	Non	Réduction du taux de transcrit dépend du type d'induction mais pas de valeur pronostique	Oui (RFS avant la 2 ^{ème} cure de consolidation si réduction de 3 log du taux de transcrit ou selon le seuil de 0,1%)
Hoyos M. Eur J Hematol 2013 ²²¹	74	MO	<i>ABL</i>	Oui (CIR) avec seuil de 31018 copies	Oui (CIR et OS avec seuil de 183 copies)	

3) Valeur pronostique de la MRD en RQ-PCR après traitement :

De la même manière qu'au cours des LAM *CBFβ-MYH11*, l'obtention d'une négativation de la MRD par RQ-PCR en fin de traitement et au cours du suivi semble être un facteur de bon pronostic concernant le risque de rechute mais également sur la survie globale en cas de LAM *RUNX1-RUNX1T1*. Toutefois, les différentes études réalisées ont retrouvées des seuils de MRD positifs compatibles avec une RC persistante mais pas de seuil pronostique reconnue par tous.

A l'inverse des LAM avec inv(16), il semble clair que certains patients peuvent présenter une MRD positive par RQ-PCR alors même qu'ils sont en RC hématologique depuis de nombreuses années.^{296,301,309} Yin JA et al ont ainsi rapporté 11 cas de patients (sur 163 patients) avec MRD positive en RC après un suivi médian de 4.5 ans.³⁰⁶

Parmi les patients obtenant une MRD négative, certains vont présenter une rechute moléculaire qui précède la rechute hématologique dans un délai de 1 à 6 mois selon les études. La majorité des auteurs s'accorde pour qu'un suivi de la MRD en RQ-PCR soit réalisée sur moelle ou sur sang tous les 3 mois sans que cela ait été jusqu'à présent évalué dans une étude prospective.

Le tableau 13 résume les différents résultats d'étude du suivi de la MRD en RQ-PCR au cours des LAM avec t(8;21) après traitement.

Concernant les résultats obtenus sur une stratégie thérapeutique basée sur MRD au cours du suivi des LAM avec t(8;21), seule l'étude rapportée par Tobal K. et al. montrait qu'un patient allogreffé de CSH qui présentait une ascension du taux de transcrite *RUNX1-RUNX1T1* au cours du suivi négativait sa MRD après arrêt du traitement immunosuppresseur.²⁹⁷

Tableau 13 : Valeur pronostique de la PCR quantitative (RQ-PCR) dans les LAM avec t(8;21) après traitement

(MO : moelle osseuse, OS : survie globale, EFS : survie sans événement, RFS : survie sans rechute, CIR : incidence cumulée de rechute)

Référence bibliographique	N patients	Type de prélèvement	Gène rapporteur	Valeur pronostique de la MRD après consolidation	Intérêt du suivi de la MRD après traitement
Tobal K. Blood 1996 ²⁹⁶	13	MO	<i>ABL</i>		Précède la rechute hématologique chez 2 patients dans un délai de 6 mois
Krauter J. BJH 1999 ³²⁰	22	MO	<i>GAPDH</i>		Délai entre rechute moléculaire et hématologique de 10 semaines
Tobal K. Blood 2000 ²⁹⁷	25	MO et sang	<i>ABL</i>		Seuil de taux de transcrite $>0,71.10^5$ dans MO et $>2,23.10^3$ dans le sang prédictif d'une rechute hématologique dans un délai de 3-6 mois
Schnittger S. Blood 2003 ³⁰⁸	106	MO	<i>ABL</i>	Oui (OS et EFS) avec seuil $<0,003\%$	Délai entre rechute moléculaire et hématologique de 1-5 mois si repositivité de la MRD
Krauter J. JCO 2003 ³⁰⁹	22	MO et sang	<i>GAPDH</i>		Délai entre rechute moléculaire et hématologique de 99 jours si $MRD \geq 1\%$
Leroy H. Leukemia 2005 ³¹⁶	21	MO et sang	<i>ABL</i>	Oui (EFS avec seuil $>0,001\%$)	
Perea G. Leukemia 2006 ³¹⁰	28	MO	<i>ABL</i>	Oui (CIR avec seuil de 10 copies en fin de traitement)	
Weisser M. Leukemia 2007 ³¹⁹	45	MO et sang	<i>ABL</i>	Oui (CIR et OS selon seuil de 0,01% ou réduction de 4 log)	
Ommen HB. Blood 2010 ³⁰¹	42	MO et sang	<i>B2 microglobuline et ABL</i>	Oui (Seuil 0,01%)	Seuil 0,01% pronostique avec rechute dans les 3 mois
Yin JA. Blood 2012 ³⁰⁶	163	MO et sang	<i>ABL</i>	Seuil de 500 copies (0,5%) sur MO et 100 copies (0,1%) sur sang prédictif d'une rechute hématologique dans un délai de 4-5 mois avec incidence sur OS	
Hoyos M. Eur J Hematol 2013 ²²¹	74	MO	<i>ABL</i>	Oui (CIR et OS avec seuil de 33 copies)	

OBJECTIFS DE L'ETUDE

Près d'un tiers des patients présentant une leucémie aigue myéloïde (LAM) avec t(8;21)(q22;q22) vont présenter une rechute hématologique au cours du suivi malgré le pronostic favorable attribué à ce sous-type de LAM. Les LAM avec t(8;21)(q22;q22) sont caractérisées par la fusion des gènes *RUNX1* et *RUNX1T1* (issue de la translocation chromosomique) dont le transcrit peut être détecté en RQ-PCR, permettant d'évaluer la maladie résiduelle alors même que les patients sont toujours considérés en RC hématologique. Plusieurs études se sont intéressées à l'évaluation de la MRD après traitement et au cours du suivi permettant d'établir un délai de 1 à 6 mois entre la rechute moléculaire et la rechute hématologique. Basé sur ces études non prospectives, un suivi de la MRD est recommandé tous les 3 mois pour prédire les rechutes hématologiques sans que cette stratégie n'ait été validée sur une cohorte prospective de patients.

Les objectifs de ce travail sont multiples :

- Confirmer la corrélation entre les résultats obtenus par RQ-PCR sur moelle osseuse et sur sang sur une cohorte prospective de patients LAM avec t(8;21)(q22;q22) en 1^{ère} RC.

- Déterminer l'impact pronostique de la MRD sur moelle et sur sang à la fin du traitement par chimiothérapie sur le risque de rechute et la survie globale et définir un seuil pronostique de la rechute hématologique.

- Déterminer l'évolution de la MRD au cours du suivi après traitement sur prélèvements sanguins réalisés de manière prospective tous les 3 mois afin d'établir le délai de négativation de la MRD, le délai entre rechute moléculaire et rechute hématologique, la valeur pronostique sur la rechute et la survie globale de la MRD

pendant le suivi pour déterminer la meilleure stratégie de suivi de la MRD en RQ-PCR dans les LAM avec t(8;21).

PATIENTS, MATERIEL ET METHODES

I. Patients :

Entre juillet 2007 et novembre 2010, 97 patients âgés de 18 à 60 ans, pris en charge dans 35 centres français différents pour une LAM avec t(8;21)(q22;q22) ont été traités au sein du protocole CBF-2006 (EudraCT #2006-005163-26 ; ClinicalTrials.gov ID #NCT00428558). Cette étude, approuvée par le comité d'éthique du CHU de Nîmes et par l'agence nationale de santé, a été conduite en accord avec la déclaration d'Helsinki. Le diagnostic de LAM avec t(8;21)(q22;q22) était défini par la présence de la translocation t(8;21)(q22;q22) par cytogénétique conventionnelle et/ou analyse FISH (Hybridation In Situ avec sondes Fluorescentes) et/ou par la mise en évidence du transcrit de fusion *RUNX1-RUNX1T1* en biologie moléculaire. Les critères d'éligibilité pour être inclus dans l'étude comportaient un consentement éclairé signé, un état général correct évalué selon l'ECOG (ECOG \leq 2), l'absence d'infection ou d'autre tumeur non contrôlées, un bilan hépatique normal (ASAT et ALAT \leq 1.5N) et une créatinine plasmatique \leq 1.5N. Les patients présentant une LAM t(8;21)(q22;q22) secondaire à une chimiothérapie ou une radiothérapie antérieures étaient éligibles comme ceux présentant un envahissement neuro-méningée de la LAM.

II. Mutations géniques :

Une recherche systématique des mutations de *KIT* (exons 8 et 17), de *FLT3* (*FLT3-ITD* et *FLT3-TKD*), de *N-RAS* et *K-RAS* (exons 2 et 3) a été réalisée sur moelle osseuse ou sur sang chez 93 patients dans 2 laboratoires français (Lille, Reims).

III. Traitements :

Chaque patient inclus dans l'étude était traité, après randomisation, dans un des 2 bras de traitement d'induction. Le bras A, qui a concerné 48 patients, comprenait une chimiothérapie d'induction séquentielle associant la daunorubicine à 60mg/m²/j en 1 injection intraveineuse de 30 minutes de J1 à J3 à la cytarabine 500mg/m²/j en injection continue intraveineuse de J1 à J3 systématiquement suivie d'une 2^{ème} séquence de chimiothérapie par daunorubicine 35mg/m²/j en 1 injection intraveineuse de 30 minutes de J8 à J9 et cytarabine 1g/m²/12h en injection intraveineuse de 2 heures de J8 à J10. Le bras B, qui a concerné 49 patients, comprenait une chimiothérapie d'induction associant la daunorubicine à 60mg/m²/j en 1 injection intraveineuse de 30 minutes de J1 à J3 à la cytarabine 200mg/m²/j en injection continue intraveineuse de J1 à J7. Une évaluation de numération formule sanguine et de la moelle osseuse était ensuite systématiquement réalisée à J15 dans ce bras B. En présence d'un taux de blaste ≥5% dans la moelle osseuse et/ou de corps d'Auer à J15, une 2^{ème} séquence de chimiothérapie était réalisée par daunorubicine 35mg/m²/j en 1 injection intraveineuse de 30 minutes de J16 à J17 et cytarabine 1g/m²/12h en injection intraveineuse de 2 heures de J16 à J18. Cette dernière séquence de chimiothérapie a été réalisée chez 15 des 49 patients inclus dans le bras B. L'ensemble de la cohorte de patients a obtenu une rémission complète, hormis un patient du bras A qui est décédé au cours de la chimiothérapie d'induction. En cas de rémission complète hématologique, l'ensemble des patients recevaient 3 cures de consolidation mensuelle par cytarabine hautes doses à 3g/m²/12h en 1 injection intraveineuse de 2h à J1, J3 et J5 suivie d'un support par facteur de croissance granulocytaire de type lenograstim à partir de J8 jusqu'à récupération d'un taux de polynucléaires neutrophiles suffisants. Parmi les patients

du bras A, 1 patient est décédé en cours de traitement de consolidation et 5 n'ont pas reçu l'ensemble des 3 consolidations protocolaires. Parmi les patients du bras B, 2 patients sont décédés en cours de traitement de consolidation et 4 n'ont pas reçu l'ensemble des 3 consolidations protocolaires.

Le traitement était ensuite poursuivi en fonction de l'analyse de la MRD avant la 2^{ème} cure de consolidation. En cas de réduction <3 log, les patients devaient bénéficier de la réalisation d'une allogreffe de CSH en 1^{ère} RC avec un donneur géno-identique ou phéno-identique HLA compatible (10/10) en cas de donneur compatible. Cette allogreffe de CSH en RC1 a été réalisée chez 2 patients du bras A de traitement et chez 3 patients du bras B. En l'absence de donneur HLA compatible, les patients avec réduction <3 log de la MRD avant 2^{ème} consolidation pouvaient être inclus dans une étude de phase 2 utilisant le dasatinib en monothérapie à l'issue du traitement de consolidation. Cette étude a concerné 5 patients du bras A et 8 patients du bras B.

IV. Evaluation de la maladie résiduelle :

La maladie résiduelle était évaluée par la recherche du transcrit *RUNX1-RUNX1T1* par RQ-PCR selon la méthode standardisée préconisée par Gabert J. et al.²⁵³ Cette recherche a été réalisée dans 2 centres français (Lille et Angers). Les courbes de calibration ont été réalisées à l'aide de plasmides Ipsogen (Ipsogen SA, Marseille). Les résultats ont été normalisés à l'aide du gène de référence *ABL1* et la MRD est exprimée par le ratio du nombre de copies *RUNX1-RUNX1T1/ABL1* x 100 (%). L'évaluation de la maladie résiduelle a été réalisée sur sang et moelle osseuse au diagnostic et pendant le traitement, résultats qui ont fait l'objet d'une publication récente.¹⁹⁹ Une évaluation de la maladie résiduelle sur moelle osseuse était ensuite réalisée à la fin du traitement puis à 1 et 2 ans de la fin du traitement. Une évaluation

de la maladie résiduelle sur sang était réalisée à la fin du traitement puis tous les 3 mois pendant 2 ans. Une MRD en RQ-PCR a été considérée comme négative en cas de non détection du transcrit *RUNX1-RUNX1T1* (seuil $\leq 0.001\%$). Les prélèvements pour lesquels la qualité de l'ARN ne permettait pas une évaluation de la MRD ont été exclus de l'étude. Dans les cas de prélèvements avec une qualité médiocre d'ARN permettant tout de même une évaluation en RQ-PCR (seuil 0,01%), les résultats ont été inclus dans l'étude et considérés comme négatifs si $< 0,01\%$.

V. Analyse statistique :

Les données de suivi clinique des patients ont été mises à jour à la date du 1/8/13, avec une médiane de suivi de 3,73 années (Interquartiles : 3,02 – 4,41 années). L'analyse statistique n'a pris en compte que les 96 patients ayant obtenu une RC en excluant le patient décédé en cours d'induction. A l'inverse, les 10 patients (dont les 3 patients en 1^{ère} RC décédés en cours de traitement de consolidation) n'ayant pas de suivi en MRD à la fin du traitement ont été inclus dans l'analyse statistique.

Les corrélations des données de MRD obtenues sur moelle osseuse et sur sang ont été évaluées en calculant le coefficient de corrélation de Pearson et par le test de Spearman.

La survie globale (OS) a été calculée de la date du diagnostic jusqu'à la date de dernière nouvelle en censurant les patients en vie à cette date. L'incidence cumulée de rechute (CIR) a été calculée à partir de la date de RC jusqu'à la date de rechute en censurant les patients en vie sans rechute à la date des dernières nouvelles. La rechute et le décès en RC sont considérés comme des événements compétitifs.

Pour évaluer l'impact des MRD post-consolidation sur le devenir du patient (OS et CIR), nous avons tout d'abord évalué la MRD réalisée en fin de traitement sur le sang ou la moelle en tant que variable continue (log de la MRD de fin de traitement) ou binaire (détectable ou indétectable) dans un modèle de Cox.

Pour évaluer l'impact d'une négativation ou d'une repositivation de la MRD sur sang au cours du suivi après traitement, une analyse temps-dépendant de type Mantel-Byar a été réalisée. Au cours de cette analyse, l'attribution des patients à un groupe (MRD détectable, MRD indétectable, MRD à nouveau détectable) évolue au fur et à mesure de la survenue des mesures de MRD. A noter que 3 patients ont une MRD indétectable avant la 1^{ère} cure de consolidation. Tous les autres patients sont initialement dans le groupe de MRD détectable, puis, quittent ce groupe à la date d'une éventuelle négativation de la MRD pour intégrer le groupe de MRD indétectable. De la même façon, si la MRD devient détectable à nouveau, les patients peuvent quitter le groupe de MRD indétectable pour intégrer le groupe de repositivation de la MRD. Un $p \leq 0,05$ a été considéré comme significatif.

Toutes les estimations des données de survie et de rechute sont données à 4 ans. L'ensemble des analyses statistiques a été réalisé à l'aide du logiciel Stata/IC 12.1 (StataCorp, College Station, TX).

RESULTATS

I. DESCRIPTION DES PATIENTS ET DES PRELEVEMENTS :

1. CARACTERISTIQUES INITIALES DES PATIENTS :

L'ensemble des caractéristiques des patients au diagnostic est résumé dans le Tableau 14. La médiane d'âge des 96 patients est de 41,4 ans avec une légère prédominance masculine. La leucocytose sanguine et la blastose médullaire au diagnostic étaient de 11,3 G/L et 53% en médiane respectivement. Concernant les anomalies cytogénétiques additionnelles, la perte du chromosome sexuel Y était la plus fréquemment retrouvée (33 patients soit 61% des hommes) suivi de la délétion du bras long du chromosome 9 (14 patients). L'analyse des mutations géniques réalisée chez 93 patients retrouvait, par ordre décroissant de fréquence, une mutation de *KIT* chez 21 patients, une mutation de *RAS* chez 14 patients et une mutation de *FLT3* chez 10 patients (dont 2 patients avec mutation de *KIT* associée).

Tableau 14 : Caractéristiques des patients et de la LAM au diagnostic

Patients, N	96
Age médian (valeurs extrêmes)	41,4 ans (18 – 60)
Sexe (masculin/féminin)	54/42
Leucocytose médiane, 10 ⁹ /L (valeurs extrêmes)	11,3 (0,72 – 94,5)
Blastose médullaire médiane, % (valeurs extrêmes)	53 (17 – 98)
LAM secondaire	10/96

Anomalies cytogénétiques additionnelles	
Perte du chromosome Y	33/54
Trisomie 8	2/94
Del (9q)	14/94
Del (7q) / monosomie 7	4/94

Mutations de gènes associées	
Mutation de <i>KIT</i>	21/93
Mutation dans l'exon 8	5/93
Mutation dans l'exon 17	16/93
Mutation de <i>RAS</i>	14/93
Mutation dans l'exon 1 ou 2 de <i>N-RAS</i>	12/93
Mutation dans l'exon 1 ou 2 de <i>K-RAS</i>	2/93
Mutation de <i>FLT3</i>	10/93
Mutation <i>FLT3-ITD</i>	6/93
Mutation <i>FLT3-TKD</i>	4/93

2. EVOLUTION DES PATIENTS PENDANT LE TRAITEMENT ET COURS DU SUIVI :

Après obtention de la RC, 12 patients n'ont pas reçu l'ensemble des 3 cures de consolidations par aracytine hautes doses (1 patient du bras B n'a reçu aucune cure de consolidation protocolaire, 3 patients en ont reçu 1, 8 patients en ont reçu 2).

En fonction de la réduction de la maladie résiduelle en RQ-PCR avant réalisation de la 2^{ème} cure de consolidation, les patients devaient bénéficier d'une allogreffe de CSH en 1^{ère} RC en cas de donneur compatible ou pouvaient être inclus dans un essai de phase II testant le dasatinib. Ainsi, 4 patients ont bénéficié d'une allogreffe de CSH en 1^{ère} RC et 7 patients recevaient le dasatinib.

Toutefois, en cas de rechute moléculaire sans rechute hématologique définie par une augmentation du taux de transcrit *RUNX1-RUNX1T1* de plus d'1 log sur

moelle osseuse, les patients pouvaient également être inclus dans l'essai de phase II testant l'intérêt du dasatinib dans ces situations (6 patients).

Enfin, 3 patients ont reçu une chimiothérapie de rattrapage hors protocole pour une rechute moléculaire sans rechute hématologique identifiée (aracytine sous-cutanée, aracytine-novantrone et aracytine-mitoxantrone-gemtuzumab ozogamycin) dont 2 ont ensuite bénéficié d'une allogreffe de CSH en 1^{ère} RC hématologique persistante. Les 76 patients restants en RC n'ont reçu aucun traitement supplémentaire à l'issue des 3 cures de consolidation. Le Tableau 15 résume les caractéristiques des traitements reçus.

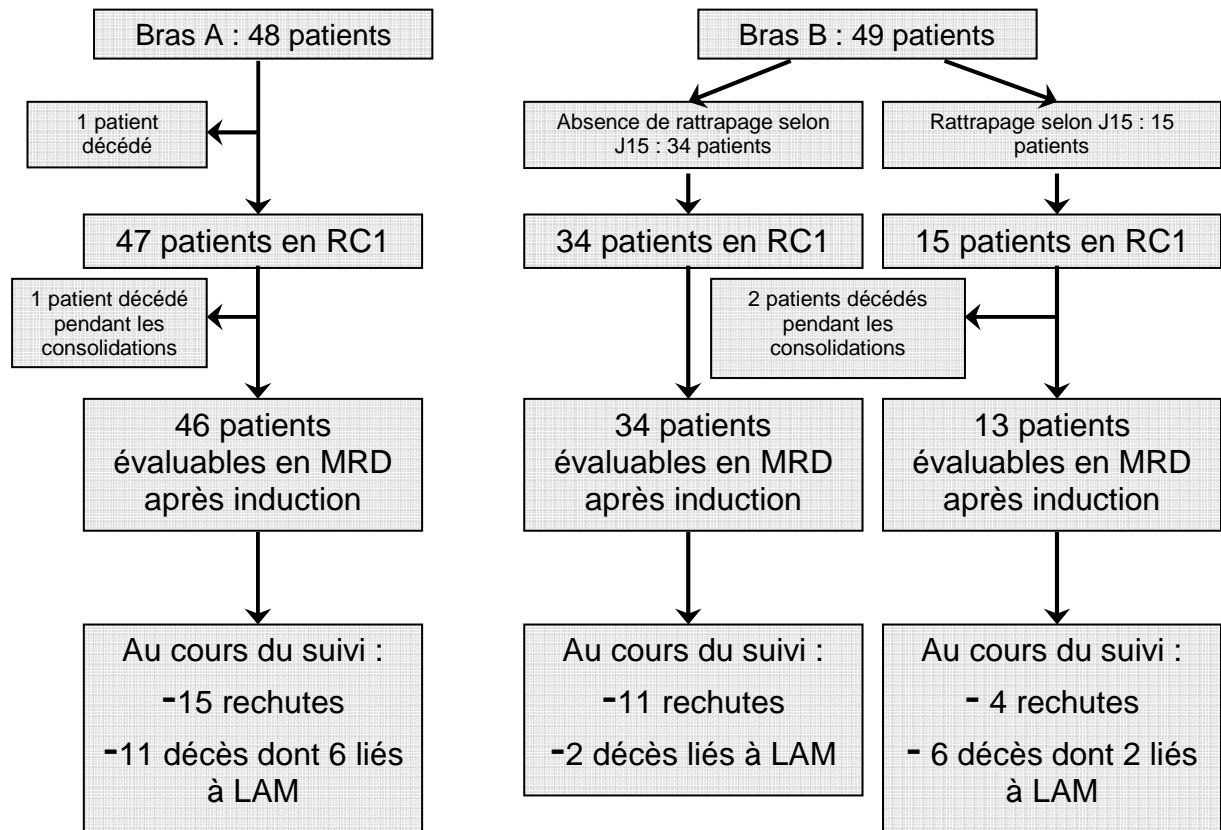
Tableau 15 : Caractéristiques des traitements reçus

Schéma d'induction bras A/B, N	47/49
Rattrapage J16 du bras B, N	15/49
Réponse complète, N/total	96/96
Patients décédés pendant les cures de consolidation, N/total	3/96
Allogreffe de CSH en RC1 hématologique	7/96
- Réduction de MRD avant 2 ^{ème} conso <3 log, N	4
- Allogreffe de CSH en RC1 non protocolaire, N	3
Protocole Dasatinib en RC1	13/96
- Réduction de MRD avant 2 ^{ème} conso <3 log, N	7
- Rechute moléculaire, N	6

Au terme du suivi, l'évolution a été marquée par l'apparition d'une rechute hématologique chez 30 patients avec une incidence cumulée de rechute à 4 ans de 32,3% (intervalle de confiance à 95% (IC 95%) : 23,8 – 43). A noter également que 4 de ces rechutes hématologiques sont survenues après les 2 ans de suivi protocolaire de la MRD (dernière rechute survenant à 3,3 ans de la RC). Dix neuf patients sont décédés pendant le suivi (dont dix décès en lien avec une LAM évolutive) avec une survie globale de 80,8% à 4 ans (IC 95% : 71,3 – 87,5).

La Figure 4 résume l'évolution des patients selon le bras de traitement d'induction.

Figure 4 : Evolution des patients selon le bras de traitement



3. DESCRIPTION DES PRELEVEMENTS DISPONIBLES POUR L'ÉVALUATION DE LA MRD ET RESULTATS DESCRIPTIFS :

Un total de 479 prélèvements médullaires (sur les 672 prévus par le protocole : 71,3%) et 800 prélèvements sanguins (sur les 1200 prévus par le protocole : 64,1%) étaient interprétables après RQ-PCR.

Au diagnostic et pendant le traitement, 327 prélèvements médullaires (sur les 384 prévus : 85,2%) et 327 prélèvements sanguins (sur les 384 prévus : 85,2%) ont

pu être interprétés. Le Tableau 16 rapporte les données concernant le nombre de prélèvements interprétables, les valeurs médianes de MRD et le nombre de prélèvements avec une MRD détectable sur moelle osseuse et sur sang au diagnostic et pendant le traitement.

Tableau 16 : Nombre de prélèvements interprétables, valeur médiane de la MRD et nombre d'échantillon avec une MRD détectable à chaque étape du traitement et selon le type de prélèvements (MO : moelle osseuse)

	MRD au diagnostic	MRD après induction	MRD avant 2 ^{ème} consolidation	MRD avant 3 ^{ème} consolidation
Nombre d'échantillons disponible MO/sang	79/82	91/87	85/82	72/76
Valeur médiane de MRD sur moelle osseuse (valeurs extrêmes)	304% (34 – 1433)	0,2% (0,001 – 75)	0,05% (0,001 – 3)	0,028% (0,001 – 4)
Nombre d'échantillon avec MRD positive (>0,001%) sur MO (%)	79/79 (100%)	85/91 (93,4%)	71/85 (83,5%)	55/72 (76,3%)
Valeur médiane de MRD sur sang (valeurs extrêmes)	301,5% (72,7 – 1305)	0,05% (0,001 – 27)	0,006% (0,001 – 0,7)	0,001% (0,001 – 2)
Nombre d'échantillon avec MRD positive (>0,001%) sur sang (%)	82/82 (100%)	73/87 (83,9%)	47/82 (57,3%)	36/76 (47,4%)

Concernant les résultats obtenus au diagnostic, on observe que 100% des patients ont une MRD détectable sur sang et sur moelle osseuse avec des valeurs de MRD similaires entre le sang et la moelle osseuse. Concernant les prélèvements sanguins et médullaires pendant le traitement, une nette décroissance du taux de transcrit *RUNX1-RUNX1T1* est observée dès la fin de l'induction faisant état de l'obtention de la RC hématologique chez l'ensemble des patients. Une différence entre les 2 types de prélèvements est déjà notable puisque la valeur médiane de la MRD sur moelle osseuse est plus élevée que celle observée sur sang et qu'un plus grand nombre de patients gardent une MRD détectable sur moelle osseuse et non sur sang (76,3%

des patients sur moelle osseuse avant la 3^{ème} cure de consolidation contre 47,4% des patients sur sang).

Au cours du suivi après traitement, 152 prélèvements médullaires étaient interprétables sur les 288 prévus par le protocole (52,8%) avec une médiane de 2 prélèvements par patient (sur les 3 prévus par patient selon le protocole). Concernant les prélèvements sanguins, 473 prélèvements ont été étudiés sur les 864 prévus par le protocole (54,7%) avec une médiane de 5 prélèvements sanguins interprétables par patient sur les 9 prévus par le protocole.

Dix patients sur les 96 (10,4%) n'ont bénéficié d'aucun suivi protocolaire de la MRD après traitement. Parmi eux, 3 patients sont décédés pendant les cures de consolidation, 1 patient est décédé après allogreffe de CSH en RC1 et 1 patient a présenté une rechute hématologique avant l'évaluation de fin de traitement.

Le Tableau 17 rapporte les données concernant le nombre de prélèvements interprétables, les valeurs médianes de MRD et le nombre de prélèvements avec une MRD détectable sur sang et sur moelle osseuse à la fin du traitement et au cours du suivi sur 2 ans. Le délai médian entre la 3^{ème} cure de consolidation et l'évaluation de la MRD en fin de traitement est de 39 jours (valeurs extrêmes : 15 – 100 jours).

RESULTATS

Tableau 17 : Nombre de prélèvements interprétables, valeur médiane de la MRD et nombre d'échantillon avec une MRD détectable à chaque étape du suivi après traitement et selon le type de prélèvement (MO : moelle osseuse).

	MRD après 3 ^{ème} consolidation (fin de traitement)	MRD à 3 mois de la fin du traitement	MRD à 6 mois de la fin du traitement	MRD à 9 mois de la fin du traitement	MRD à 1 an de la fin du traitement	MRD à 15 mois de la fin du traitement	MRD à 18 mois de la fin du traitement	MRD à 21 mois de la fin du traitement	MRD à 2 ans de la fin du traitement
Nombre d'échantillons disponible MO/sang	74 / 74	- / 70	- / 64	- / 56	48 / 56	- / 44	- / 40	- / 31	30 / 38
Valeur médiane de la MRD sur moelle osseuse (valeurs extrêmes)	0,011% (0,001 – 13,6)	-	-	-	0,001% (0,001 – 125)	-	-	-	0,001% (0,001 – 46)
Nombre d'échantillon avec MRD positive (>0,001%) sur MO (%)	52/74 (70,2%)	-	-	-	19/48 (39,6%)	-	-	-	13/30 (43%)
Valeur médiane de la MRD sur sang (valeurs extrêmes)	0,001% (0,001 – 2)	0,001% (0,001 – 162)	0,001% (0,001 – 460)	0,001% (0,001 – 0,088)	0,001% (0,001 – 6)	0,001% (0,001 – 65)	0,001% (0,001 – 0,06)	0,001% (0,001 – 24)	0,001% (0,001 – 18,4)
Nombre d'échantillon avec MRD positive (>0,001%) sur sang (%)	22/74 (29,7%)	21/70 (30%)	16/64 (25%)	6/56 (10,7%)	6/56 (10,7%)	4/44 (9%)	2/40 (5%)	2/31 (6,4%)	3/38 (7,9%)

Ce tableau montre tout d'abord que le nombre de prélèvements disponibles est de moins en moins important au cours du suivi (74 prélèvements médullaires à la fin du traitement contre 30 à 2 ans de la fin du traitement). Ces résultats sont à mettre en lien avec les rechutes survenues pendant ce délai, la réalisation d'allogreffe et la probable démobilisation des cliniciens concernant la réalisation d'un myélogramme à 2 ans de la fin du traitement chez un patient en RC.

On constate également qu'un nombre important de patients présentent une MRD détectable en fin de traitement alors même qu'ils sont en rémission complète hématologique et qu'ils ne recevront pour la grande majorité aucun traitement ultérieur. De plus, il existe une discordance entre les résultats obtenus selon le type de prélèvements. En effet, alors que 70% des patients gardent une MRD détectable sur moelle osseuse en fin de traitement avec une valeur médiane du taux de transcrite *RUNX1-RUNX1T1* de 0,011%, seulement 29,7% des patients ont une MRD détectable sur sang avec une valeur médiane du taux de transcrite de 0,001% (soit une MRD indétectable). Il semble également que cette différence perdure dans le temps puisque 43% des prélèvements médullaires réalisés à 2 ans de la fin du traitement présentent une MRD détectable pour seulement 7,9% des prélèvements sanguins.

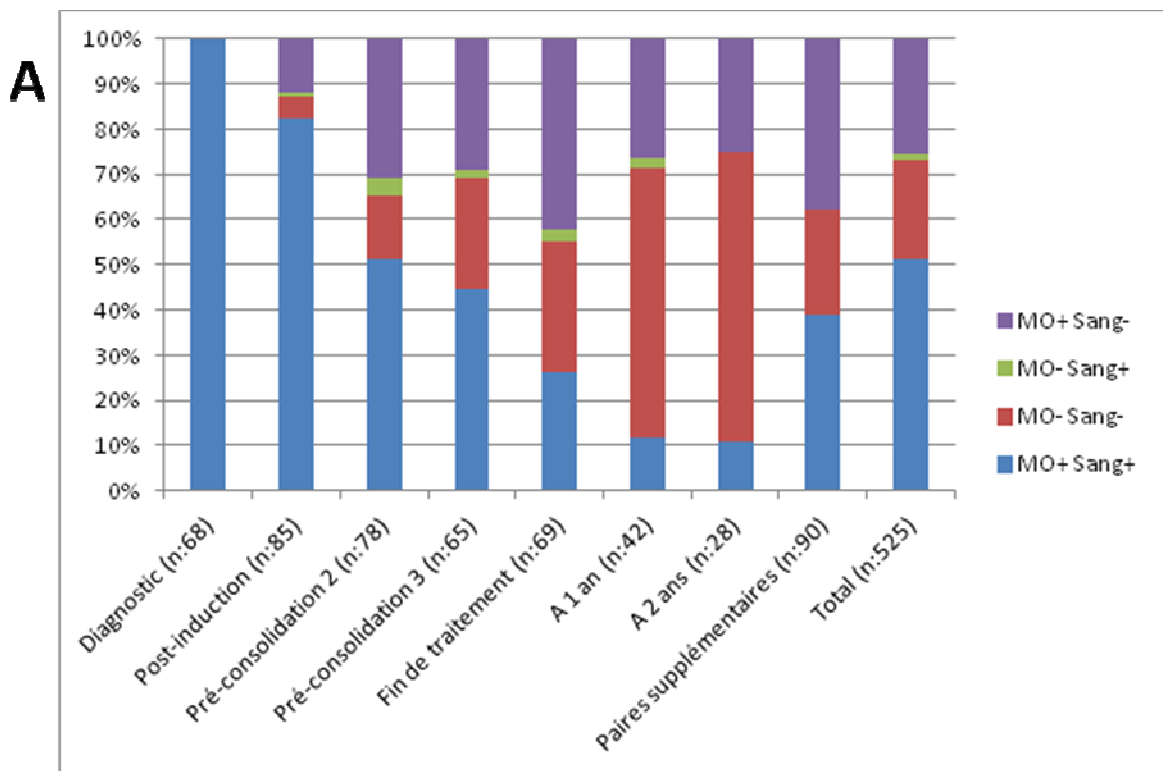
II. CORRELATIONS DES RESULTATS DE MRD ENTRE LES PRELEVEMENTS SANGUINS ET MEDULLAIRES :

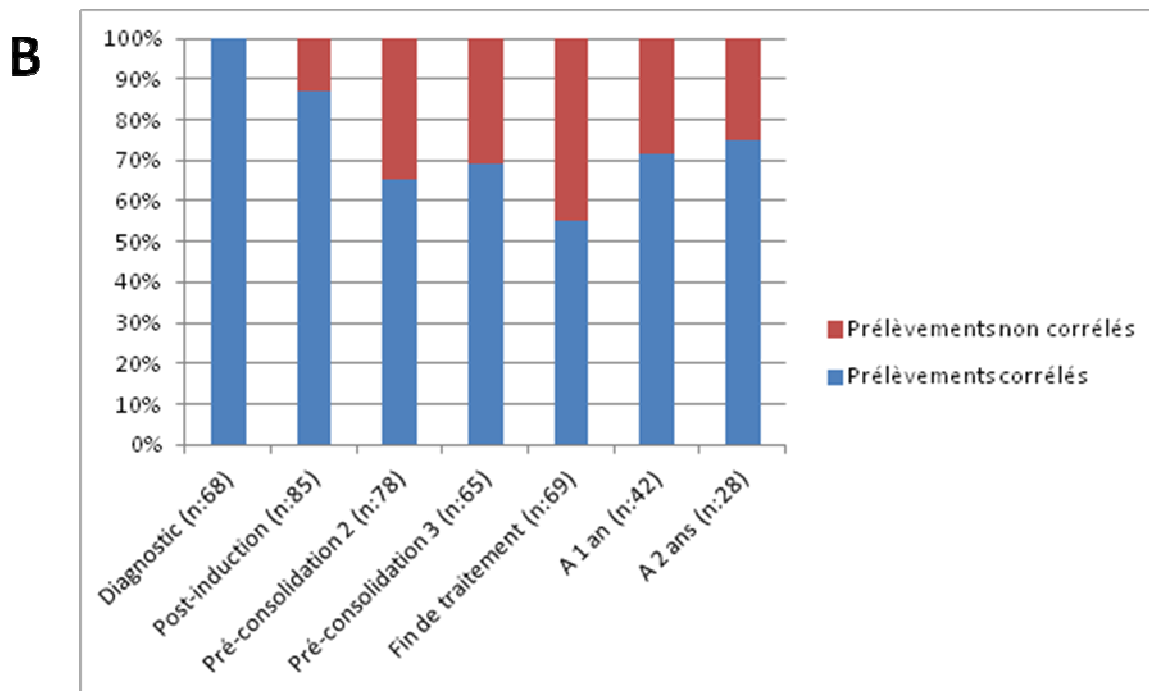
Afin d'établir une corrélation entre les résultats de MRD obtenus sur sang et sur moelle osseuse, un total de 525 paires de prélèvements (échantillons médullaire et sanguin prélevés le même jour) était disponible pour l'analyse (dont 446 paires protocolaires sur les 672 prévus ; 66,4%). Ces paires étaient réparties aux différents

moments du traitement et du suivi (68 paires interprétables au diagnostic, 85 après induction, 78 avant la 2^{ème} cure de consolidation, 65 avant la 3^{ème} cure de consolidation, 69 à la fin du traitement, 42 à 1 an de la fin du traitement et 28 à 2 ans de la fin du traitement).

La figure 5 montre l'évolution au cours du traitement et du suivi de la corrélation entre la valeur de MRD étudiée de manière qualitative (MRD positive si >0,001%, négative si ≤0,001%) sur moelle osseuse et celle obtenue sur sang.

Figure 5 : Evolution de la corrélation entre les valeurs de MRD sur moelle osseuse et sur sang (MRD positive si >0,001%, négative si ≤0,001%).





On peut observer que l'ensemble des paires prélevées au diagnostic semblent corrélées puisque toutes valeurs de MRD sont $>0,001\%$ sur moelle osseuse et sur sang. A l'inverse, après traitement, il semble exister une moins bonne corrélation entre la MRD obtenue sur moelle osseuse et celle obtenue sur sang puisqu'en fin de traitement, plus de 40% des patients présentent une MRD indétectable sur sang alors que celle-ci reste $>0,001\%$ sur moelle osseuse. A 1 et 2 ans de suivi, la corrélation s'améliore au profit d'une MRD indétectable sur sang et sur moelle osseuse. Au total, 25,5% de l'ensemble des paires de prélèvement présentent une MRD détectable sur moelle osseuse ($>0,001\%$) alors qu'elle est indétectable sur sang ($\leq 0,001\%$).

Si l'on s'intéresse à ces prélèvements discordants, plus de la moitié des patients (55 patients soit 57,3% de la cohorte) présentent au moins une fois une MRD sur sang indétectable alors qu'elle reste détectable sur moelle osseuse. Vingt-cinq patients (26%) ont au moins 2 prélèvements discordants (MRD détectable sur moelle

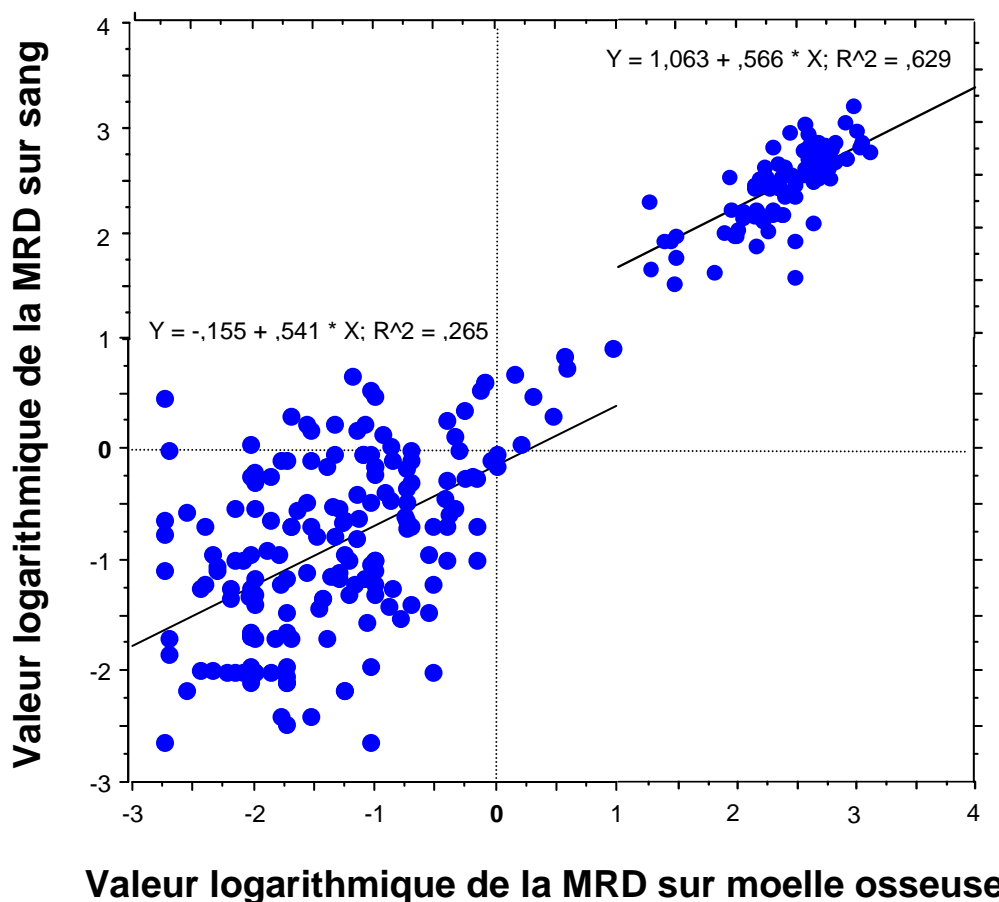
osseuse et pas sur sang ; valeurs extrêmes : 2 – 6 prélèvements discordants par patient)

Enfin, les prélèvements retrouvant une MRD indétectable sur moelle osseuse et $>0,001\%$ sur sang existent mais sont largement anecdotiques, ne représentant que 1,5% de l'ensemble des paires disponibles. A noter toutefois, l'un des rares patients ayant présenté ce type de discordance entre les résultats obtenus sur sang et sur moelle osseuse a présenté un sarcome granulocyttaire au cours du suivi.

Les niveaux de transcrit des prélèvements médullaires et sanguins ont ensuite été comparés de manière quantitative afin d'établir une corrélation globale et à chaque point de suivi disponible.

La Figure 6 correspond aux courbes de régression obtenues en séparant les prélèvements avec une valeur de MRD exprimée en logarithme fortement positive ($>1\%$, correspondant aux prélèvements obtenus au diagnostic ou à la rechute hématologique) et les autres ($<1\%$). De manière à établir une corrélation rigoureuse et étant donné la présence de prélèvements avec une MRD détectable sur moelle osseuse et non sur sang, seuls les prélèvements avec une MRD détectable ont été inclus dans l'analyse.

Figure 6 : Courbe de régression entre les valeurs logarithmiques de la MRD sur sang et sur moelle osseuse.



Au vu de ce graphique, il semble clairement exister 2 groupes de paires de prélèvement : l'un pour lesquels les valeurs logarithmiques de la MRD sont >1 log et semblent extrêmement bien corrélées (correspondant aux MRD réalisées au diagnostic et lors des rechutes) et l'autre pour lesquels les valeurs de MRD sont <1 log et semblent moins bien corrélées. On peut ainsi observer que pour des valeurs logarithmiques négatives, la MRD sur sang est inférieure d'environ $\frac{1}{2}$ à 1 log par rapport à la valeur de MRD sur moelle osseuse.

Les tests de corrélation ont été réalisés sur l'ensemble des paires de prélèvements avec une MRD détectable et sont résumés dans le Tableau 18. Etant

donné le faible nombre de paire de prélèvement avec une MRD détectable à 1 an et 2 ans de la fin du traitement, ceux-ci n'ont pas été inclus dans l'analyse.

Tableau 18: Coefficients de corrélation entre le taux de transcrit détectable sur moelle osseuse et sur sang aux différents moments du traitement et selon la valeur du taux de transcrit.

	Coefficients de corrélation de Pearson (r)	Test de Spearman	
		ρ	P
Au diagnostic (N = 68)	0,65	0,68	<0,0001
Après induction (N = 70)	0,62	0,55	<0,0001
Avant la 2 ^{ème} consolidation (N = 40)	0,32	0,3	<0,056
Avant la 3 ^{ème} consolidation (N = 29)	0,30	0,36	<0,052
A la fin de traitement (N = 18)	0,41	0,27	<0,273
Total (N = 268)	0,93	0,84	<0,0001
- En cas de MRD >1 log (N = 89)	0,79	0,79	<0,0001
- En cas de MRD <1 log (N = 179)	0,51	0,49	<0,0001

On peut observer que la corrélation entre les valeurs de MRD sur moelle osseuse et sur sang est excellente sur l'ensemble des prélèvements. Cette corrélation est également excellente au diagnostic, après induction et lorsque les valeurs de MRD sont élevées (>1 log). En revanche, la corrélation entre les prélèvements semble beaucoup moins intéressante en cours de traitement et surtout à la fin du traitement. Ces résultats sont toutefois à mettre sur le compte du faible nombre de paires de prélèvements avec une MRD détectable après la 1^{ère} consolidation car la corrélation entre les valeurs de MRD sur moelle osseuse et sur sang est remarquable pour des valeurs <1 log.

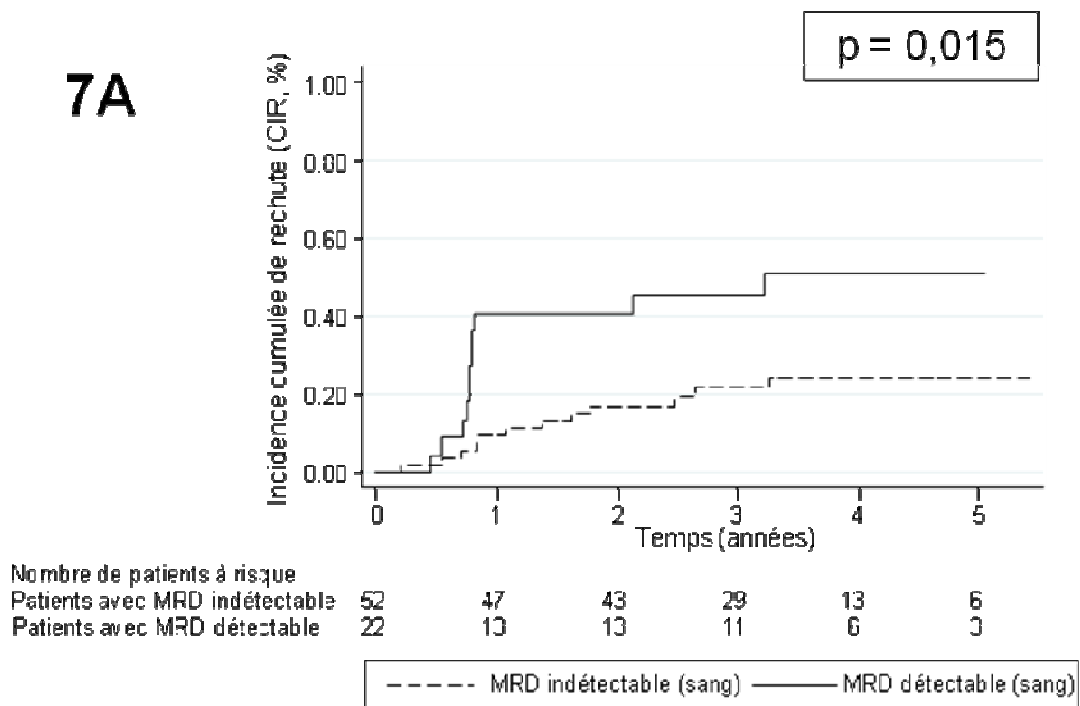
III. IMPACT PRONOSTIQUE DE LA MRD REALISEE EN FIN DE TRAITEMENT :

Le risque de rechute (évalué par l'incidence cumulée de rechute ; CIR) et la survie globale (OS) ont été analysés en fonction de la MRD réalisée sur sang et sur

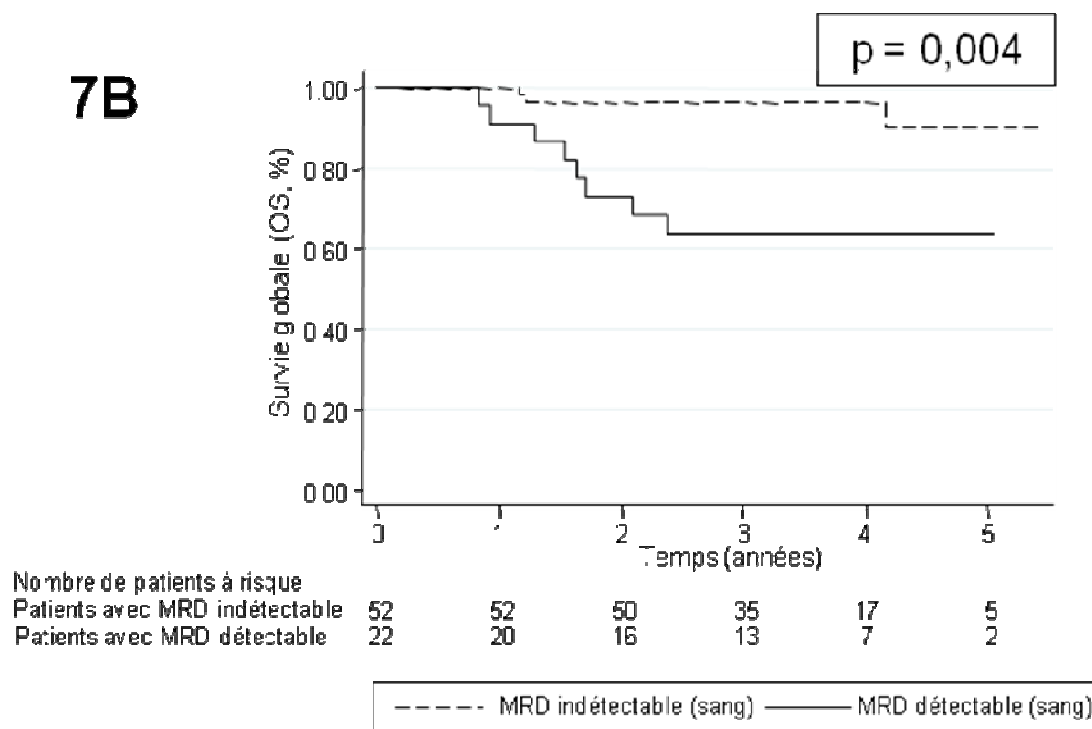
moelle osseuse à la fin du traitement. Le délai médian entre la 3^{ème} cure de consolidation et l'évaluation de la MRD en fin de traitement est de 39 jours (valeurs extrêmes : 15-100 jours).

Deux analyses statistiques univariées ont été réalisées par type de prélèvement : évaluation du risque de rechute (CIR) et de la survie globale (OS) selon le statut qualitatif de la MRD (indéetectable si MRD ≤0,001% et détectable si >0,001% ; Figures 7A et 7B pour la MRD sur sang ; Figures 8A et 8B pour la MRD sur moelle osseuse) et selon la valeur quantitative de la MRD (analyse de la MRD en tant que variable continue logarithmique)

Figures 7 : CIR (7A) et OS (7B) selon le caractère détectable de la MRD sur sang en fin de traitement (indéetectable si MRD ≤0,001%, détectable si >0,001%).



7B

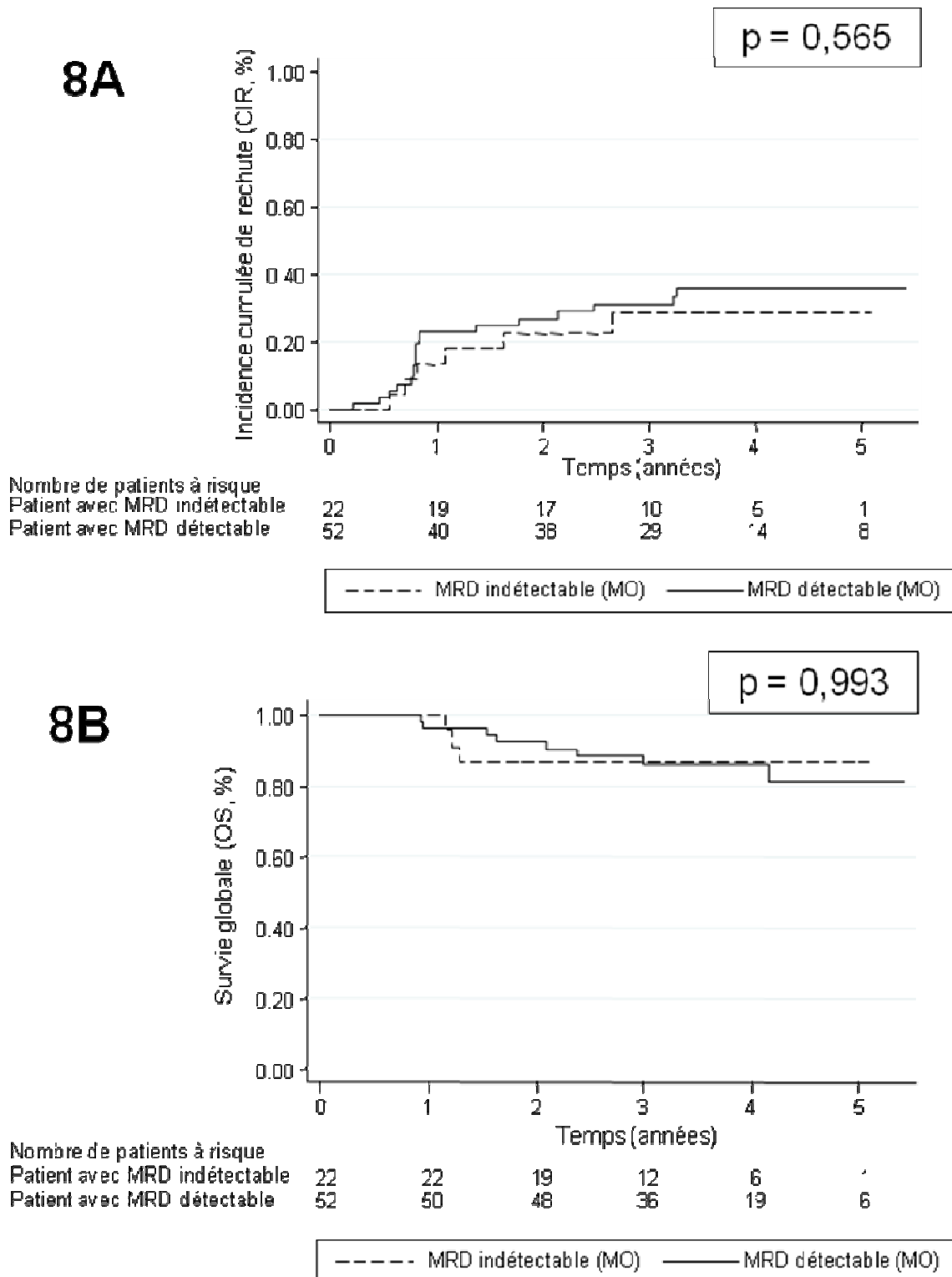


A 4 ans, l'incidence cumulée de rechute est estimée à 50,9% (IC 95% : 32,1 - 73) chez les patients ayant une MRD sur sang détectable en fin de traitement comparée à 24,5% (IC 95% : 14,6 - 39,3) chez les patients ayant une MRD sur sang indétectable (Figure 7A ; SHR 2,76 [IC 95% : 1,21 - 6,27], P = 0,015).

A 4 ans, la survie globale à partir de la RC est estimée à 63,6% (IC 95% : 40,3 – 79,9) chez les patients ayant une MRD sur sang détectable en fin de traitement comparée à 96,2% (IC 95% : 85,5 - 99) chez les patients ayant une MRD sur sang indétectable (Figure 7B ; HR 7,17 [IC 95% : 1,9 - 27], P = 0,004).

En analysant la MRD réalisée sur sang en fin de traitement en tant que variable continue logarithmique, l'incidence cumulée de rechute est également significativement différente en fonction de la valeur de la MRD (SHR 2,14 [IC 95% : 1,38 - 3,33], P < 0,001) tout comme la survie globale à partir de la RC (HR 2,33 [IC 95% : 1,37 - 3,96], P = 0,002).

Figures 8 : CIR (8A) et OS (8B) selon le caractère détectable de la MRD sur moelle osseuse en fin de traitement (indétectable si MRD ≤0,001%, détectable si >0,001%).



A 4 ans, l'incidence cumulée de rechute est estimée à 35,9% (IC 95% : 24,3 - 51) chez les patients ayant une MRD sur moelle osseuse détectable en fin de traitement

comparée à 28,3% (IC 95% : 13,7 - 52,6) chez les patients ayant une MRD sur moelle osseuse indétectable (Figure 8A ; SHR 1,31 [IC 95% : 0,52 - 3,3], P = 0,565). A 4 ans, la survie globale à partir de la RC est estimée à 86% (IC 95% : 72,7 - 93,1) chez les patients ayant une MRD détectable sur moelle osseuse en fin de traitement comparée à 86,4% (IC 95% : 63,4 - 95,4) chez les patients ayant une MRD indétectable sur moelle osseuse (Figure 8B ; HR 1 [IC 95% : 0,26 - 3,8], P = 0,993).

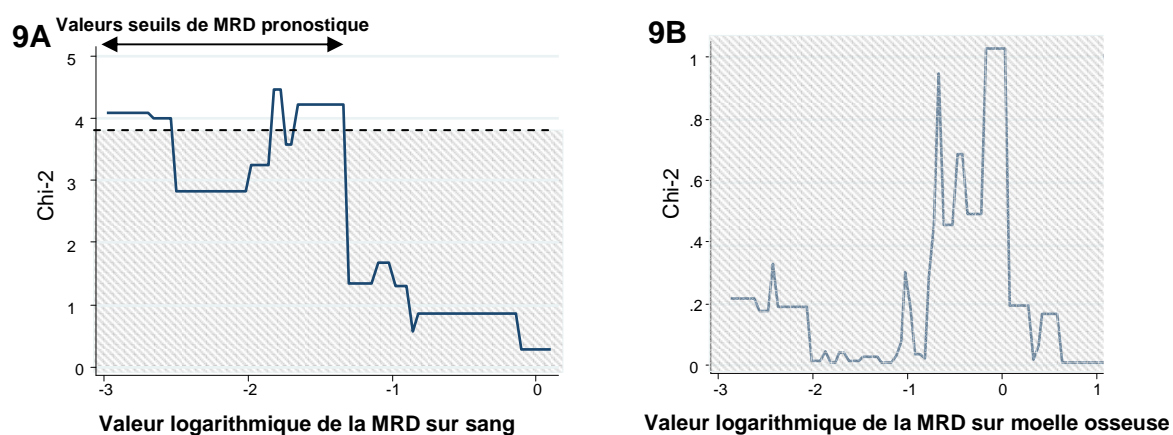
De la même manière, l'incidence cumulée de rechute à 4 ans n'est pas significativement différente en fonction de la valeur logarithmique de la MRD sur moelle osseuse en fin de traitement (SHR 1,3 [IC 95% : 0,86 - 1,97], P = 0,217) tout comme la survie globale à partir de la RC (HR 1,54 [IC 95% : 0,84 - 2,82], P = 0,164)

Au vu de l'ensemble de ces résultats, on peut observer que la MRD évaluée sur sang en fin de traitement joue un rôle pronostique important. En effet, lorsqu'elle est étudiée en tant que valeur qualitative, le risque de rechute augmente et la survie globale diminue de manière nettement significative en cas de MRD détectable (ie >0,001%) à la fin du traitement. Des résultats identiques et significatifs sont observés lorsque la MRD sur sang en fin de traitement est étudiée en tant que valeur continue logarithmique. A l'inverse, lorsque l'on étudie de la même manière la MRD sur moelle osseuse en fin de traitement, il n'existe pas de valeur pronostique de la MRD évaluée sur moelle osseuse en fin de traitement sur la survie globale ou l'incidence cumulée de rechute.

Etant donné la valeur pronostique de la MRD réalisée sur sang en fin de traitement sur le risque de rechute et la survie globale, la détermination d'un seuil de taux de transcrit significativement associé à un risque de rechute plus important a été

réalisée. Les Figures 9 montrent les résultats de cette analyse sur la valeur logarithmique de la MRD sur sang (9A) et sur moelle osseuse (9B).

Figures 9 : analyse en détermination de seuil pronostique sur la rechute de la MRD sur sang (9A) et sur moelle osseuse (9B).



Cette analyse en recherche de « best cut-off » n'a pas permis de retrouver une valeur seuil prédictive d'une rechute mais montre tout de même qu'un seuil de MRD sur sang entre 0,001% et 0,045% sépare 2 populations à risque différent de rechute. Cette même analyse réalisée sur les valeurs logarithmiques de la MRD sur moelle osseuse ne permet pas de déterminer une valeur seuil prédictive de la rechute.

IV. INTERET DU SUIVI DE LA MRD APRES TRAITEMENT :

1. PROFIL EVOLUTIF DE LA MRD SUR SANG AU COURS DU SUIVI :

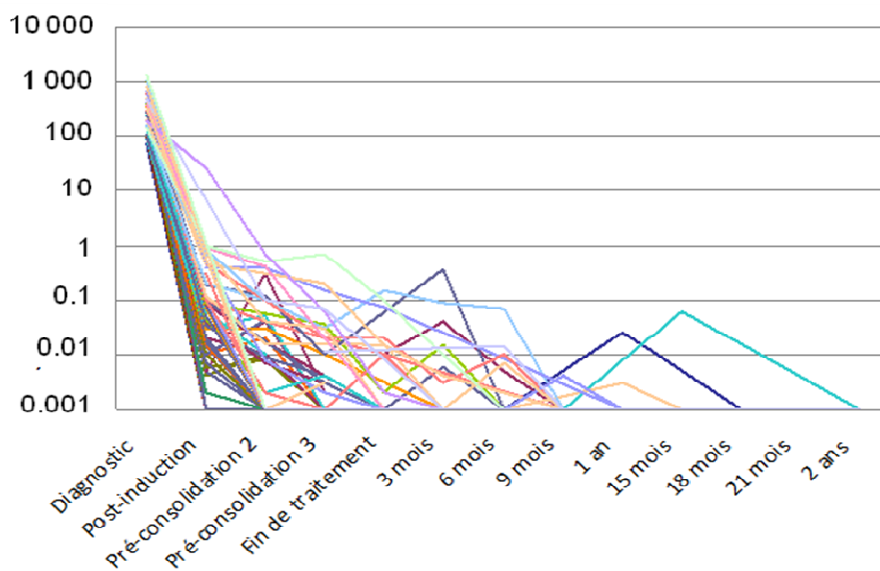
Le délai médian entre la date d'obtention de la RC hématologique et la dernière date d'évaluation de la MRD sur le sang est de 22,1 mois (Interquartiles (IQ) : 9,6 – 28,6 mois). Pour les patients n'ayant pas rechuté, ce délai médian est de 26,9 mois (IQ : 19,4 - 30). Chez les 26 patients ayant rechuté avant 2 ans de RC, le délai

médian entre le dernier point de MRD et la rechute est de 0,32 mois (IQ : 0 – 1,4 mois), ce délai étant supérieur à 3 mois chez 3 patients.

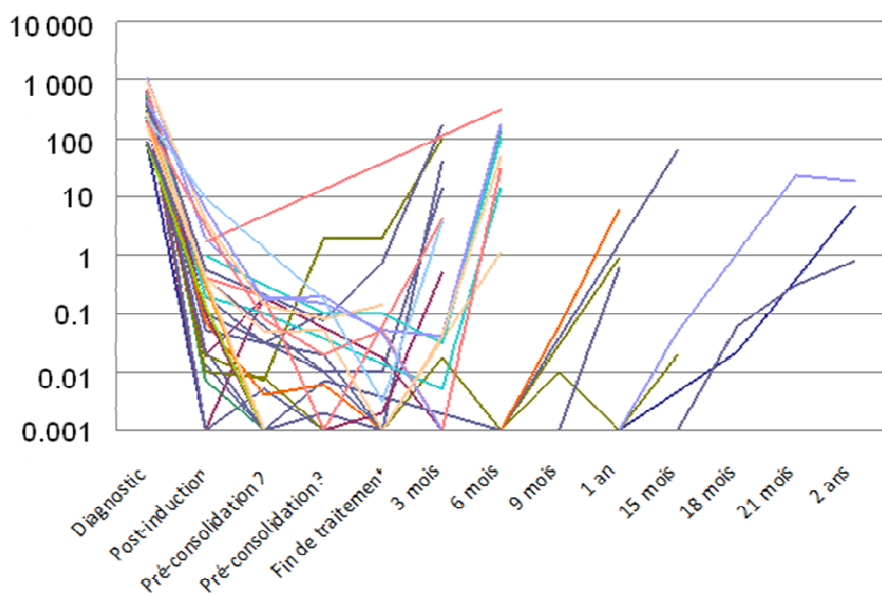
Les Figures 10 montrent le profil d'évolution globale de la MRD sur sang en variable quantitative logarithmique chez l'ensemble des patients en fonction de la survenue d'une rechute hématologique ou non.

Figures 10 : Profil évolutif de la MRD sur sang chez les patients sans (10A) ou avec (10B) rechute hématologique au cours du suivi.

10A



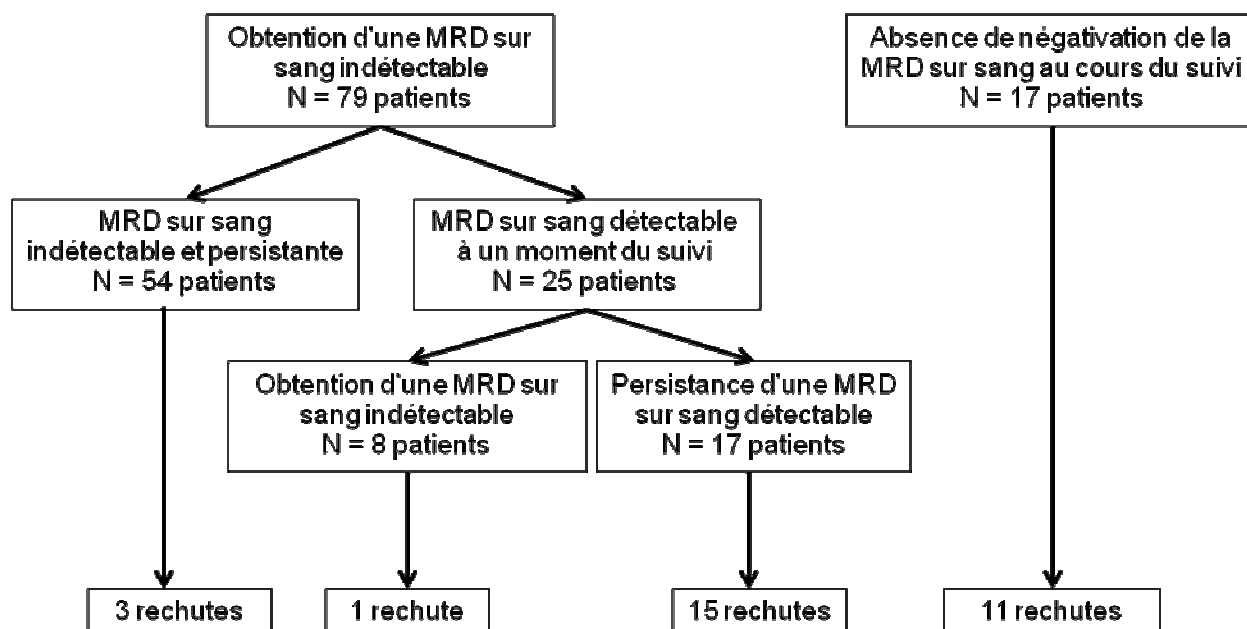
10B



On peut grossièrement observer que la grande majorité des patients ne présentant pas de rechute hématologique obtiennent une MRD sur sang indétectable au cours du suivi. A l'inverse, les patients présentant une rechute hématologique sont aisément identifiables au vu de l'ascension du taux de transcrit *RUNX1-RUNX1T1*.

L'évolution clinique des patients en fonction de l'évaluation qualitative de la MRD sur sang est présentée sur la Figure 11.

Figure 11 : Evolution des patients en fonction de l'évolution qualitative de la MRD sur sang (MRD détectable si $>0,001\%$, indétectable si $\leq 0,001\%$).



Sur la Figure 11, plus de la moitié des patients pour qui la MRD reste détectable au cours du suivi présente une rechute hématologique (11/17 patients). En fait, parmi ces patients, il s'avère que seulement 9 patients ont bénéficié du suivi de la MRD protocolaire après la 3^{ème} consolidation et peuvent réellement être considérés comme réfractaires moléculaires. Parmi ces 9 patients, tous ont présenté une rechute hématologique dans un délai médian de 6,2 mois à partir de la 3^{ème} cure

de consolidation (valeurs extrêmes 2,5 – 6,6 mois) sauf 1 patient qui est décédé dans les suites immédiates d'une allogreffe de CSH en 1^{ère} RC. Aucun facteur pronostique classiquement reconnue dans les LAM avec t(8;21) ne semble prédisposer ces patients à une rechute hématologique précoce (pas de différence en terme de log-réduction de la MRD avant la 2^{ème} cure de consolidation ou de statut mutationnel). Les 8 autres patients, qui n'ont bénéficié d'aucun suivi protocolaire de la MRD après la 3^{ème} cure de consolidation, ont été inclus dans le groupe des patients dits « réfractaire moléculaire » car le dernier prélèvement disponible retrouvait une MRD détectable sur sang.

Une MRD indétectable (« RC moléculaire ») est obtenue chez la grande majorité des patients (79/96) avec un délai de négativation de la MRD sur sang à partir de l'obtention d'une RC hématologique très variable (délai de négativation médian de 75,5 jours ; valeurs extrêmes : 0 – 499 jours). Le nombre de patients présentant une rechute hématologique alors même qu'ils présentent une MRD indétectable sur sang au cours du suivi est relativement restreint (3/54 soit 5,6% des patients avec une MRD indétectable persistante dans le temps). Toutefois, il s'avère que 2 de ces patients n'ont pas bénéficié du suivi protocolaire prévu tous les 3 mois tandis que le patient restant a présenté une rechute hématologique après les 2 ans de suivi de MRD protocolaire (délai entre le dernier prélèvement disponible et la rechute hématologique de 133 jours, 186 jours et 352 jours respectivement).

Troisièmement, la moitié des rechutes hématologiques observées au cours du suivi sont survenues chez des patients présentant une « rechute moléculaire » (MRD sur sang détectable après obtention d'une RC moléculaire), confirmée par un 2^{ème} prélèvement protocolaire ou non. A l'inverse, seul 1 patient sur les 8 ayant présenté une rechute moléculaire non confirmée par un 2^{ème} prélèvement a présenté une

rechute hématologique. Ce patient présentait néanmoins une MRD sur sang à 0,5% 28 jours avant la rechute hématologique, seuil hautement évocateur d'une rechute hématologique imminente. En ne s'intéressant qu'aux 15 patients ayant obtenu une MRD indétectable qui présentaient à nouveau une MRD détectable sur sang suivie d'une rechute hématologique, le délai médian entre la rechute moléculaire et la rechute hématologique était de 102 jours, soit environ 3,3 mois.

Au total, on peut remarquer que 26 des 30 rechutes hématologiques (86,6%) ont été détectées par l'évaluation qualitative de la MRD sur sang réalisée idéalement tous les 3 mois.

Si l'on applique le seuil de MRD $\geq 0,1\%$ sur sang défini comme pronostique par l'étude anglaise, 31 patients de la cohorte sont considérés comme réfractaire moléculaire ou présentent une rechute moléculaire. Parmi eux, 24 patients (80%) vont effectivement présenter une rechute hématologique dans un délai médian de 27 jours (valeurs extrêmes : 0 – 228 jours). Six rechutes hématologiques étaient toutefois diagnostiquées le jour de la rechute moléculaire. De plus, en appliquant ce seuil, seuls 6 patients ne présentaient pas de rechute moléculaire détectée avant rechute hématologique. Ceci est expliqué par le fait qu'un des patients a présenté une rechute hématologique avant réalisation de la 3^{ème} cure de consolidation tandis que les 5 autres n'ont pas bénéficié du suivi prévu tous les 3 mois (délai entre le dernier prélèvement et la rechute hématologique de 133 jours, 163 jours, 352 jours, 521 jours et 603 jours respectivement). Enfin, l'application du seuil de MRD sur sang $\geq 0,1\%$ a détecté une rechute moléculaire chez 1 patient qui ne s'est pas suivie d'une

rechute hématologique. Le fait que ce patient ait bénéficié d'une allogreffe de CSH dans les suites du dernier prélèvement sanguin pourrait expliquer ce résultat.

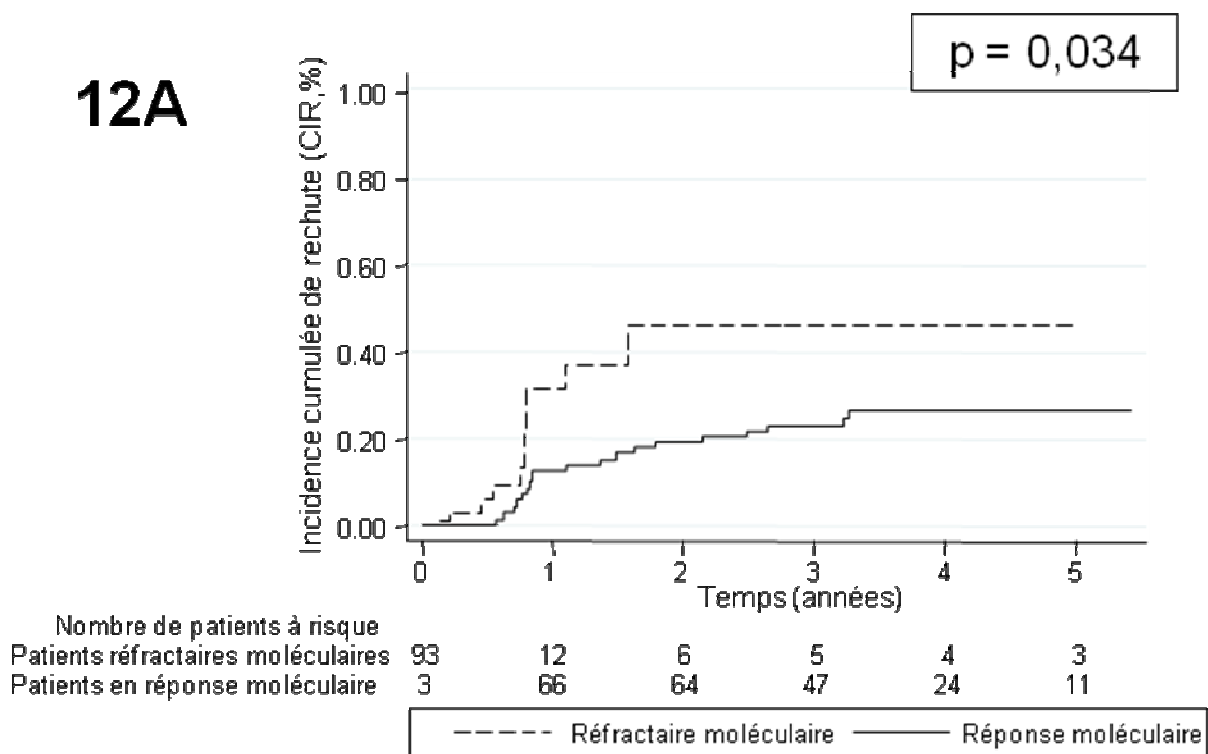
2. ETUDE DE LA VALEUR PRONOSTIQUE DE L'EVOLUTION DE LA MRD SUR SANG

AU COURS DU SUIVI :

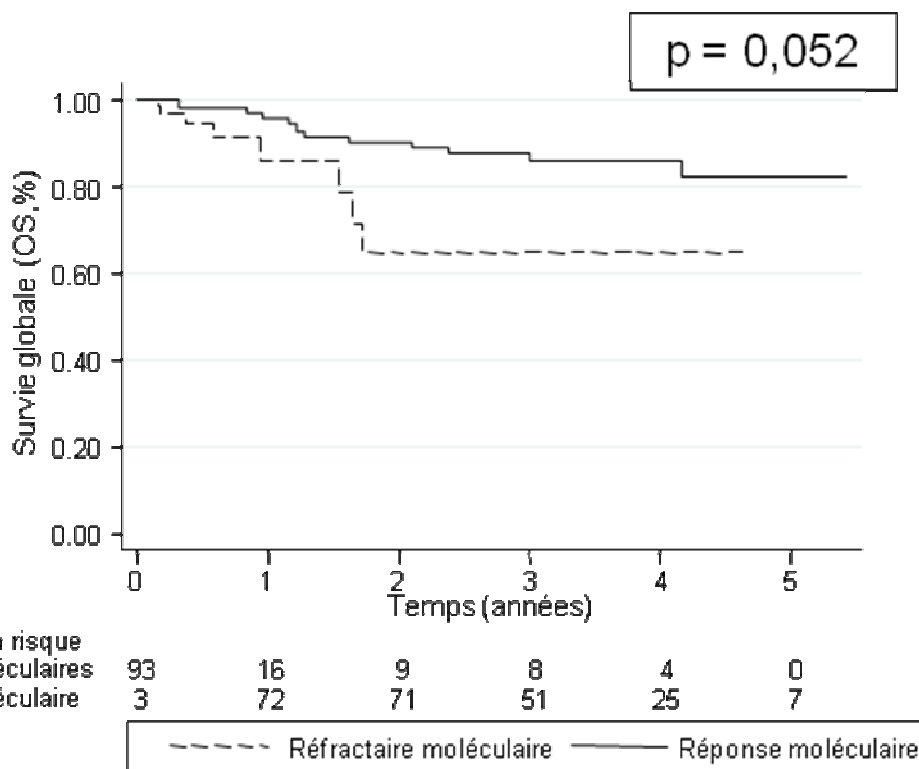
Afin de déterminer la valeur pronostique sur le risque de rechute et sur la survie globale de l'évolution de la MRD sur sang au cours du suivi, la CIR et l'OS ont été calculés selon le profil évolutif de la MRD sur sang

La figure 12 montre la CIR et l'OS des patients ayant une MRD sur sang toujours détectable au cours du suivi (« réfractaire moléculaire ») comparée à celle des patients obtenant une MRD indétectable sur sang (« RC moléculaire »).

Figures 12 : Comparaison de la CIR (12A) et de l'OS (12B) entre les patients obtenant une réponse moléculaire (obtention d'une MRD indétectable) et les patients « réfractaires moléculaires » (persistance d'une MRD détectable sur sang tout au long du suivi).



12B



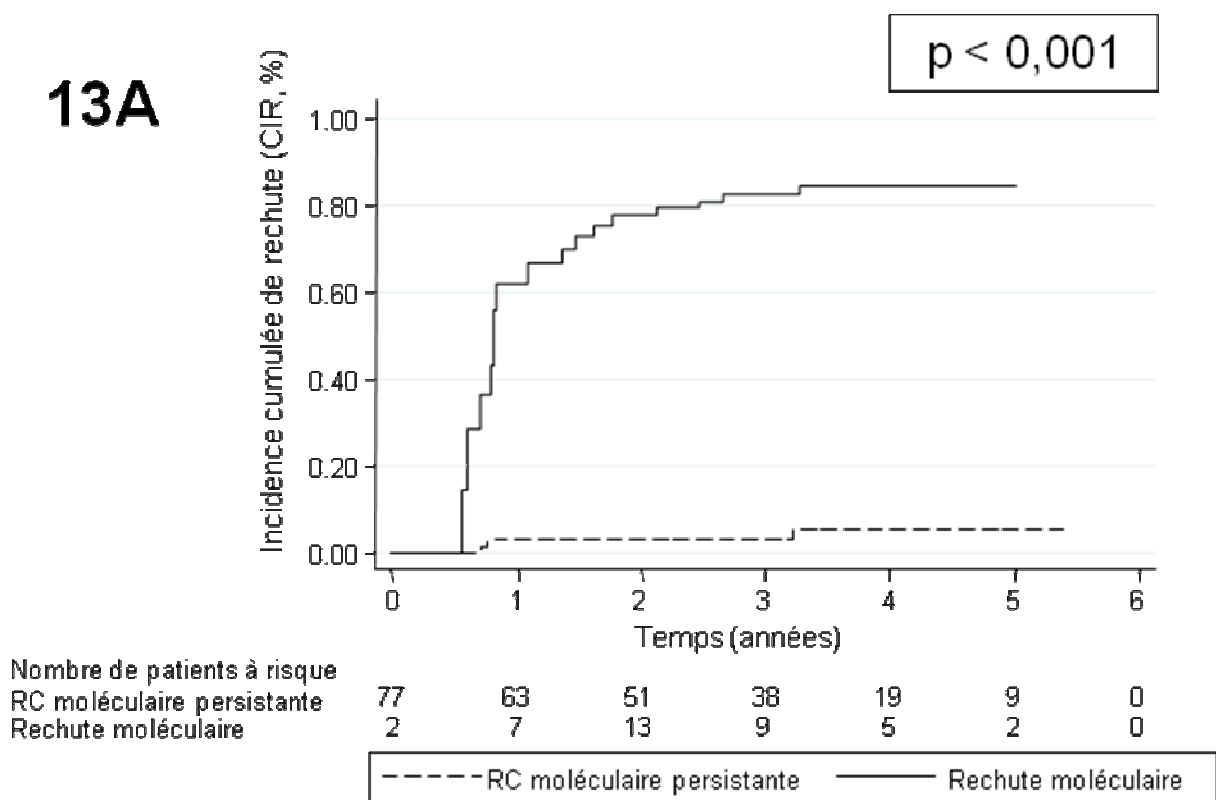
A 4 ans, l'incidence cumulée de rechute est estimée à 26,7% (IC 95% : 17,9 - 38,8) chez les patients obtenant une MRD sur sang indétectable à un moment du suivi comparée à 46,1% (IC 95% : 26,2 - 71,5) chez les patients ayant une MRD sur sang toujours détectable (Figure 12A ; SHR 0,42 [IC 95% : 0,19 - 0,94], P = 0,034).

A 4 ans, la survie globale à partir de la RC est estimée à 86% (IC 95% : 75,4 - 92,2) chez les patients ayant une MRD sur sang indétectable au cours du suivi comparée à 64,5% (IC 95% : 37 - 82,4) chez les patients ayant une MRD sur sang toujours détectable (Figure 12B ; HR 0,38 [IC 95% : 0,14 - 1], P = 0,052).

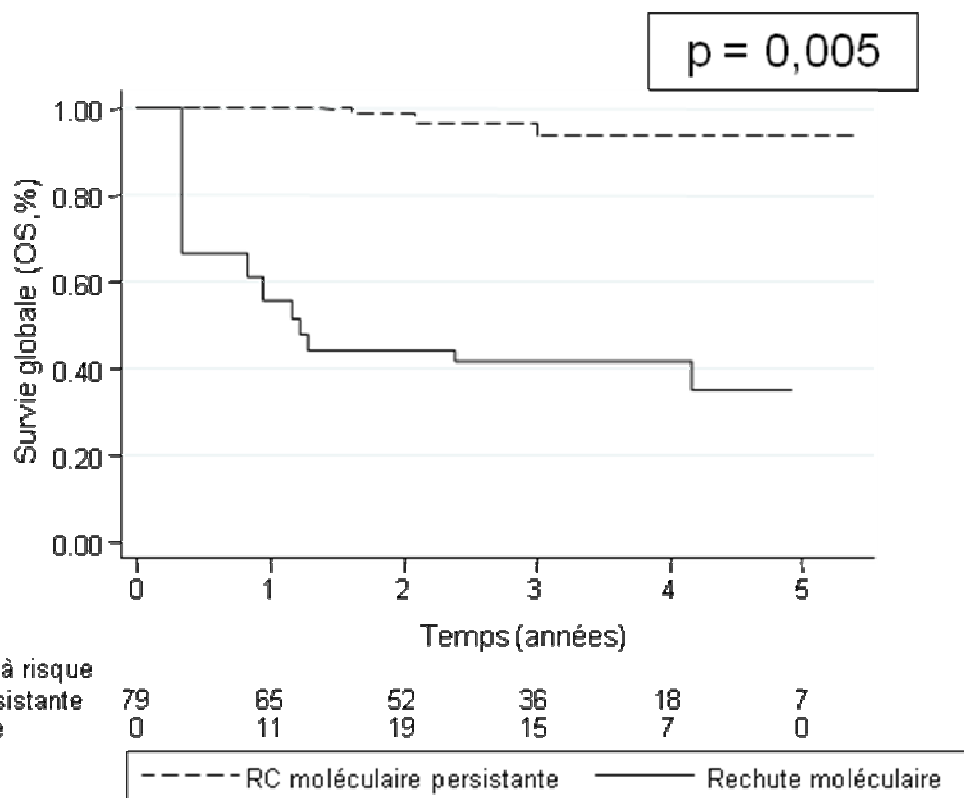
Cette analyse retrouve donc une augmentation significative du risque de rechute en cas de MRD sur sang qui resterait détectable tout au long du suivi. L'analyse de la survie globale selon les mêmes critères retrouve quant à elle un avantage de survie à la limite de la significativité en faveur de l'obtention d'une MRD indétectable sur sang.

Les Figures 13 vont intéresser les patients qui pendant le suivi obtiennent une MRD indétectable (c'est-à-dire après obtention d'une « RC moléculaire »). Cette figure montre l'incidence cumulée de rechute et la survie globale des patients ayant une MRD sur sang qui reste indétectable tout au long du suivi (« RC moléculaire persistante ») comparée à celle de patients obtenant une MRD sur sang à nouveau détectable (« rechute moléculaire »).

Figures 13 : Comparaison de la CIR (13A) et de l'OS (13B) entre les patients en « RC moléculaire persistante » (MRD indétectable tout au long du suivi) et les patients présentant une « rechute moléculaire » (réapparition d'une MRD détectable sur sang).



13B



A 4 ans, l'incidence cumulée de rechute est estimée à 84,5% (IC 95% : 67,5 - 95,4) chez les patients présentant une rechute moléculaire comparée à 5,7% (IC 95% : 1,8 - 17,4) chez les patients conservant une MRD sur sang indétectable tout au long du suivi (Figure 13A ; SHR 33,67 [IC 95% : 9,71-116,72], P < 0,001).

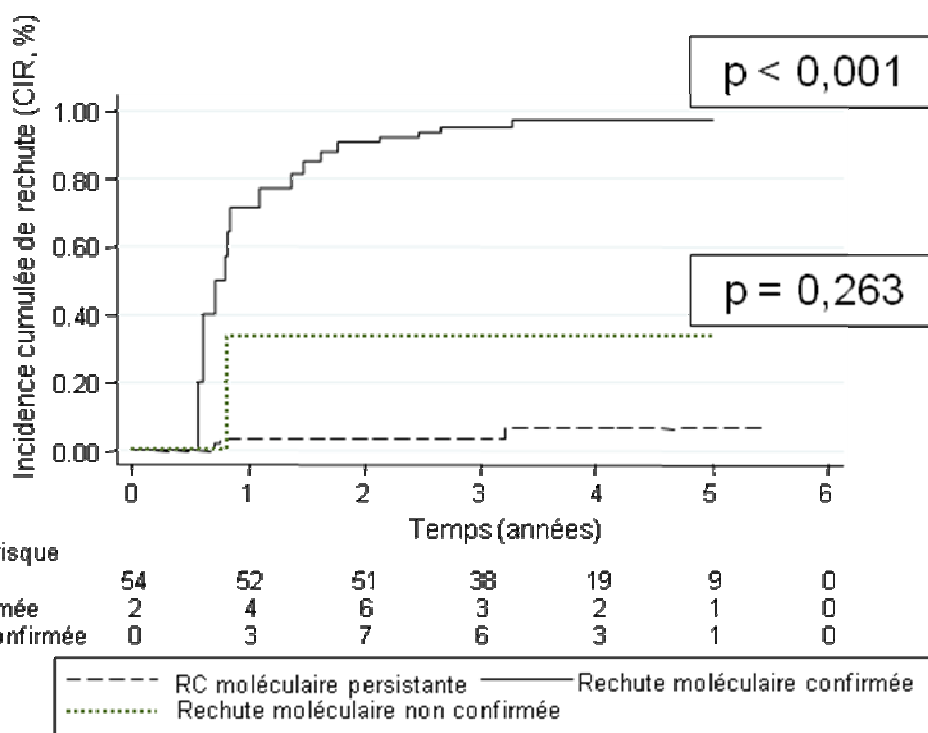
A 4 ans, la survie globale à partir de la RC est estimée à 42% (IC 95% : 9,1 - 73,1) chez les patients présentant une rechute moléculaire au cours du suivi comparée à 93,4% (IC 95% : 81,6 - 98) chez les patients avec une réponse moléculaire persistante (Figure 13B ; HR 6,68 [IC 95% : 1,77 – 25,21], P = 0,005).

On peut donc observer que les patients présentant une rechute moléculaire au cours du suivi (ie obtention d'une MRD détectable au cours du suivi alors que celle-ci était devenue indétectable) présentent un risque de rechute significativement plus élevé et une survie globale significativement moins longue que les patients conservant une RC moléculaire (MRD indétectable sur sang tout au long du suivi).

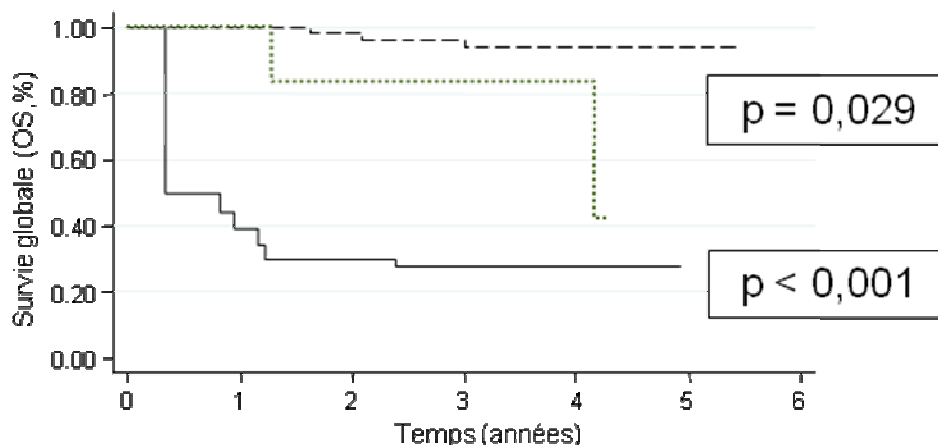
De manière à préciser les résultats observés chez les patients en rechute moléculaire, une distinction a été faite entre les résultats obtenus chez les patients présentant une rechute moléculaire confirmée sur un 2^{ème} prélèvement sanguin et ceux présentant une négativation de la MRD sur un prélèvement suivant. Les Figures 13 vont donc comparer les patients qui pendant le suivi obtiennent une MRD indétectable (réponse moléculaire), les patients présentant une MRD détectable sur un seul prélèvement (rechute moléculaire non confirmée) et les patients présentant une MRD détectable sur 2 prélèvements d'affilée (rechute moléculaire confirmée).

Figures 14 : Comparaison de la CIR (14A) et de l'OS (14B) entre les patients en réponse moléculaire persistante (MRD indétectable tout au long du suivi) avec les patients présentant une « rechute moléculaire » confirmée ou non par un 2^{ème} prélèvement (réapparition d'une MRD détectable sur sang pendant le suivi).

14A



14B



Nombre de patients à risque		0	1	2	3	4	5	6
RC moléculaire persistante		54	54	52	36	18	7	0
Rechute moléculaire confirmée		0	7	12	9	4	0	0
Rechute moléculaire non confirmée		0	4	7	6	3	0	0

-----	RC moléculaire persistante	—————	Rechute moléculaire confirmée
.....	Rechute moléculaire non confirmée		

A 4 ans, l'incidence cumulée de rechute est estimée à 6,4% (IC 95% : 2,1 - 18,9) chez les patients conservant une réponse moléculaire pendant le suivi comparée à 33,3% (IC 95% : 5,5 - 94,6 ; SHR 3,67 [IC 95% : 0,38 - 35,76], P = 0,263) chez les patients présentant une rechute moléculaire non confirmée par un 2^{ème} prélèvement et 96,8% (IC 95% : 86,8 – 99,7 ; SHR 48,95 [IC 95% : 14,14 - 169,41], P < 0,001) chez les patients présentant une rechute moléculaire confirmée sur un 2^{ème} prélèvement sanguin (Figure 14A).

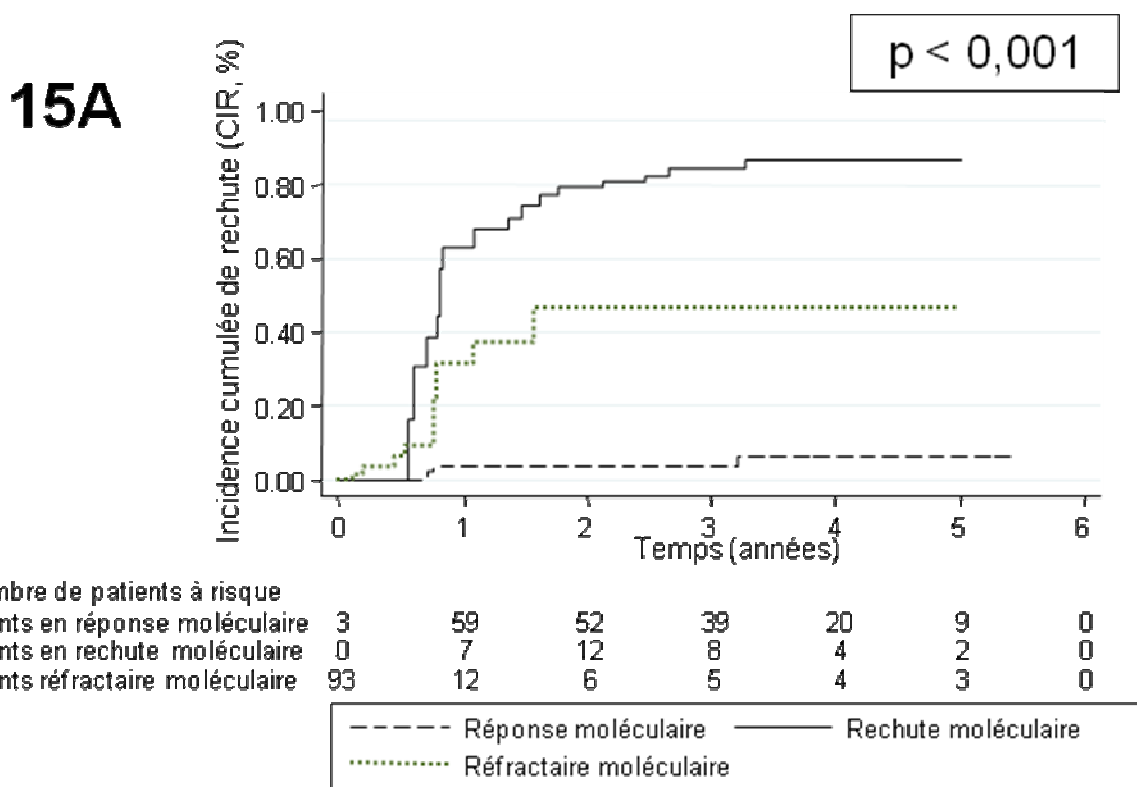
A 4 ans, la survie globale à partir de la RC est estimée à 93,7% (IC 95% : 81,3 - 98) chez les patients en réponse moléculaire persistante au cours du suivi comparée à 83,3% (IC 95% : 27,3 – 97,5 ; HR 7,71 [IC 95% : 1,23 - 48,1], P = 0,029) chez les patients en rechute moléculaire non confirmée par un 2^{ème} prélèvement et 27,7% (IC 95% : 1,7 - 66,7 ; HR 12,91 [IC 95% : 3,09 - 53,95], P < 0,001) chez les patients en rechute moléculaire confirmée par un 2^{ème} prélèvement (Figure 14B).

On peut observer que ce sont les patients qui présentent une rechute moléculaire confirmée sur un 2^{ème} prélèvement qui ont le pronostic le plus effroyable (risque de rechute proche de 100%) alors que les patients présentant une MRD détectable sur

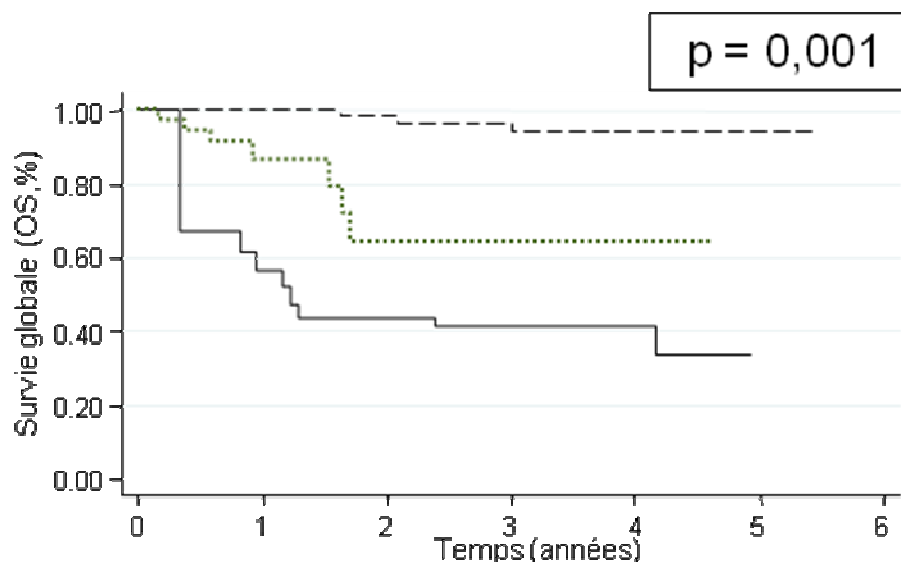
1 seul prélèvement ont un risque de rechute qui n'est pas significativement supérieur à celui des patients en réponse moléculaire persistante.

Pour conclure, les Figures 15 comparent l'incidence cumulée de rechute et la survie globale des patients en fonction de leur profil évolutif de MRD (réfractaire moléculaire, rechute moléculaire, RC moléculaire persistante).

Figures 15: Impact sur CIR et OS selon les 3 profils évolutifs de la MRD (réfractaire moléculaire, rechute moléculaire et RC moléculaire persistante)



15B



Nombre de patients à risque							
Patients en réponse moléculaire	3	61	53	37	19	7	0
Patients en rechute moléculaire	0	11	18	14	6	0	0
Patients réfractaire moléculaire	93	16	9	8	4	0	0

-----	Réponse moléculaire	————	Rechute moléculaire
.....	Réfractaire moléculaire		

A 4 ans, l'incidence cumulée de rechute est significativement différente entre les patients ayant une MRD sur sang toujours indétectable au cours du suivi (CIR = 6,1% ; IC 95% : 1,9 - 18,1), les patients ayant une MRD sur sang toujours détectable (CIR = 46,1% ; IC 95% : 26,2 - 71,5) et les patients présentant une rechute moléculaire (CIR = 86,1% ; IC 95% : 69,7 - 96,2) (Figure 15A ; HR 2,7 [IC 95% : 1,77 – 4,12], P < 0,001)

A 4 ans, la survie globale à partir de la RC est également significativement différente entre les patients ayant une MRD sur sang toujours indétectable (ie ≤0,001%) au cours du suivi (OS = 93,9% ; IC 95% : 82 - 98), les patients ayant une MRD sur sang toujours détectable (OS = 64,5% ; IC 95% : 37 - 82,4) et les patients présentant une rechute moléculaire au cours du suivi (OS = 41,3% ; IC 95% : 8,9 - 72,4) (Figure 15B ; HR 2.46 [IC 95% : 1,43 – 4,22], P = 0,001).

On observe ainsi une différence significative entre les 3 profils évolutifs : un profil de RC moléculaire persistante est associé à un excellent pronostic tandis que les patients réfractaires moléculaires ou en rechute moléculaire ont un mauvais pronostic.

V. CAS DES PATIENTS AVEC MRD DETECTABLE EN FIN DE SUIVI SANS RECHUTE HEMATOLOGIQUE :

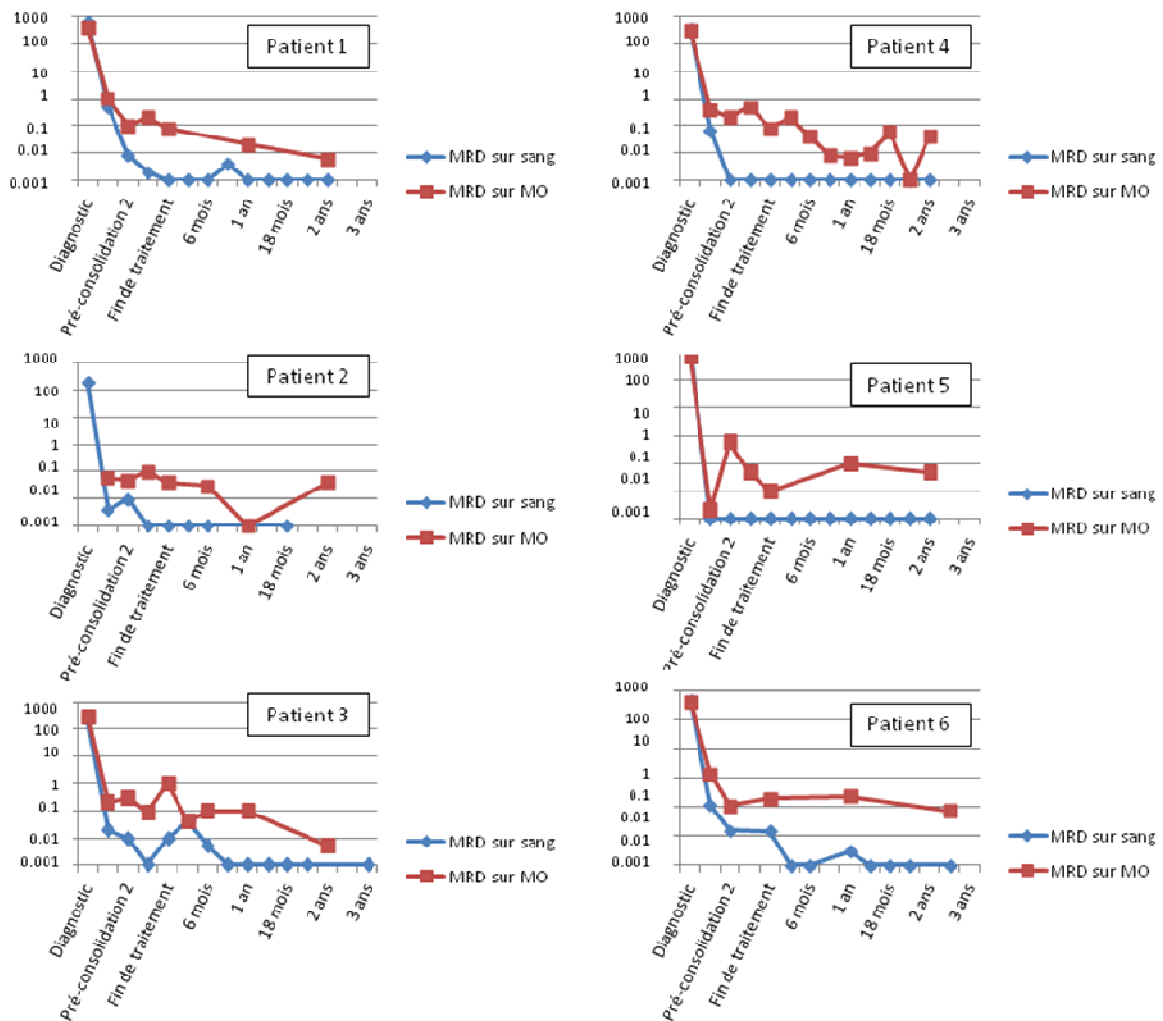
La littérature fait état de patients atteints de LAM avec t(8;21)(q22;q22) en RC hématologique prolongée mais présentant une MRD détectable au long cours.

Aucun patient de notre étude ne présente une MRD détectable sur sang à 2 ans de la fin du traitement sans présenter une rechute hématologique au décours.

A l'inverse, 7 patients (7,3% de la cohorte) présentent une MRD détectable sur moelle osseuse à 2 ans de la fin du traitement sans toutefois présenter de rechute hématologique après un suivi médian de 22,8 mois à partir du dernier prélèvement réalisé à 2 ans de la fin du traitement (valeurs extrêmes : 0 – 32,4 mois).

La Figure 16 montre l'évolution de la MRD exprimée en log sur sang et sur moelle osseuse chez 6 de ces patients.

Figure 16 : Evolution de la MRD sur sang et sur moelle osseuse de 6 patients présentant une MRD détectable sur moelle osseuse à 2 ans de suivi sans rechute hématologique



Ces données, combinées à l'absence de valeur pronostique de la MRD sur moelle osseuse en fin de traitement, tendent à montrer que le suivi à long terme de la MRD sur moelle osseuse est peu informatif concernant le risque de rechute et valident l'intérêt d'un suivi de la MRD sur sang.

DISCUSSION

La détection de la MRD par RQ-PCR dans les LAM t(8;21)(q22 ;q22) a pour objectif de déterminer des sous-groupes de patients à risque plus important de survenue d'une rechute hématologique en vue de modifier leur stratégie thérapeutique.

Cette étude prospective sur 96 patients atteints d'une LAM avec t(8;21) avait pour objectifs de confirmer la corrélation existante entre les résultats de MRD obtenus sur sang et sur moelle osseuse. L'autre objectif était de déterminer l'intérêt de réaliser une évaluation de la MRD en fin de traitement et au cours du suivi après traitement. Pour cela, un suivi de la MRD sur sang était réalisé tous les 3 mois pendant les 2 années suivant la fin du traitement tandis que la MRD sur moelle osseuse était évaluée tous les ans pendant 2 ans.

Le 1^{er} constat qui peut être fait sur cette étude concerne le nombre de prélèvements sanguins et médullaires réalisés tout au long du suivi après traitement. Plus de la moitié des prélèvements recommandés par le protocole étaient interprétables avec une médiane de 5 prélèvements sanguins par patient pendant les 2 ans de suivi. Aucune étude prospective publiée à ce jour n'a rapporté un nombre de prélèvement identique ou supérieur au cours du suivi des LAM avec t(8;21).

Cette étude confirme les données de la littérature concernant la corrélation entre les valeurs de MRD sur sang avec celles obtenues sur moelle osseuse.^{306,316} En effet, une excellente corrélation a été retrouvée dans notre étude quelle que soit la valeur de la MRD (lorsqu'elle était détectable).

Toutefois, il existe une réelle discordance entre les résultats de MRD sur prélèvement médullaire et ceux obtenus sur sang lorsque les valeurs de MRD sont basses. En effet, à distance de la 3^{ème} et dernière cure de chimiothérapie de consolidation, 42% des patients informatifs de notre étude ont une MRD indétectable sur sang alors qu'elle reste détectable sur moelle osseuse. Cette proportion diminue au fur et à mesure du suivi mais concerne tout de même 7 patients à 2 ans de la fin du traitement. Les travaux de l'équipe anglaise rapportés par Yin JA et al. en 2012 retrouvaient également cette caractéristique.³⁰⁶ Dans cette étude, 28% des patients présentaient une MRD détectable sur MO et non sur sang à la fin du traitement tandis que 11 patients en RC présentaient une MRD détectable sur MO au cours du suivi après un suivi médian de 4,5 ans.

Cette discordance entre les résultats de MRD sur sang et sur moelle osseuse pendant et à la fin du traitement peut être expliquée par une cinétique de décroissance des valeurs de MRD différente entre le sang et la moelle osseuse. Ainsi, dans notre étude, les médianes de MRD sur sang sont inférieures à celles observées sur moelle osseuse après chimiothérapie d'induction, au cours des cures de consolidation et à la fin du traitement. La présence majoritaire de la masse tumorale leucémique dans la moelle osseuse et les limites de sensibilité de détection de la technique de RQ-PCR (10^{-6}) peuvent expliquer cette différence de cinétique.

Le 2^{ème} objectif de notre étude était de déterminer l'intérêt d'évaluer la valeur pronostique de la MRD réalisée à la fin du traitement de consolidation. En cela, notre étude confirme ce qui a déjà pu être rapporté par d'autres auteurs, à savoir l'importance pronostique de la MRD évaluée en fin de traitement sur le risque de rechute et la survie globale.^{221,306,308,310,316,319} Toutefois, notre étude se démarque

des autres en montrant que seule la MRD évaluée sur sang, et non sur moelle osseuse, a une valeur pronostique significative tant sur le risque de rechute (CIR à 4 ans de 50,9% en cas de MRD détectable contre 24,5% en cas de MRD indétectable) que sur la survie globale (OS à 4 ans de 63,6% en cas de MRD détectable contre 96,2% en cas de MRD indétectable). Deux constats permettent de comprendre ces résultats. Tout d'abord, la MRD sur sang décroît plus vite pendant le traitement que celle réalisée sur moelle osseuse permettant possiblement mieux de séparer à la fin du traitement les patients « bons répondeurs » des patients dits « réfractaires moléculaires » plus à même de rechuter. Dans cette situation, une MRD sur sang détectable à plus de 10^{-6} serait le reflet d'une masse tumorale critique permettant la survenue de la rechute. Enfin, du fait de cette cinétique de décroissance lente dans la moelle osseuse, plus des 2/3 des patients présentent une MRD détectable sur moelle osseuse à la fin du traitement alors que la grande majorité de ces patients ne présentera pas de rechute hématologique (rendant la MRD sur moelle osseuse peu prédictive de la rechute hématologique).

La recherche d'un seuil de MRD prédictif d'une rechute hématologique évaluée sur sang en fin de traitement nous a permis d'établir que les valeurs comprises entre 0,001% et 0,045% définissaient deux groupes avec des risques de rechute différents et de manière significative. Nos résultats sont similaires à ceux décrits dans la littérature puisque les différents auteurs retrouvaient un seuil à 0,001%, à 0,01% et 0,1% prédictifs d'une rechute hématologique.^{301,306,316,319}

Le 3^{ème} objectif de cette étude était de déterminer l'intérêt du suivi de la MRD sur sang tous les 3 mois pendant 2 ans dans la prédiction des rechutes hématologiques. Plusieurs arguments permettaient de focaliser notre attention sur l'évaluation de la

MRD sur sang : la corrélation des résultats obtenus sur sang et sur moelle osseuse déjà décrite, la facilité d'obtention d'un prélèvement sanguin permettant un suivi tous les 3 mois, le confort des patients en leur évitant un myélogramme régulier et la possible détection de rechutes sous la forme de sarcome granulocytaire. Ce choix est conforté à posteriori par la valeur pronostique de la MRD sur sang à la fin du traitement, résultat non retrouvé sur moelle osseuse. Un intervalle de 3 mois entre chaque prélèvement a été choisi en accord avec les données de la littérature où le délai médian entre la rechute moléculaire et la rechute hématologique était d'au moins 3 mois. Enfin, une durée de surveillance de 2 ans a été choisie arbitrairement car peu de rechutes hématologiques surviennent après 2 ans de traitement dans les LAM avec t(8;21).

De notre étude, on peut d'ores et déjà conclure que si un suivi de la MRD est nécessaire, ce suivi devra être supérieur à 2 ans puisque 4 des 30 rechutes hématologiques observées sont survenues au-delà de ce délai.

En étudiant la MRD sur sang en tant que variable qualitative (MRD détectable ou non), 87% des rechutes hématologiques ont été détectées et 3 profils évolutifs ont pu être mis en évidence : les patients en RC moléculaire persistante tout au long du suivi avec un risque de rechute faible et une survie globale prolongée (CIR à 4 ans de 6,1%, OS à 4 ans de 93,9%) et les patients dits réfractaires moléculaires (n'obtenant jamais de MRD indétectable sur sang) ou les patients en rechute moléculaire (présentant à nouveau une MRD détectable alors qu'ils avaient obtenu une RC moléculaire) avec un risque de rechute et de décès significativement plus élevé (CIR à 4 ans de 46,1% et 86,1%, OS à 4 ans de 64,5% et 41,3% respectivement).

Concernant les patients dits « réfractaires moléculaires » avec un suivi de la MRD parfaitement documenté, une rechute hématologique était observée avec une médiane de 6,2 mois à partir de la 3^{ème} cure de consolidation. Toutefois, le risque de rechute est probablement sous-estimé par le fait que nous ayons inclus dans ce groupe des patients présentant une MRD détectable sur le dernier prélèvement disponible mais n'ayant pas bénéficié du suivi moléculaire défini par le protocole (qui nous aurait peut être permis d'observer une négativation de la MRD). Il pourrait donc s'avérer judicieux d'intensifier le suivi moléculaire des patients présentant une MRD détectable en fin de traitement afin de mieux dépister ces patients à risque de rechute hématologique précoce. Le caractère quantitatif de la MRD en RQ-PCR pourrait alors être utilisé pour s'assurer de la décroissance du taux de transcrit.

Parmi les patients obtenant une RC moléculaire sur sang (MRD indétectable au cours du suivi), le délai médian de négativation de la MRD à partir de l'obtention de la RC hématologique de 2,5 mois. Notre étude différencie nettement les patients en RC moléculaire persistante des patients présentant une rechute moléculaire (obtention d'une MRD détectable) en termes de risque de rechute hématologique (CIR à 4 ans de 84,5% contre 5,7%). D'ailleurs, celle ci survient dans un délai médian de 3,3 mois après rechute moléculaire venant confirmer à posteriori le choix d'un suivi tous les 3 mois. Dans l'étude anglaise de Yin JA. et al, un seuil plus élevé de MRD à 0,1% a été associé à un risque de rechute de 100% contre 7% en cas de MRD <0,1%.³⁰⁶ La valeur pronostique de ce seuil semble confirmée sur notre cohorte mais malheureusement le délai médian observé entre la rechute moléculaire (définie par une MRD >0,1%) et la rechute hématologique est de 27 jours laissant peu de temps en pratique quotidienne pour une intervention thérapeutique après obtention des résultats biologiques.

Enfin, cette étude confirme les données de la littérature concernant les patients avec persistance d'une MRD détectable à long terme sur moelle osseuse alors même qu'ils ne présentent pas de rechute hématologique. Sept patients de notre étude possèdent ces caractéristiques. Outre le fait que cela n'incite pas à suivre la MRD sur moelle osseuse pour prédire les rechutes dans la pratique quotidienne, cette situation soulève une problématique scientifique intéressante. En effet, comment expliquer que l'on puisse détecter un transcrite de fusion spécifique d'une LAM dans la moelle osseuse sans observer de rechute hématologique ? Trois hypothèses pourraient permettre d'expliquer ce phénomène. On peut tout d'abord imaginer que la chimiothérapie a permis d'éradiquer un clone leucémique porteur d'une anomalie génique supplémentaire et responsable de la survenue de la LAM. Serait alors détecté en RC la population cellulaire uniquement porteuse de la t(8;21) dont on sait qu'elle n'est pas capable à elle-seule d'induire une LAM chez la souris et chez l'homme. Deuxième hypothèse possible, la chimiothérapie a permis de réduire la masse tumorale jusqu'à un seuil permettant au système immunitaire du patient de « contrôler » la prolifération cellulaire leucémique. Cette hypothèse est confortée par le fait que ces 7 patients présentent une MRD sur moelle osseuse <0,1%. Enfin, une dernière hypothèse peut être émise. On sait que la LAM avec t(8;21) est associée à un certain degré de différenciation et que le transcrite *RUNX1-RUNX1T1* peut être détecté chez les patients avec t(8;21) en RC dans les cellules souches mais également dans des progéniteurs myéloïdes/lymphoïdes et des cellules bien plus différenciées comme les monocytes et les lymphocytes B.³²¹ Ainsi, la MRD évaluée sur moelle osseuse pourrait être le reflet de la présence de cellules à longue durée de vie porteuses de la t(8;21) telles que les CSH, les lymphocytes B voire des

mastocytes.³²² Ces 2 dernières populations cellulaires différenciées serait alors détectée par la RQ-PCR mais incapable de générer une rechute de la LAM.

Au total, quelles conclusions et recommandations pratiques peuvent être tirées de cette étude?

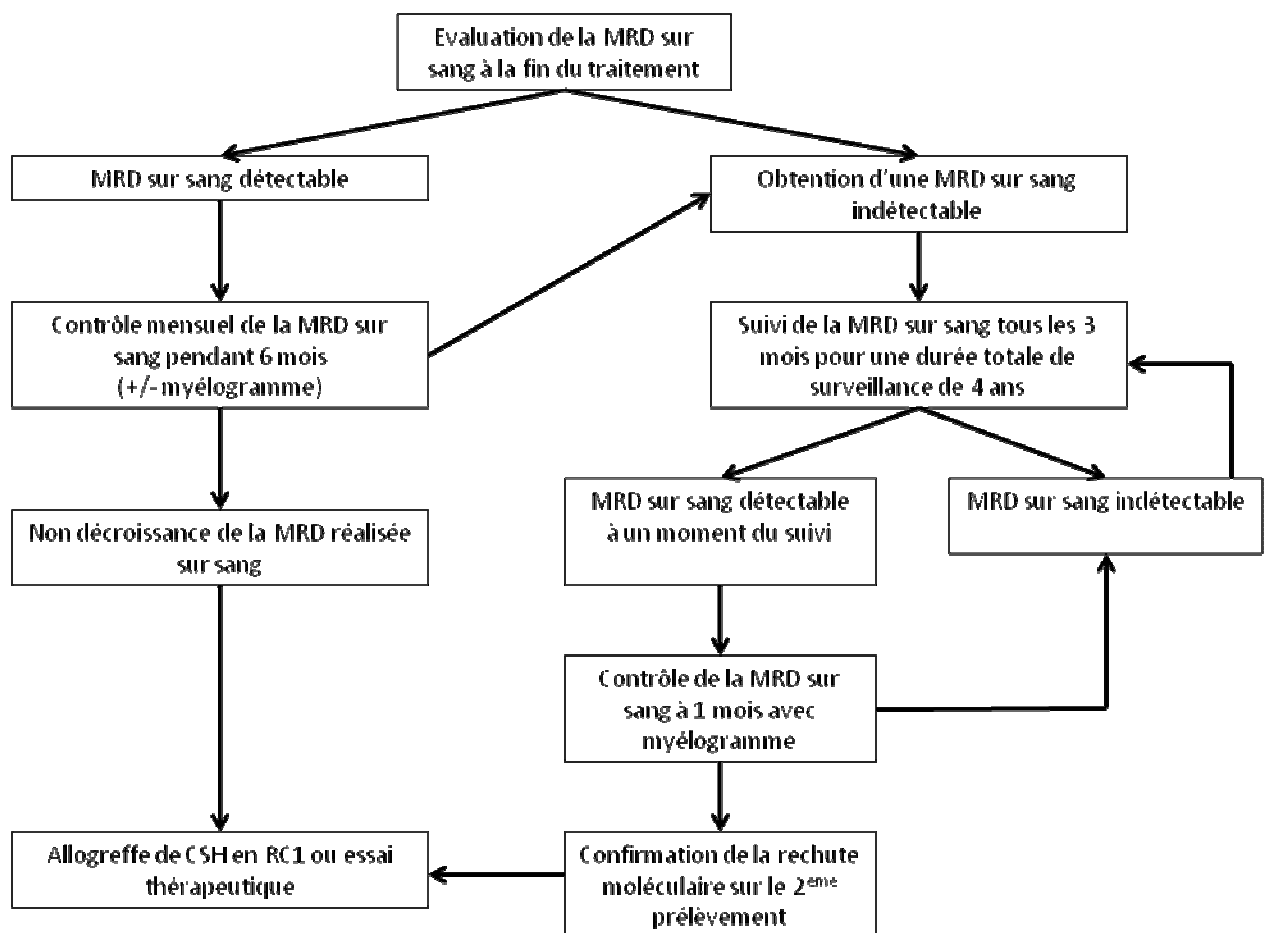
Il apparaît essentiel d'évaluer la MRD sur sang en fin de traitement afin notamment de détecter les patients réfractaires moléculaires (c'est-à-dire les patients n'obtenant jamais une MRD indétectable sur sang). Cette population de patient possède en effet un risque de rechute beaucoup plus élevé et bénéficierait probablement d'une intensification thérapeutique ou de la réalisation d'une allogreffe de CSH en 1^{ère} RC avant la survenue de la rechute hématologique. Il apparaît donc judicieux en cas de MRD détectable à la fin du traitement de contrôler plus fréquemment la MRD sur sang dans les 6 premiers mois suivant la fin du traitement.

En cas d'obtention d'une MRD indétectable sur sang, l'évaluation stricte de la MRD sur sang tous les 3 mois pour une période d'au moins 3 à 4 ans paraît nécessaire puisqu'elle permet vraisemblablement de détecter toute rechute hématologique avant sa survenue.

Enfin en cas de rechute moléculaire (définie par une MRD sur sang à nouveau détectable), un 2^{ème} prélèvement sanguin pourra être réalisé le plus tôt possible afin de confirmer la rechute moléculaire, associé à la réalisation d'un myélogramme. Si cette rechute moléculaire est confirmée, la rechute hématologique est imminente selon les résultats de notre étude et les patients dans cette situation devraient se voir offrir une allogreffe de CSH dans les plus brefs délais ou une thérapeutique innovante.

Les recommandations émises à l'issue de ce travail sont résumées dans la Figure 17.

Figure 17 : recommandations émises pour le suivi de la MRD dans les LAM avec t(8;21) en 1^{ère} RC à l'issue du traitement de consolidation et proposition de stratégie thérapeutique adaptée.



Ce schéma tire profit des résultats observés dans notre étude et a le mérite d'être simple concernant l'interprétation des données de RQ-PCR (MRD détectable ou non) et applicable en pratique afin de détecter les patients les plus à risque de rechute hématologique.

Toutefois, cette stratégie thérapeutique ne pourra démontrer son intérêt que dans le cadre d'une étude prospective testant l'intérêt de la mise en place d'un traitement préemptif de la rechute hématologique, comme l'allogreffe de CSH ou une thérapie innovante.

CONCLUSIONS

L'objectif de ce travail était de déterminer la valeur pronostique du suivi de la maladie résiduelle en RQ-PCR sur sang et sur moelle osseuse chez 96 patients en 1^{ère} RC d'une LAM avec t(8;21)(q22;q22) inclus dans une étude prospective.

La corrélation des valeurs de MRD obtenues sur sang et sur moelle osseuse a pu être confirmée dans notre étude avec toutefois de nombreux patients présentant au cours du traitement une MRD détectable sur moelle osseuse et non sur sang. Nous confirmons également les données de la littérature quant à la valeur pronostique de la MRD réalisée en fin de traitement sur le risque de rechute et sur la survie globale. Toutefois, seule la MRD étudiée sur sang semble prédictive de la rechute hématologique et du risque de décès. Enfin, nous confirmons l'intérêt pronostique du suivi de la MRD sur sang tous les 3 mois pendant au moins 2 ans après traitement puisque ce suivi permet de différencier 2 groupes de patients : les patients de très bon pronostic obtenant une réponse moléculaire persistante (ie MRD indétectable sur sang et persistante dans le temps), dont la thérapeutique ne mérite probablement pas de changement, et les patients à risque élevé de rechute. Parmi ces derniers, on pourra distinguer les patients qui n'obtiennent jamais une MRD indétectable sur sang (« réfractaires moléculaires ») et qui vont rechuter dans les 6 mois suivant la fin du traitement et les patients qui vont présenter une rechute moléculaire au cours du suivi (MRD à nouveau détectable sur sang) et qui vont rechuter à 3 mois de la rechute hématologique.

Notre étude montre donc qu'il est possible de différencier au cours du suivi les patients à risque de rechute hématologique dans les LAM avec t(8;21) et que l'étude de la MRD en RQ-PCR devrait être utilisée dans de futurs essais thérapeutiques où un traitement préemptif de la rechute hématologique serait entrepris.

BIBLIOGRAPHIE

1. Gilliland DG, Jordan CT, Felix CA. The molecular basis of leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2004;80-97.
2. Brown D, Kogan S, Lagasse E, et al. A PML/RARalpha transgene initiates murine acute promyelocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;94:2551-6.
3. Minelli A, Maserati E, Rossi G, et al. Familial platelet disorder with propensity to acute myelogenous leukemia: genetic heterogeneity and progression to leukemia via acquisition of clonal chromosome anomalies. *Genes Chromosomes Cancer* 2004;40:165-71.
4. Gilliland DG, Griffin JD. The roles of FLT3 in hematopoiesis and leukemia. *Blood* 2002;100:1532-42.
5. Kelly LM, Gilliland DG. Genetics of myeloid leukemias. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2002;3:179-98.
6. Kelly LM, Kutok JL, Williams IR, et al. PML/RARalpha and FLT3-ITD induce an APL-like disease in a mouse model. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:8283-8.
7. Delhommeau F, Dupont S, Della Valle V, et al. Mutation in TET2 in myeloid cancers. *N Engl J Med* 2009;360:2289-301.
8. Mardis ER, Ding L, Dooling DJ, et al. Recurring mutations found by sequencing an acute myeloid leukemia genome. *N Engl J Med* 2009;361:1058-66.
9. Ley TJ, Ding L, Walter MJ, et al. DNMT3A mutations in acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2010;363:2424-33.
10. Genomic and Epigenomic Landscapes of Adult De Novo Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med* 2013.
11. Welch JS, Ley TJ, Link DC, et al. The origin and evolution of mutations in acute myeloid leukemia. *Cell* 2012;150:264-78.
12. Lowenberg B, Downing JR, Burnett A. Acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 1999;341:1051-62.
13. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood* 2009;114:937-51.
14. Dohner H, Estey EH, Amadori S, 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;115:453-74.
15. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, et al. Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group. *Br J Haematol* 1976;33:451-8.
16. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, 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;103:620-5.
17. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, et al. Proposal for the recognition of minimally differentiated acute myeloid leukaemia (AML-MO). *Br J Haematol* 1991;78:325-9.
18. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, et al. Criteria for the diagnosis of acute leukemia of megakaryocyte lineage (M7). A report of the French-American-British Cooperative Group. *Ann Intern Med* 1985;103:460-2.
19. Appelbaum FR, Gundacker H, Head DR, et al. Age and acute myeloid leukemia. *Blood* 2006;107:3481-5.
20. Buchner T, Berdel WE, Haferlach 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;27:61-9.

21. Schoch C, Kern W, Schnittger S, Buchner T, Hiddemann W, Haferlach T. The influence of age on prognosis of de novo acute myeloid leukemia differs according to cytogenetic subgroups. *Haematologica* 2004;89:1082-90.
22. Frohling S, Schlenk RF, Kayser S, 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;108:3280-8.
23. Giles FJ, Borthakur G, Ravandi F, 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;136:624-7.
24. Hamaker ME, Jonker JM, de Rooij SE, Vos AG, Smorenburg CH, van Munster BC. Frailty screening methods for predicting outcome of a comprehensive geriatric assessment in elderly patients with cancer: a systematic review. *Lancet Oncol* 2012;13:e437-44.
25. Klepin HD, Geiger AM, Tooze JA, et al. Geriatric assessment predicts survival for older adults receiving induction chemotherapy for acute myelogenous leukemia. *Blood* 2013;121:4287-94.
26. Sorror ML, Maris MB, Storb R, et al. Hematopoietic cell transplantation (HCT)-specific comorbidity index: a new tool for risk assessment before allogeneic HCT. *Blood* 2005;106:2912-9.
27. Godley LA, Larson RA. Therapy-related myeloid leukemia. *Semin Oncol* 2008;35:418-29.
28. Nardi V, Winkfield KM, Ok CY, et al. Acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes after radiation therapy are similar to de novo disease and differ from other therapy-related myeloid neoplasms. *J Clin Oncol* 2012;30:2340-7.
29. Dutcher JP, Schiffer CA, Wiernik PH. Hyperleukocytosis in adult acute nonlymphocytic leukemia: impact on remission rate and duration, and survival. *J Clin Oncol* 1987;5:1364-72.
30. Senent L, Jarque I, Martin G, et al. P-glycoprotein expression and prognostic value in acute myeloid leukemia. *Haematologica* 1998;83:783-7.
31. Leith CP, Kopecky KJ, Godwin J, 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;89:3323-9.
32. Haferlach T, Schoch C, Loffler H, 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;21:256-65.
33. Wandt H, Schakel U, Kroschinsky F, et al. MLD according to the WHO classification in AML has no correlation with age and no independent prognostic relevance as analyzed in 1766 patients. *Blood* 2008;111:1855-61.
34. Slovak ML, Kopecky KJ, Cassileth PA, 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;96:4075-83.
35. Byrd JC, Mrozek K, Dodge RK, 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;100:4325-36.
36. Grimwade D, Hills RK, Moorman AV, 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;116:354-65.
37. Farag SS, Archer KJ, Mrozek K, 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;108:63-73.
 38. Breems DA, Van Putten WL, De Greef GE, et al. Monosomal karyotype in acute myeloid leukemia: a better indicator of poor prognosis than a complex karyotype. *J Clin Oncol* 2008;26:4791-7.
 39. 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;116:2224-8.
 40. Perrot A, Luquet I, Pigneux A, et al. Dismal prognostic value of monosomal karyotype in elderly patients with acute myeloid leukemia: a GOELAMS study of 186 patients with unfavorable cytogenetic abnormalities. *Blood* 2011;118:679-85.
 41. Haferlach C, Alpermann T, Schnittger S, et al. Prognostic value of monosomal karyotype in comparison to complex aberrant karyotype in acute myeloid leukemia: a study on 824 cases with aberrant karyotype. *Blood* 2012;119:2122-5.
 42. Grossmann V, Schnittger S, Kohlmann A, et al. A novel hierarchical prognostic model of AML solely based on molecular mutations. *Blood* 2012;120:2963-72.
 43. Falini B, Mecucci C, Tiacci E, et al. Cytoplasmic nucleophosmin in acute myelogenous leukemia with a normal karyotype. *N Engl J Med* 2005;352:254-66.
 44. Dohner K, Schlenk RF, Habdank M, 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;106:3740-6.
 45. Schnittger S, Schoch C, Kern W, et al. Nucleophosmin gene mutations are predictors of favorable prognosis in acute myelogenous leukemia with a normal karyotype. *Blood* 2005;106:3733-9.
 46. Thiede C, Koch S, Creutzig E, et al. Prevalence and prognostic impact of NPM1 mutations in 1485 adult patients with acute myeloid leukemia (AML). *Blood* 2006;107:4011-20.
 47. Haferlach C, Mecucci C, Schnittger S, et al. AML with mutated NPM1 carrying a normal or aberrant karyotype show overlapping biologic, pathologic, immunophenotypic, and prognostic features. *Blood* 2009;114:3024-32.
 48. Schlenk RF, Dohner K, Krauter J, et al. Mutations and treatment outcome in cytogenetically normal acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2008;358:1909-18.
 49. Marcucci G, Maharry K, Wu YZ, 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;28:2348-55.
 50. Paschka P, Schlenk RF, Gaidzik VI, et al. IDH1 and IDH2 mutations are frequent genetic alterations in acute myeloid leukemia and confer adverse prognosis in cytogenetically normal acute myeloid leukemia with NPM1 mutation without FLT3 internal tandem duplication. *J Clin Oncol* 2010;28:3636-43.
 51. Boissel N, Nibourel O, Renneville A, 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;28:3717-23.
 52. Wagner K, Damm F, Gohring G, et al. Impact of IDH1 R132 mutations and an IDH1 single nucleotide polymorphism in cytogenetically normal acute myeloid leukemia: SNP rs11554137 is an adverse prognostic factor. *J Clin Oncol* 2010;28:2356-64.

53. 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;116:5486-96.
54. Pabst T, Mueller BU, Zhang P, et al. Dominant-negative mutations of CEBPA, encoding CCAAT/enhancer binding protein-alpha (C/EBPalpha), in acute myeloid leukemia. *Nat Genet* 2001;27:263-70.
55. Preudhomme C, Sagot C, Boissel N, 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;100:2717-23.
56. Frohling S, Schlenk RF, Stolze I, 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;22:624-33.
57. Renneville A, Boissel N, Gachard N, et al. The favorable impact of CEBPA mutations in patients with acute myeloid leukemia is only observed in the absence of associated cytogenetic abnormalities and FLT3 internal duplication. *Blood* 2009;113:5090-3.
58. Green CL, Koo KK, Hills RK, Burnett AK, Linch DC, Gale RE. Prognostic significance of CEBPA mutations in a large cohort of younger adult patients with acute myeloid leukemia: impact of double CEBPA mutations and the interaction with FLT3 and NPM1 mutations. *J Clin Oncol* 2010;28:2739-47.
59. Taskesen E, Bullinger L, Corbacioglu A, et al. Prognostic impact, concurrent genetic mutations, and gene expression features of AML with CEBPA mutations in a cohort of 1182 cytogenetically normal AML patients: further evidence for CEBPA double mutant AML as a distinctive disease entity. *Blood* 2011;117:2469-75.
60. Wouters BJ, Lowenberg B, Erpelinck-Verschueren CA, van Putten WL, Valk PJ, 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;113:3088-91.
61. Nakao M, Yokota S, Iwai T, et al. Internal tandem duplication of the *flt3* gene found in acute myeloid leukemia. *Leukemia* 1996;10:1911-8.
62. Yamamoto Y, Kiyoi H, Nakano Y, et al. Activating mutation of D835 within the activation loop of FLT3 in human hematologic malignancies. *Blood* 2001;97:2434-9.
63. Kiyoi H, Naoe T, Nakano Y, et al. Prognostic implication of FLT3 and N-RAS gene mutations in acute myeloid leukemia. *Blood* 1999;93:3074-80.
64. Kottaridis PD, Gale RE, Frew ME, 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;98:1752-9.
65. Frohling S, Schlenk RF, Breitnick J, 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;100:4372-80.
66. Boissel N, Cayuela JM, Preudhomme C, et al. Prognostic significance of FLT3 internal tandem repeat in patients with de novo acute myeloid leukemia treated with reinforced courses of chemotherapy. *Leukemia* 2002;16:1699-704.
67. Whitman SP, Ruppert AS, Radmacher MD, 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;111:1552-9.

68. Bacher U, Haferlach C, Kern W, Haferlach T, Schnittger S. Prognostic relevance of FLT3-TKD mutations in AML: the combination matters--an analysis of 3082 patients. *Blood* 2008;111:2527-37.
69. Gale RE, Green C, Allen C, 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;111:2776-84.
70. Verhaak RG, Goudswaard CS, van Putten 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;106:3747-54.
71. Boissel N, Renneville A, Biggio V, et al. Prevalence, clinical profile, and prognosis of NPM mutations in AML with normal karyotype. *Blood* 2005;106:3618-20.
72. Suzuki T, Kiyoi H, Ozeki K, et al. Clinical characteristics and prognostic implications of NPM1 mutations in acute myeloid leukemia. *Blood* 2005;106:2854-61.
73. Dufour A, Schneider F, Metzeler KH, 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;28:570-7.
74. Thol F, Damm F, Wagner K, et al. Prognostic impact of IDH2 mutations in cytogenetically normal acute myeloid leukemia. *Blood* 2010;116:614-6.
75. Patel JP, Gonen M, Figueroa ME, et al. Prognostic relevance of integrated genetic profiling in acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2012;366:1079-89.
76. Shen Y, Zhu YM, Fan X, et al. Gene mutation patterns and their prognostic impact in a cohort of 1185 patients with acute myeloid leukemia. *Blood* 2011;118:5593-603.
77. Nibourel O, Kosmider O, Cheok M, et al. Incidence and prognostic value of TET2 alterations in de novo acute myeloid leukemia achieving complete remission. *Blood* 2010;116:1132-5.
78. Metzeler KH, Maharry K, Radmacher MD, 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;29:1373-81.
79. Chou WC, Chou SC, Liu CY, et al. TET2 mutation is an unfavorable prognostic factor in acute myeloid leukemia patients with intermediate-risk cytogenetics. *Blood* 2011;118:3803-10.
80. Gaidzik VI, Paschka P, Spath D, et al. TET2 mutations in acute myeloid leukemia (AML): results from a comprehensive genetic and clinical analysis of the AML study group. *J Clin Oncol* 2012;30:1350-7.
81. Weissmann S, Alpermann T, Grossmann V, et al. Landscape of TET2 mutations in acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2012;26:934-42.
82. Thol F, Damm F, Ludeking A, et al. Incidence and prognostic influence of DNMT3A mutations in acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2011;29:2889-96.
83. Renneville A, Boissel N, Nibourel O, et al. Prognostic significance of DNA methyltransferase 3A mutations in cytogenetically normal acute myeloid leukemia: a study by the Acute Leukemia French Association. *Leukemia* 2012;26:1247-54.
84. Marcucci G, Metzeler KH, Schwind S, et al. Age-related prognostic impact of different types of DNMT3A mutations in adults with primary cytogenetically normal acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2012;30:742-50.
85. Ribeiro AF, Pratcorona M, Erpelinck-Verschueren C, et al. Mutant DNMT3A: a marker of poor prognosis in acute myeloid leukemia. *Blood* 2012;119:5824-31.
86. Gaidzik VI, Schlenk RF, Paschka P, et al. Clinical impact of DNMT3A mutations in younger adult patients with acute myeloid leukemia: results of the AML Study Group (AMLSG). *Blood* 2013;121:4769-77.

87. Preudhomme C, Warot-Loze D, Roumier C, 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;96:2862-9.
88. Tang JL, Hou HA, Chen CY, 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;114:5352-61.
89. Gaidzik VI, Bullinger L, Schlenk RF, 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;29:1364-72.
90. Mendler JH, Maharry K, Radmacher MD, 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. *J Clin Oncol* 2012;30:3109-18.
91. Chou WC, Huang HH, Hou HA, et al. Distinct clinical and biological features of de novo acute myeloid leukemia with additional sex comb-like 1 (ASXL1) mutations. *Blood* 2010;116:4086-94.
92. Metzeler KH, Becker H, Maharry 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;118:6920-9.
93. Schnittger S, Eder C, Jeromin S, et al. ASXL1 exon 12 mutations are frequent in AML with intermediate risk karyotype and are independently associated with an adverse outcome. *Leukemia* 2013;27:82-91.
94. King-Underwood L, Renshaw J, Pritchard-Jones K. Mutations in the Wilms' tumor gene WT1 in leukemias. *Blood* 1996;87:2171-9.
95. Paschka P, Marcucci G, Ruppert AS, et al. Wilms' tumor 1 gene mutations independently predict poor outcome in adults with cytogenetically normal acute myeloid leukemia: a cancer and leukemia group B study. *J Clin Oncol* 2008;26:4595-602.
96. Renneville A, Boissel N, Zurawski V, et al. Wilms tumor 1 gene mutations are associated with a higher risk of recurrence in young adults with acute myeloid leukemia: a study from the Acute Leukemia French Association. *Cancer* 2009;115:3719-27.
97. Becker H, Marcucci G, Maharry K, et al. Mutations of the Wilms tumor 1 gene (WT1) in older patients with primary cytogenetically normal acute myeloid leukemia: a Cancer and Leukemia Group B study. *Blood* 2010;116:788-92.
98. Hou HA, Huang TC, Lin LI, et al. WT1 mutation in 470 adult patients with acute myeloid leukemia: stability during disease evolution and implication of its incorporation into a survival scoring system. *Blood* 2010;115:5222-31.
99. Caligiuri MA, Strout MP, Lawrence D, et al. Rearrangement of ALL1 (MLL) in acute myeloid leukemia with normal cytogenetics. *Cancer Res* 1998;58:55-9.
100. Schnittger S, Kinkelin U, Schoch C, et al. Screening for MLL tandem duplication in 387 unselected patients with AML identify a prognostically unfavorable subset of AML. *Leukemia* 2000;14:796-804.
101. Dohner K, Tobis K, Ulrich R, et al. Prognostic significance of partial tandem duplications of the MLL gene in adult patients 16 to 60 years old with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics: a study of the Acute Myeloid Leukemia Study Group Ulm. *J Clin Oncol* 2002;20:3254-61.
102. Keating MJ, Kantarjian H, Smith TL, et al. Response to salvage therapy and survival after relapse in acute myelogenous leukemia. *J Clin Oncol* 1989;7:1071-80.
103. Gale RP, Cline MJ. High remission-induction rate in acute myeloid leukaemia. *Lancet* 1977;1:497-9.

104. Preisler HD, Rustum Y, Henderson ES, et al. Treatment of acute nonlymphocytic leukemia: use of anthracycline-cytosine arabinoside induction therapy and comparison of two maintenance regimens. *Blood* 1979;53:455-64.
105. Lowenberg B, Ossenkoppele GJ, van Putten W, et al. High-dose daunorubicin in older patients with acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2009;361:1235-48.
106. Fernandez HF, Sun Z, Yao X, et al. Anthracycline dose intensification in acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2009;361:1249-59.
107. Lowenberg B, Pabst T, Vellenga E, et al. Cytarabine dose for acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2011;364:1027-36.
108. Castaigne S, Pautas C, Terre C, 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;379:1508-16.
109. Peterson BA, Bloomfield CD. Prolonged maintained remissions of adult acute nonlymphocytic leukaemia. *Lancet* 1977;2:158-60.
110. Vogler WR, Winton EF, Gordon DS, Raney MR, Go B, Meyer L. A randomized comparison of postremission therapy in acute myelogenous leukemia: a Southeastern Cancer Study Group trial. *Blood* 1984;63:1039-45.
111. Cassileth PA, Begg CB, Bennett JM, et al. A randomized study of the efficacy of consolidation therapy in adult acute nonlymphocytic leukemia. *Blood* 1984;63:843-7.
112. Cornelissen JJ, Gratwohl A, Schlenk RF, et al. The European LeukemiaNet AML Working Party consensus statement on allogeneic HSCT for patients with AML in remission: an integrated-risk adapted approach. *Nat Rev Clin Oncol* 2012;9:579-90.
113. Mayer RJ, Davis RB, Schiffer CA, et al. Intensive postremission chemotherapy in adults with acute myeloid leukemia. Cancer and Leukemia Group B. *N Engl J Med* 1994;331:896-903.
114. Gardin C, Turlure P, Fagot T, et al. Postremission treatment of elderly patients with acute myeloid leukemia in first complete remission after intensive induction chemotherapy: results of the multicenter randomized Acute Leukemia French Association (ALFA) 9803 trial. *Blood* 2007;109:5129-35.
115. Mohty M, de Lavallade H, El-Cheikh J, et al. Reduced intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation for patients with acute myeloid leukemia: long term results of a 'donor' versus 'no donor' comparison. *Leukemia* 2009;23:194-6.
116. Estey E, de Lima M, Tibes 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;109:1395-400.
117. Tilly H, Castaigne S, Bordessoule D, et al. Low-dose cytarabine versus intensive chemotherapy in the treatment of acute nonlymphocytic leukemia in the elderly. *J Clin Oncol* 1990;8:272-9.
118. Burnett AK, Milligan D, Prentice AG, 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;109:1114-24.
119. Mrozek K, Prior TW, Edwards C, et al. Comparison of cytogenetic and molecular genetic detection of t(8;21) and inv(16) in a prospective series of adults with de novo acute myeloid leukemia: a Cancer and Leukemia Group B Study. *J Clin Oncol* 2001;19:2482-92.
120. Vardiman JW, Harris NL, Brunning RD. The World Health Organization (WHO) classification of the myeloid neoplasms. *Blood* 2002;100:2292-302.

121. Grimwade D, Walker H, Oliver F, et al. The importance of diagnostic cytogenetics on outcome in AML: analysis of 1,612 patients entered into the MRC AML 10 trial. The Medical Research Council Adult and Children's Leukaemia Working Parties. *Blood* 1998;92:2322-33.
122. Rowley JD. Identification of a translocation with quinacrine fluorescence in a patient with acute leukemia. *Ann Genet* 1973;16:109-12.
123. Miyoshi H, Shimizu K, Kozu T, Maseki N, Kaneko Y, Ohki M. t(8;21) breakpoints on chromosome 21 in acute myeloid leukemia are clustered within a limited region of a single gene, AML1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991;88:10431-4.
124. Erickson P, Gao J, Chang KS, et al. Identification of breakpoints in t(8;21) acute myelogenous leukemia and isolation of a fusion transcript, AML1/ETO, with similarity to *Drosophila* segmentation gene, runt. *Blood* 1992;80:1825-31.
125. Wang Q, Stacy T, Miller JD, et al. The CBFbeta subunit is essential for CBFalpha2 (AML1) function in vivo. *Cell* 1996;87:697-708.
126. Okuda T, van Deursen J, Hiebert SW, Grosveld G, Downing JR. AML1, the target of multiple chromosomal translocations in human leukemia, is essential for normal fetal liver hematopoiesis. *Cell* 1996;84:321-30.
127. Zhang DE, Hetherington CJ, Meyers S, et al. CCAAT enhancer-binding protein (C/EBP) and AML1 (CBF alpha2) synergistically activate the macrophage colony-stimulating factor receptor promoter. *Mol Cell Biol* 1996;16:1231-40.
128. Petrovick MS, Hiebert SW, Friedman AD, Hetherington CJ, Tenen DG, Zhang DE. Multiple functional domains of AML1: PU.1 and C/EBPalpha synergize with different regions of AML1. *Mol Cell Biol* 1998;18:3915-25.
129. Huang G, Zhang P, Hirai H, et al. PU.1 is a major downstream target of AML1 (RUNX1) in adult mouse hematopoiesis. *Nat Genet* 2008;40:51-60.
130. Huang H, Yu M, Akie TE, et al. Differentiation-dependent interactions between RUNX-1 and FLI-1 during megakaryocyte development. *Mol Cell Biol* 2009;29:4103-15.
131. Libermann TA, Pan Z, Akbarali Y, et al. AML1 (CBFalpha2) cooperates with B cell-specific activating protein (BSAP/PAX5) in activation of the B cell-specific BLK gene promoter. *J Biol Chem* 1999;274:24671-6.
132. Elagib KE, Racke FK, Mogass M, Khetawat R, Delehanty LL, Goldfarb AN. RUNX1 and GATA-1 coexpression and cooperation in megakaryocytic differentiation. *Blood* 2003;101:4333-41.
133. Pencovich N, Jaschek R, Tanay A, Groner Y. Dynamic combinatorial interactions of RUNX1 and cooperating partners regulates megakaryocytic differentiation in cell line models. *Blood* 2011;117:e1-14.
134. Wang L, Gural A, Sun XJ, et al. The leukemogenicity of AML1-ETO is dependent on site-specific lysine acetylation. *Science* 2011;333:765-9.
135. Peterson LF, Boyapati A, Ahn EY, et al. Acute myeloid leukemia with the 8q22;21q22 translocation: secondary mutational events and alternative t(8;21) transcripts. *Blood* 2007;110:799-805.
136. Liu Y, Cheney MD, Gaudet JJ, et al. The tetramer structure of the Nrvy homology two domain, NHR2, is critical for AML1/ETO's activity. *Cancer Cell* 2006;9:249-60.
137. Wang J, Hoshino T, Redner RL, Kajigaya S, Liu JM. ETO, fusion partner in t(8;21) acute myeloid leukemia, represses transcription by interaction with the human N-CoR/mSin3/HDAC1 complex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:10860-5.
138. Yergeau DA, Hetherington CJ, Wang Q, et al. Embryonic lethality and impairment of haematopoiesis in mice heterozygous for an AML1-ETO fusion gene. *Nat Genet* 1997;15:303-6.
139. Zhang J, Kalkum M, Yamamura S, Chait BT, Roeder RG. E protein silencing by the leukemogenic AML1-ETO fusion protein. *Science* 2004;305:1286-9.

140. Kwok C, Zeisig BB, Qiu J, Dong S, So CW. Transforming activity of AML1-ETO is independent of CBFbeta and ETO interaction but requires formation of homo-oligomeric complexes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106:2853-8.
141. Yan M, Ahn EY, Hiebert SW, Zhang DE. RUNX1/AML1 DNA-binding domain and ETO/MTG8 NHR2-dimerization domain are critical to AML1-ETO9a leukemogenesis. *Blood* 2009;113:883-6.
142. Sun XJ, Wang Z, Wang L, et al. A stable transcription factor complex nucleated by oligomeric AML1-ETO controls leukaemogenesis. *Nature* 2013;500:93-7.
143. Heidenreich O, Krauter J, Riehle H, et al. AML1/MTG8 oncogene suppression by small interfering RNAs supports myeloid differentiation of t(8;21)-positive leukemic cells. *Blood* 2003;101:3157-63.
144. Schwieger M, Lohler J, Friel J, Scheller M, Horak I, Stocking C. AML1-ETO inhibits maturation of multiple lymphohematopoietic lineages and induces myeloblast transformation in synergy with ICSBP deficiency. *J Exp Med* 2002;196:1227-40.
145. McNeil S, Zeng C, Harrington KS, et al. The t(8;21) chromosomal translocation in acute myelogenous leukemia modifies intranuclear targeting of the AML1/CBFalpha2 transcription factor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96:14882-7.
146. Barseguian K, Lutterbach B, Hiebert SW, et al. Multiple subnuclear targeting signals of the leukemia-related AML1/ETO and ETO repressor proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:15434-9.
147. Pabst T, Mueller BU, Harakawa N, et al. AML1-ETO downregulates the granulocytic differentiation factor C/EBPalpha in t(8;21) myeloid leukemia. *Nat Med* 2001;7:444-51.
148. Cilloni D, Carturan S, Gottardi E, et al. Down-modulation of the C/EBPalpha transcription factor in core binding factor acute myeloid leukemias. *Blood* 2003;102:2705-6.
149. Vangala RK, Heiss-Neumann MS, Rangatia JS, et al. The myeloid master regulator transcription factor PU.1 is inactivated by AML1-ETO in t(8;21) myeloid leukemia. *Blood* 2003;101:270-7.
150. Khandanpour C, Thiede C, Valk PJ, et al. A variant allele of Growth Factor Independence 1 (GFI1) is associated with acute myeloid leukemia. *Blood* 2010;115:2462-72.
151. Cheng CK, Li L, Cheng SH, et al. Secreted-frizzled related protein 1 is a transcriptional repression target of the t(8;21) fusion protein in acute myeloid leukemia. *Blood* 2011;118:6638-48.
152. Fazi F, Racanicchi S, Zardo G, et al. Epigenetic silencing of the myelopoiesis regulator microRNA-223 by the AML1/ETO oncoprotein. *Cancer Cell* 2007;12:457-66.
153. Frank R, Zhang J, Uchida H, Meyers S, Hiebert SW, Nimer SD. The AML1/ETO fusion protein blocks transactivation of the GM-CSF promoter by AML1B. *Oncogene* 1995;11:2667-74.
154. Rhoades KL, Hetherington CJ, Rowley JD, et al. Synergistic up-regulation of the myeloid-specific promoter for the macrophage colony-stimulating factor receptor by AML1 and the t(8;21) fusion protein may contribute to leukemogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93:11895-900.
155. Shimizu K, Kitabayashi I, Kamada N, et al. AML1-MTG8 leukemic protein induces the expression of granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) receptor through the up-regulation of CCAAT/enhancer binding protein epsilon. *Blood* 2000;96:288-96.
156. Peterson LF, Yan M, Zhang DE. The p21Waf1 pathway is involved in blocking leukemogenesis by the t(8;21) fusion protein AML1-ETO. *Blood* 2007;109:4392-8.
157. Li Y, Gao L, Luo X, et al. Epigenetic silencing of microRNA-193a contributes to leukemogenesis in t(8;21) acute myeloid leukemia by activating the PTEN/PI3K signal pathway. *Blood* 2013;121:499-509.

158. Klampfer L, Zhang J, Zelenetz AO, Uchida H, Nimer SD. The AML1/ETO fusion protein activates transcription of BCL-2. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93:14059-64.
159. Chou FS, Griesinger A, Wunderlich M, et al. The thrombopoietin/MPL/Bcl-xL pathway is essential for survival and self-renewal in human preleukemia induced by AML1-ETO. *Blood* 2012;120:709-19.
160. Alcalay M, Meani N, Gelmetti V, et al. Acute myeloid leukemia fusion proteins deregulate genes involved in stem cell maintenance and DNA repair. *J Clin Invest* 2003;112:1751-61.
161. Krejci O, Wunderlich M, Geiger H, et al. p53 signaling in response to increased DNA damage sensitizes AML1-ETO cells to stress-induced death. *Blood* 2008;111:2190-9.
162. Linggi B, Muller-Tidow C, van de Locht L, et al. The t(8;21) fusion protein, AML1 ETO, specifically represses the transcription of the p14(ARF) tumor suppressor in acute myeloid leukemia. *Nat Med* 2002;8:743-50.
163. Li Z, Lu J, Sun M, et al. Distinct microRNA expression profiles in acute myeloid leukemia with common translocations. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:15535-40.
164. Rhoades KL, Hetherington CJ, Harakawa N, et al. Analysis of the role of AML1-ETO in leukemogenesis, using an inducible transgenic mouse model. *Blood* 2000;96:2108-15.
165. Buchholz F, Refaeli Y, Trumpp A, Bishop JM. Inducible chromosomal translocation of AML1 and ETO genes through Cre/loxP-mediated recombination in the mouse. *EMBO Rep* 2000;1:133-9.
166. Yuan Y, Zhou L, Miyamoto T, et al. AML1-ETO expression is directly involved in the development of acute myeloid leukemia in the presence of additional mutations. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98:10398-403.
167. Higuchi M, O'Brien D, Kumaravelu P, Lenny N, Yeoh EJ, Downing JR. Expression of a conditional AML1-ETO oncogene bypasses embryonic lethality and establishes a murine model of human t(8;21) acute myeloid leukemia. *Cancer Cell* 2002;1:63-74.
168. Fenske TS, Pengue G, Mathews V, et al. Stem cell expression of the AML1/ETO fusion protein induces a myeloproliferative disorder in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:15184-9.
169. de Guzman CG, Warren AJ, Zhang Z, et al. Hematopoietic stem cell expansion and distinct myeloid developmental abnormalities in a murine model of the AML1-ETO translocation. *Mol Cell Biol* 2002;22:5506-17.
170. Mulloy JC, Cammenga J, Berguido FJ, et al. Maintaining the self-renewal and differentiation potential of human CD34+ hematopoietic cells using a single genetic element. *Blood* 2003;102:4369-76.
171. Bausecke J, Schwieger M, Griesinger F, et al. AML1/ETO promotes the maintenance of early hematopoietic progenitors in NOD/SCID mice but does not abrogate their lineage specific differentiation. *Leuk Lymphoma* 2005;46:265-72.
172. Wiemels JL, Xiao Z, Buffler PA, et al. In utero origin of t(8;21) AML1-ETO translocations in childhood acute myeloid leukemia. *Blood* 2002;99:3801-5.
173. Bausecke J, Cepek L, Mannhalter C, et al. Transcription of AML1/ETO in bone marrow and cord blood of individuals without acute myelogenous leukemia. *Blood* 2002;100:2267-8.
174. Miyamoto T, Nagafuji K, Akashi K, et al. Persistence of multipotent progenitors expressing AML1/ETO transcripts in long-term remission patients with t(8;21) acute myelogenous leukemia. *Blood* 1996;87:4789-96.
175. Yan M, Burel SA, Peterson LF, et al. Deletion of an AML1-ETO C-terminal NcoR/SMRT-interacting region strongly induces leukemia development. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:17186-91.

176. Yan M, Kanbe E, Peterson LF, et al. A previously unidentified alternatively spliced isoform of t(8;21) transcript promotes leukemogenesis. *Nat Med* 2006;12:945-9.
177. Ahn EY, Yan M, Malakhova OA, et al. Disruption of the NHR4 domain structure in AML1-ETO abrogates SON binding and promotes leukemogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:17103-8.
178. Wang YY, Zhou GB, Yin T, et al. AML1-ETO and C-KIT mutation/overexpression in t(8;21) leukemia: implication in stepwise leukemogenesis and response to Gleevec. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:1104-9.
179. Wang YY, Zhao LJ, Wu CF, et al. C-KIT mutation cooperates with full-length AML1-ETO to induce acute myeloid leukemia in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011;108:2450-5.
180. Nick HJ, Kim HG, Chang CW, Harris KW, Reddy V, Klug CA. Distinct classes of c-Kit-activating mutations differ in their ability to promote RUNX1-ETO-associated acute myeloid leukemia. *Blood* 2012;119:1522-31.
181. Chou FS, Wunderlich M, Griesinger A, Mulloy JC. N-Ras(G12D) induces features of stepwise transformation in preleukemic human umbilical cord blood cultures expressing the AML1-ETO fusion gene. *Blood* 2011;117:2237-40.
182. Schessl C, Rawat VP, Cusan M, et al. The AML1-ETO fusion gene and the FLT3 length mutation collaborate in inducing acute leukemia in mice. *J Clin Invest* 2005;115:2159-68.
183. Grisolano JL, O'Neal J, Cain J, Tomasson MH. An activated receptor tyrosine kinase, TEL/PDGFBetaR, cooperates with AML1/ETO to induce acute myeloid leukemia in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:9506-11.
184. Schlenk RF, Benner A, Krauter J, et al. Individual patient data-based meta-analysis of patients aged 16 to 60 years with core binding factor acute myeloid leukemia: a survey of the German Acute Myeloid Leukemia Intergroup. *J Clin Oncol* 2004;22:3741-50.
185. Kuchenbauer F, Schnittger S, Look T, et al. Identification of additional cytogenetic and molecular genetic abnormalities in acute myeloid leukaemia with t(8;21)/AML1-ETO. *Br J Haematol* 2006;134:616-9.
186. Marcucci G, Mrozek K, Ruppert AS, et al. Prognostic factors and outcome of core binding factor acute myeloid leukemia patients with t(8;21) differ from those of patients with inv(16): a Cancer and Leukemia Group B study. *J Clin Oncol* 2005;23:5705-17.
187. Appelbaum FR, Kopecky KJ, Tallman MS, et al. The clinical spectrum of adult acute myeloid leukaemia associated with core binding factor translocations. *Br J Haematol* 2006;135:165-73.
188. Grimwade D, Walker H, Harrison G, 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;98:1312-20.
189. Slovak ML, Bedell V, Popplewell L, Arber DA, Schoch C, Slater R. 21q22 balanced chromosome aberrations in therapy-related hematopoietic disorders: report from an international workshop. *Genes Chromosomes Cancer* 2002;33:379-94.
190. Quesnel B, Kantarjian H, Bjergaard JP, et al. Therapy-related acute myeloid leukemia with t(8;21), inv(16), and t(8;16): a report on 25 cases and review of the literature. *J Clin Oncol* 1993;11:2370-9.
191. Borthakur G, Lin E, Jain N, et al. Survival is poorer in patients with secondary core-binding factor acute myelogenous leukemia compared with de novo core-binding factor leukemia. *Cancer* 2009;115:3217-21.
192. Gustafson SA, Lin P, Chen SS, et al. Therapy-related acute myeloid leukemia with t(8;21) (q22;q22) shares many features with de novo acute myeloid leukemia with t(8;21)(q22;q22) but does not have a favorable outcome. *Am J Clin Pathol* 2009;131:647-55.

193. Tallman MS, Hakimian D, Shaw JM, Lissner GS, Russell EJ, Variakojis D. Granulocytic sarcoma is associated with the 8;21 translocation in acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 1993;11:690-7.
194. Byrd JC, Weiss RB, Arthur DC, et al. Extramedullary leukemia adversely affects hematologic complete remission rate and overall survival in patients with t(8;21)(q22;q22): results from Cancer and Leukemia Group B 8461. *J Clin Oncol* 1997;15:466-75.
195. Trujillo JM, Cork A, Ahearn MJ, Youness EL, McCredie KB. Hematologic and cytologic characterization of 8/21 translocation acute granulocytic leukemia. *Blood* 1979;53:695-706.
196. Berger R, Bernheim A, Daniel MT, Valensi F, Sigaux F, Flandrin G. Cytologic characterization and significance of normal karyotypes in t(8;21) acute myeloblastic leukemia. *Blood* 1982;59:171-8.
197. O'Brien S, Kantarjian HM, Keating M, et al. Association of granulocytosis with poor prognosis in patients with acute myelogenous leukemia and translocation of chromosomes 8 and 21. *J Clin Oncol* 1989;7:1081-6.
198. Nguyen S, Leblanc T, Fenaux P, et al. A white blood cell index as the main prognostic factor in t(8;21) acute myeloid leukemia (AML): a survey of 161 cases from the French AML Intergroup. *Blood* 2002;99:3517-23.
199. Jourdan E, Boissel N, Chevret S, et al. Prospective evaluation of gene mutations and minimal residual disease in patients with core binding factor acute myeloid leukemia. *Blood* 2013;121:2213-23.
200. Baer MR, Stewart CC, Lawrence D, et al. Expression of the neural cell adhesion molecule CD56 is associated with short remission duration and survival in acute myeloid leukemia with t(8;21)(q22;q22). *Blood* 1997;90:1643-8.
201. Daniels JT, Davis BJ, Houde-McGrail L, Byrd JC. Clonal selection of CD56+ t(8;21) AML blasts: further suggestion of the adverse clinical significance of this biological marker? *Br J Haematol* 1999;107:381-3.
202. Sakurai M, Oshimura M, Kakati S, Sandberg AA. Letter: 8-21 translocation and missing sex chromosomes in acute leukaemia. *Lancet* 1974;2:227-8.
203. Schoch C, Haase D, Haferlach T, et al. Fifty-one patients with acute myeloid leukemia and translocation t(8;21)(q22;q22): an additional deletion in 9q is an adverse prognostic factor. *Leukemia* 1996;10:1288-95.
204. Nishii K, Usui E, Katayama N, et al. Characteristics of t(8;21) acute myeloid leukemia (AML) with additional chromosomal abnormality: concomitant trisomy 4 may constitute a distinctive subtype of t(8;21) AML. *Leukemia* 2003;17:731-7.
205. Medeiros BC, Othus M, Fang M, Appelbaum FR, Estey EH. Impact of residual normal metaphases in core binding factor acute myeloid leukemia. *Cancer* 2012;118:2420-3.
206. Beghini A, Peterlongo P, Ripamonti CB, et al. C-kit mutations in core binding factor leukemias. *Blood* 2000;95:726-7.
207. Gari M, Goodeve A, Wilson G, et al. c-kit proto-oncogene exon 8 in-frame deletion plus insertion mutations in acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol* 1999;105:894-900.
208. Care RS, Valk PJ, Goodeve AC, et al. Incidence and prognosis of c-KIT and FLT3 mutations in core binding factor (CBF) acute myeloid leukaemias. *Br J Haematol* 2003;121:775-7.
209. Nanri T, Matsuno N, Kawakita T, et al. Mutations in the receptor tyrosine kinase pathway are associated with clinical outcome in patients with acute myeloblastic leukemia harboring t(8;21)(q22;q22). *Leukemia* 2005;19:1361-6.
210. Boissel N, Leroy H, Brethon B, et al. Incidence and prognostic impact of c-Kit, FLT3, and Ras gene mutations in core binding factor acute myeloid leukemia (CBF-AML). *Leukemia* 2006;20:965-70.

211. Schnittger S, Kohl TM, Haferlach T, et al. KIT-D816 mutations in AML1-ETO-positive AML are associated with impaired event-free and overall survival. *Blood* 2006;107:1791-9.
212. Cairoli R, Beghini A, Grillo G, et al. Prognostic impact of c-KIT mutations in core binding factor leukemias: an Italian retrospective study. *Blood* 2006;107:3463-8.
213. Paschka P, Marcucci G, Ruppert AS, et al. Adverse prognostic significance of KIT mutations in adult acute myeloid leukemia with inv(16) and t(8;21): a Cancer and Leukemia Group B Study. *J Clin Oncol* 2006;24:3904-11.
214. Kim HJ, Ahn HK, Jung CW, et al. KIT D816 mutation associates with adverse outcomes in core binding factor acute myeloid leukemia, especially in the subgroup with RUNX1/RUNX1T1 rearrangement. *Ann Hematol* 2013;92:163-71.
215. Allen C, Hills RK, Lamb K, et al. The importance of relative mutant level for evaluating impact on outcome of KIT, FLT3 and CBL mutations in core-binding factor acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2013.
216. Cairoli R, Grillo G, Beghini A, et al. C-Kit point mutations in core binding factor leukemias: correlation with white blood cell count and the white blood cell index. *Leukemia* 2003;17:471-2.
217. Beghini A, Ripamonti CB, Cairoli R, et al. KIT activating mutations: incidence in adult and pediatric acute myeloid leukemia, and identification of an internal tandem duplication. *Haematologica* 2004;89:920-5.
218. Jiao B, Wu CF, Liang Y, et al. AML1-ETO9a is correlated with C-KIT overexpression/mutations and indicates poor disease outcome in t(8;21) acute myeloid leukemia-M2. *Leukemia* 2009;23:1598-604.
219. Opatz S, Polzer H, Herold T, et al. Exome sequencing identifies recurring FLT3 N676K mutations in core-binding factor leukemia. *Blood* 2013.
220. Yoon JH, Kim HJ, Shin SH, et al. BAALC and WT1 expressions from diagnosis to hematopoietic stem cell transplantation: consecutive monitoring in adult patients with core-binding-factor-positive AML. *Eur J Haematol* 2013;91:112-21.
221. Hoyos M, Nomdedeu JF, Esteve J, et al. Core binding factor acute myeloid leukemia: the impact of age, leukocyte count, molecular findings, and minimal residual disease. *Eur J Haematol* 2013.
222. Schoch C, Kohlmann A, Schnittger S, et al. Acute myeloid leukemias with reciprocal rearrangements can be distinguished by specific gene expression profiles. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:10008-13.
223. Valk PJ, Verhaak RG, Beijen MA, et al. Prognostically useful gene-expression profiles in acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2004;350:1617-28.
224. Bullinger L, Dohner K, Bair E, et al. Use of gene-expression profiling to identify prognostic subclasses in adult acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2004;350:1605-16.
225. Bullinger L, Rucker FG, Kurz S, et al. Gene-expression profiling identifies distinct subclasses of core binding factor acute myeloid leukemia. *Blood* 2007;110:1291-300.
226. Holmes R, Keating MJ, Cork A, et al. A unique pattern of central nervous system leukemia in acute myelomonocytic leukemia associated with inv(16)(p13q22). *Blood* 1985;65:1071-8.
227. Bradstock KF, Matthews JP, Lowenthal RM, et al. A randomized trial of high-versus conventional-dose cytarabine in consolidation chemotherapy for adult de novo acute myeloid leukemia in first remission after induction therapy containing high-dose cytarabine. *Blood* 2005;105:481-8.
228. Bloomfield CD, Lawrence D, Byrd JC, et al. Frequency of prolonged remission duration after high-dose cytarabine intensification in acute myeloid leukemia varies by cytogenetic subtype. *Cancer Res* 1998;58:4173-9.

229. Byrd JC, Dodge RK, Carroll A, 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;17:3767-75.
230. Byrd JC, Ruppert AS, Mrozek K, 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;22:1087-94.
231. Neubauer A, Maharry K, Mrozek K, et al. Patients with acute myeloid leukemia and RAS mutations benefit most from postremission high-dose cytarabine: a Cancer and Leukemia Group B study. *J Clin Oncol* 2008;26:4603-9.
232. Schaich M, Rollig C, Soucek S, et al. Cytarabine dose of 36 g/m² compared with 12 g/m² within first consolidation in acute myeloid leukemia: results of patients enrolled onto the prospective randomized AML96 study. *J Clin Oncol* 2011;29:2696-702.
233. Moore JO, George SL, Dodge RK, et al. Sequential multiagent chemotherapy is not superior to high-dose cytarabine alone as postremission intensification therapy for acute myeloid leukemia in adults under 60 years of age: Cancer and Leukemia Group B Study 9222. *Blood* 2005;105:3420-7.
234. Thomas X, Elhamri M, Raffoux E, et al. Comparison of high-dose cytarabine and timed-sequential chemotherapy as consolidation for younger adults with AML in first remission: the ALFA-9802 study. *Blood* 2011;118:1754-62.
235. Schaich M, Parmentier S, Kramer M, et al. High-dose cytarabine consolidation with or without additional amsacrine and mitoxantrone in acute myeloid leukemia: results of the prospective randomized AML2003 trial. *J Clin Oncol* 2013;31:2094-102.
236. Gorin NC, Labopin M, Frassoni F, et al. Identical outcome after autologous or allogeneic genoidentical hematopoietic stem-cell transplantation in first remission of acute myelocytic leukemia carrying inversion 16 or t(8;21): a retrospective study from the European Cooperative Group for Blood and Marrow Transplantation. *J Clin Oncol* 2008;26:3183-8.
237. Fernandez HF, Sun Z, Litzow MR, et al. Autologous transplantation gives encouraging results for young adults with favorable-risk acute myeloid leukemia, but is not improved with gemtuzumab ozogamicin. *Blood* 2011;117:5306-13.
238. Cornelissen JJ, van Putten WL, Verdonck LF, 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;109:3658-66.
239. Schlenk RF, Pasquini MC, Perez WS, et al. HLA-identical sibling allogeneic transplants versus chemotherapy in acute myelogenous leukemia with t(8;21) in first complete remission: collaborative study between the German AML Intergroup and CIBMTR. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008;14:187-96.
240. Koreth J, Schlenk R, Kopecky KJ, 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;301:2349-61.
241. Burnett AK, Hills RK, Milligan D, et al. Identification of patients with acute myeloblastic leukemia who benefit from the addition of gemtuzumab ozogamicin: results of the MRC AML15 trial. *J Clin Oncol* 2011;29:369-77.
242. Petersdorf SH, Kopecky KJ, Slovak M, et al. A phase 3 study of gemtuzumab ozogamicin during induction and postconsolidation therapy in younger patients with acute myeloid leukemia. *Blood* 2013;121:4854-60.
243. Lowenberg B, Beck J, Graux C, et al. Gemtuzumab ozogamicin as postremission treatment in AML at 60 years of age or more: results of a multicenter phase 3 study. *Blood* 2010;115:2586-91.

244. Burnett AK, Russell NH, Hills RK, et al. Addition of gemtuzumab ozogamicin to induction chemotherapy improves survival in older patients with acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2012;30:3924-31.
245. Prebet T, Boissel N, Reutenauer S, et al. Acute myeloid leukemia with translocation (8;21) or inversion (16) in elderly patients treated with conventional chemotherapy: a collaborative study of the French CBF-AML intergroup. *J Clin Oncol* 2009;27:4747-53.
246. Burnett AK, Hills RK, Hunter AE, et al. The addition of gemtuzumab ozogamicin to low-dose Ara-C improves remission rate but does not significantly prolong survival in older patients with acute myeloid leukaemia: results from the LRF AML14 and NCRI AML16 pick-a-winner comparison. *Leukemia* 2013;27:75-81.
247. Chevallier P, Roland V, Mahe B, et al. Administration of mylotarg 4 days after beginning of a chemotherapy including intermediate-dose aracytin and mitoxantrone (MIDAM regimen) produces a high rate of complete hematologic remission in patients with CD33+ primary resistant or relapsed acute myeloid leukemia. *Leuk Res* 2005;29:1003-7.
248. Prebet T, Etienne A, Devillier R, et al. Improved outcome of patients with low- and intermediate-risk cytogenetics acute myeloid leukemia (AML) in first relapse with gemtuzumab and cytarabine versus cytarabine: results of a retrospective comparative study. *Cancer* 2011;117:974-81.
249. de Labarthe A, Pautas C, Thomas X, et al. Allogeneic stem cell transplantation in second rather than first complete remission in selected patients with good-risk acute myeloid leukemia. *Bone Marrow Transplant* 2005;35:767-73.
250. Kurosawa S, Miyawaki S, Yamaguchi T, et al. Prognosis of core-binding factor acute myeloid leukemia after first relapse. *Haematologica* 2013.
251. Buccisano F, Maurillo L, Del Principe MI, et al. Prognostic and therapeutic implications of minimal residual disease detection in acute myeloid leukemia. *Blood* 2012;119:332-41.
252. Hourigan CS, Karp JE. Minimal residual disease in acute myeloid leukaemia. *Nat Rev Clin Oncol* 2013.
253. Gabert J, Beillard E, van der Velden VH, et al. Standardization and quality control studies of 'real-time' quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction of fusion gene transcripts for residual disease detection in leukemia - a Europe Against Cancer program. *Leukemia* 2003;17:2318-57.
254. Gross S, Cairns RA, Minden MD, et al. Cancer-associated metabolite 2-hydroxyglutarate accumulates in acute myelogenous leukemia with isocitrate dehydrogenase 1 and 2 mutations. *J Exp Med* 2010;207:339-44.
255. Fathi AT, Sadrzadeh H, Borger DR, et al. Prospective serial evaluation of 2-hydroxyglutarate, during treatment of newly diagnosed acute myeloid leukemia, to assess disease activity and therapeutic response. *Blood* 2012;120:4649-52.
256. Dinardo CD, Propert KJ, Loren AW, et al. Serum 2-hydroxyglutarate levels predict isocitrate dehydrogenase mutations and clinical outcome in acute myeloid leukemia. *Blood* 2013;121:4917-24.
257. Park S, Schalling M, Bernard A, et al. The Wilms tumour gene WT1 is expressed in murine mesoderm-derived tissues and mutated in a human mesothelioma. *Nat Genet* 1993;4:415-20.
258. Inoue K, Sugiyama H, Ogawa H, et al. WT1 as a new prognostic factor and a new marker for the detection of minimal residual disease in acute leukemia. *Blood* 1994;84:3071-9.
259. Cilloni D, Renneville A, Hermitte F, et al. Real-time quantitative polymerase chain reaction detection of minimal residual disease by standardized WT1 assay to enhance risk

- stratification in acute myeloid leukemia: a European LeukemiaNet study. *J Clin Oncol* 2009;27:5195-201.
260. Lapillonne H, Renneville A, Auvrignon A, et al. High WT1 expression after induction therapy predicts high risk of relapse and death in pediatric acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2006;24:1507-15.
261. Ommen HB, Nyvold CG, Braendstrup K, et al. Relapse prediction in acute myeloid leukaemia patients in complete remission using WT1 as a molecular marker: development of a mathematical model to predict time from molecular to clinical relapse and define optimal sampling intervals. *Br J Haematol* 2008;141:782-91.
262. Gianfaldoni G, Mannelli F, Ponziani V, et al. Early reduction of WT1 transcripts during induction chemotherapy predicts for longer disease free and overall survival in acute myeloid leukemia. *Haematologica* 2010;95:833-6.
263. Pozzi S, Geroldi S, Tedone E, et al. Leukaemia relapse after allogeneic transplants for acute myeloid leukaemia: predictive role of WT1 expression. *Br J Haematol* 2013;160:503-9.
264. Schnittger S, Kern W, Tschulik C, et al. Minimal residual disease levels assessed by NPM1 mutation-specific RQ-PCR provide important prognostic information in AML. *Blood* 2009;114:2220-31.
265. Gorello P, Cazzaniga G, Alberti F, et al. Quantitative assessment of minimal residual disease in acute myeloid leukemia carrying nucleophosmin (NPM1) gene mutations. *Leukemia* 2006;20:1103-8.
266. Kronke J, Schlenk RF, Jensen KO, et al. Monitoring of minimal residual disease in NPM1-mutated acute myeloid leukemia: a study from the German-Austrian acute myeloid leukemia study group. *J Clin Oncol* 2011;29:2709-16.
267. Shayegi N, Kramer M, Bornhauser M, et al. The level of residual disease based on mutant NPM1 is an independent prognostic factor for relapse and survival in AML. *Blood* 2013;122:83-92.
268. Sockel K, Wermke M, Radke J, et al. Minimal residual disease-directed preemptive treatment with azacitidine in patients with NPM1-mutant acute myeloid leukemia and molecular relapse. *Haematologica* 2011;96:1568-70.
269. Schnittger S, Bacher U, Haferlach T, et al. Development and validation of a real-time quantification assay to detect and monitor BRAFV600E mutations in hairy cell leukemia. *Blood* 2012;119:3151-4.
270. Chou WC, Hou HA, Liu CY, et al. Sensitive measurement of quantity dynamics of FLT3 internal tandem duplication at early time points provides prognostic information. *Ann Oncol* 2011;22:696-704.
271. Abdelhamid E, Preudhomme C, Helevaut N, et al. Minimal residual disease monitoring based on FLT3 internal tandem duplication in adult acute myeloid leukemia. *Leuk Res* 2012;36:316-23.
272. Schiller J, Praulich I, Krings Rocha C, Kreuzer KA. Patient-specific analysis of FLT3 internal tandem duplications for the prognostication and monitoring of acute myeloid leukemia. *Eur J Haematol* 2012;89:53-62.
273. Kottaridis PD, Gale RE, Langabeer SE, Frew ME, Bowen DT, Linch DC. Studies of FLT3 mutations in paired presentation and relapse samples from patients with acute myeloid leukemia: implications for the role of FLT3 mutations in leukemogenesis, minimal residual disease detection, and possible therapy with FLT3 inhibitors. *Blood* 2002;100:2393-8.
274. Cloos J, Goemans BF, Hess CJ, et al. Stability and prognostic influence of FLT3 mutations in paired initial and relapsed AML samples. *Leukemia* 2006;20:1217-20.
275. Lin LI, Chen CY, Lin DT, et al. Characterization of CEBPA mutations in acute myeloid leukemia: most patients with CEBPA mutations have biallelic mutations and show a distinct immunophenotype of the leukemic cells. *Clin Cancer Res* 2005;11:1372-9.

276. Smith LL, Pearce D, Smith ML, et al. Development of a quantitative real-time polymerase chain reaction method for monitoring CEBPA mutations in normal karyotype acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol* 2006;133:103-5.
277. Weisser M, Kern W, Schoch C, Hiddemann W, Haferlach T, Schnittger S. Risk assessment by monitoring expression levels of partial tandem duplications in the MLL gene in acute myeloid leukemia during therapy. *Haematologica* 2005;90:881-9.
278. Hou HA, Kuo YY, Liu CY, et al. DNMT3A mutations in acute myeloid leukemia: stability during disease evolution and clinical implications. *Blood* 2012;119:559-68.
279. Diverio D, Rossi V, Avvisati G, et al. Early detection of relapse by prospective reverse transcriptase-polymerase chain reaction analysis of the PML/RARalpha fusion gene in patients with acute promyelocytic leukemia enrolled in the GIMEMA-AIEOP multicenter "AIDA" trial. *GIMEMA-AIEOP Multicenter "AIDA" Trial. Blood* 1998;92:784-9.
280. Santamaria C, Chillon MC, Fernandez C, et al. Using quantification of the PML-RARalpha transcript to stratify the risk of relapse in patients with acute promyelocytic leukemia. *Haematologica* 2007;92:315-22.
281. Grimwade D, Jovanovic JV, Hills RK, et al. Prospective minimal residual disease monitoring to predict relapse of acute promyelocytic leukemia and to direct pre-emptive arsenic trioxide therapy. *J Clin Oncol* 2009;27:3650-8.
282. Chendamarai E, Balasubramanian P, George B, et al. Role of minimal residual disease monitoring in acute promyelocytic leukemia treated with arsenic trioxide in frontline therapy. *Blood* 2012;119:3413-9.
283. Abildgaard L, Ommen HB, Lausen B, Hasle H, Nyvold CG. A novel RT-qPCR assay for quantification of the MLL-MLLT3 fusion transcript in acute myeloid leukaemia. *Eur J Haematol* 2013.
284. Ostergaard M, Stentoft J, Hokland P. A real-time quantitative RT-PCR assay for monitoring DEK-CAN fusion transcripts arising from translocation t(6;9) in acute myeloid leukemia. *Leuk Res* 2004;28:1213-5.
285. Scholl C, Breitinger H, Schlenk RF, Dohner H, Frohling S, Dohner K. Development of a real-time RT-PCR assay for the quantification of the most frequent MLL/AF9 fusion types resulting from translocation t(9;11)(p22;q23) in acute myeloid leukemia. *Genes Chromosomes Cancer* 2003;38:274-80.
286. Mitterbauer G, Zimmer C, Pirc-Danoewinata H, et al. Monitoring of minimal residual disease in patients with MLL-AF6-positive acute myeloid leukaemia by reverse transcriptase polymerase chain reaction. *Br J Haematol* 2000;109:622-8.
287. Nucifora G, Birn DJ, Erickson P, et al. Detection of DNA rearrangements in the AML1 and ETO loci and of an AML1/ETO fusion mRNA in patients with t(8;21) acute myeloid leukemia. *Blood* 1993;81:883-8.
288. Marcucci G, Caligiuri MA, Bloomfield CD. Defining the "absence" of the CBFbeta/MYH11 fusion transcript in patients with acute myeloid leukemia and inversion of chromosome 16 to predict long-term complete remission: a call for definitions. *Blood* 1997;90:5022-4.
289. Costello R, Sainty D, Blaise D, et al. Prognosis value of residual disease monitoring by polymerase chain reaction in patients with CBF beta/MYH11-positive acute myeloblastic leukemia. *Blood* 1997;89:2222-3.
290. Morschhauser F, Cayuela JM, Martini S, et al. Evaluation of minimal residual disease using reverse-transcription polymerase chain reaction in t(8;21) acute myeloid leukemia: a multicenter study of 51 patients. *J Clin Oncol* 2000;18:788-94.
291. Martinelli G, Ottaviani E, Testoni N, Montefusco V, Pastano R, Tura S. Long-term disease-free acute myeloblastic leukemia with inv(16) is associated with PCR undetectable CBFbeta/MYH11 transcript. *Haematologica* 2000;85:552-5.

292. Nucifora G, Larson RA, Rowley JD. Persistence of the 8;21 translocation in patients with acute myeloid leukemia type M2 in long-term remission. *Blood* 1993;82:712-5.
293. Kusec R, Laczika K, Knobl P, et al. AML1/ETO fusion mRNA can be detected in remission blood samples of all patients with t(8;21) acute myeloid leukemia after chemotherapy or autologous bone marrow transplantation. *Leukemia* 1994;8:735-9.
294. Jurlander J, Caligiuri MA, Ruutu T, et al. Persistence of the AML1/ETO fusion transcript in patients treated with allogeneic bone marrow transplantation for t(8;21) leukemia. *Blood* 1996;88:2183-91.
295. Elmaagacli AH, Beelen DW, Stockova J, et al. Detection of AML1/ETO fusion transcripts in patients with t(8;21) acute myeloid leukemia after allogeneic bone marrow transplantation or peripheral blood progenitor cell transplantation. *Blood* 1997;90:3230-1.
296. Tobal K, Yin JA. Monitoring of minimal residual disease by quantitative reverse transcriptase-polymerase chain reaction for AML1-MTG8 transcripts in AML-M2 with t(8;21). *Blood* 1996;88:3704-9.
297. Tobal K, Newton J, Macheta M, et al. Molecular quantitation of minimal residual disease in acute myeloid leukemia with t(8;21) can identify patients in durable remission and predict clinical relapse. *Blood* 2000;95:815-9.
298. Marcucci G, Livak KJ, Bi W, Strout MP, Bloomfield CD, Caligiuri MA. Detection of minimal residual disease in patients with AML1/ETO-associated acute myeloid leukemia using a novel quantitative reverse transcription polymerase chain reaction assay. *Leukemia* 1998;12:1482-9.
299. Guerrasio A, Pilatrin C, De Micheli D, et al. Assessment of minimal residual disease (MRD) in CBFbeta/MYH11-positive acute myeloid leukemias by qualitative and quantitative RT-PCR amplification of fusion transcripts. *Leukemia* 2002;16:1176-81.
300. Stentoft J, Hokland P, Ostergaard M, Hasle H, Nyvold CG. Minimal residual core binding factor AMLs by real time quantitative PCR--initial response to chemotherapy predicts event free survival and close monitoring of peripheral blood unravels the kinetics of relapse. *Leuk Res* 2006;30:389-95.
301. Ommen HB, Schnittger S, Jovanovic JV, et al. Strikingly different molecular relapse kinetics in NPM1c, PML-RARA, RUNX1-RUNX1T1, and CBFb-MYH11 acute myeloid leukemias. *Blood* 2010;115:198-205.
302. Guieze R, Renneville A, Cayuela JM, et al. Prognostic value of minimal residual disease by real-time quantitative PCR in acute myeloid leukemia with CBFb-MYH11 rearrangement: the French experience. *Leukemia* 2010;24:1386-8.
303. van der Reijden BA, Simons A, Luiten E, et al. Minimal residual disease quantification in patients with acute myeloid leukaemia and inv(16)/CBFB-MYH11 gene fusion. *Br J Haematol* 2002;118:411-8.
304. Boeckx N, De Roover J, van der Velden VH, et al. Quantification of CBFb-MYH11 fusion gene levels in paired peripheral blood and bone marrow samples by real-time PCR. *Leukemia* 2005;19:1988-90.
305. Corbacioglu A, Scholl C, Schlenk RF, et al. Prognostic impact of minimal residual disease in CBFb-MYH11-positive acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2010;28:3724-9.
306. Yin JA, O'Brien MA, Hills RK, Daly SB, Wheatley K, Burnett AK. Minimal residual disease monitoring by quantitative RT-PCR in core binding factor AML allows risk stratification and predicts relapse: results of the United Kingdom MRC AML-15 trial. *Blood* 2012;120:2826-35.
307. Marcucci G, Caligiuri MA, Dohner H, et al. Quantification of CBFbeta/MYH11 fusion transcript by real time RT-PCR in patients with INV(16) acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2001;15:1072-80.

308. Schnittger S, Weisser M, Schoch C, Hiddemann W, Haferlach T, Kern W. New score predicting for prognosis in PML-RARA+, AML1-ETO+, or CBFbMYH11+ acute myeloid leukemia based on quantification of fusion transcripts. *Blood* 2003;102:2746-55.
309. Krauter J, Gorlich K, Ottmann O, et al. Prognostic value of minimal residual disease quantification by real-time reverse transcriptase polymerase chain reaction in patients with core binding factor leukemias. *J Clin Oncol* 2003;21:4413-22.
310. Perea G, Lasa A, Aventin A, et al. Prognostic value of minimal residual disease (MRD) in acute myeloid leukemia (AML) with favorable cytogenetics [t(8;21) and inv(16)]. *Leukemia* 2006;20:87-94.
311. Hoyos M, Nomdedeu JF, Esteve J, et al. Core binding factor acute myeloid leukemia: the impact of age, leukocyte count, molecular findings, and minimal residual disease. *Eur J Haematol* 2013;91:209-18.
312. Buonamici S, Ottaviani E, Testoni N, et al. Real-time quantitation of minimal residual disease in inv(16)-positive acute myeloid leukemia may indicate risk for clinical relapse and may identify patients in a curable state. *Blood* 2002;99:443-9.
313. Martinelli G, Rondoni M, Buonamici S, et al. Molecular monitoring to identify a threshold of CBFbeta/MYH11 transcript below which continuous complete remission of acute myeloid leukemia inv16 is likely. *Haematologica* 2004;89:495-7.
314. Laczika K, Novak M, Hilgarth B, et al. Competitive CBFbeta/MYH11 reverse-transcriptase polymerase chain reaction for quantitative assessment of minimal residual disease during postremission therapy in acute myeloid leukemia with inversion(16): a pilot study. *J Clin Oncol* 1998;16:1519-25.
315. Clozel T, Renneville A, Venot M, et al. Slow relapse in acute myeloid leukemia with inv(16) or t(16;16). *Haematologica* 2009;94:1466-8.
316. Leroy H, de Botton S, Gardel-Duflos N, et al. Prognostic value of real-time quantitative PCR (RQ-PCR) in AML with t(8;21). *Leukemia* 2005;19:367-72.
317. Zhu HH, Zhang XH, Qin YZ, et al. MRD-directed risk stratification treatment may improve outcomes of t(8;21) AML in the first complete remission: results from the AML05 multicenter trial. *Blood* 2013;121:4056-62.
318. Yoo SJ, Chi HS, Jang S, et al. Quantification of AML1-ETO fusion transcript as a prognostic indicator in acute myeloid leukemia. *Haematologica* 2005;90:1493-501.
319. Weisser M, Haferlach C, Hiddemann W, Schnittger S. The quality of molecular response to chemotherapy is predictive for the outcome of AML1-ETO-positive AML and is independent of pretreatment risk factors. *Leukemia* 2007;21:1177-82.
320. Krauter J, Wattjes MP, Nagel S, et al. Real-time RT-PCR for the detection and quantification of AML1/MTG8 fusion transcripts in t(8;21)-positive AML patients. *Br J Haematol* 1999;107:80-5.
321. Miyamoto T, Weissman IL, Akashi K. AML1/ETO-expressing nonleukemic stem cells in acute myelogenous leukemia with 8;21 chromosomal translocation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97:7521-6.
322. Cornet E, Dumezy F, Roumier C, et al. Involvement of a common progenitor cell in core binding factor acute myeloid leukaemia associated with mastocytosis. *Leuk Res* 2012;36:1330-3.

AUTEUR : Nom : WILLEKENS

Prénom : Christophe

Date de Soutenance : 11 / 10 / 2013

Titre de la Thèse : Intérêt du suivi de la maladie résiduelle en RQ-PCR après traitement dans les leucémies aigues myéloïdes avec translocation t(8;21)(q22;q22).

Thèse - Médecine - Lille 2013

Cadre de classement : *DES Hématologie – Maladies du sang*

Mots-clés : Leucémie aigue myéloïde, CBF, t(8;21), maladie résiduelle, RQ-PCR

Résumé :

Contexte : Les leucémies aigues myéloïdes (LAM) avec t(8;21)(q22;q22) sont caractérisées par la fusion des gènes *RUNX1* et *RUNX1T1*. La présence du transcrite de fusion peut être suivie par PCR quantitative (RQ-PCR) permettant de détecter la « maladie résiduelle » (MRD) et potentiellement les patients qui vont présenter une rechute hématologique (30% des cas environ).

Méthodes : Dans cette étude, une évaluation prospective de la MRD par RQ-PCR a été réalisée sur sang à la fin du traitement puis tous les 3 mois pendant 2 ans et sur moelle osseuse à la fin du traitement puis tous les ans pendant 2 ans.

Résultats : Sur une cohorte de 96 patients, la MRD lorsque qu'elle est détectable sur sang en fin de traitement est un facteur de risque de rechute et de décès (incidence cumulée de rechute (CIR) à 4 ans à 50,9% contre 24,5%, p=0,015 ; survie globale (OS) à 4 ans à 63,6% contre 96,2%, p=0,004) mais pas sur moelle osseuse. Le suivi de la MRD sur sang permet de distinguer 3 profils de patients aux pronostics significativement différents (p=0,001) : les patients en réponse moléculaire de bon pronostic pour qui la MRD reste indétectable pendant le suivi (CIR à 4 ans de 6,1%, OS à 4 ans de 93,9%), les patients dits réfractaires moléculaires pour qui la MRD reste toujours détectable (CIR à 4 ans de 46,1%, OS à 4 ans de 64,5%) et les patients présentant une rechute moléculaire définie par une MRD redevenant détectable après négativation (CIR à 4 ans de 86,1%, OS à 4 ans de 41,3%).

Conclusion : En cas de LAM avec t(8;21)(q22;q22), une évaluation de la MRD sur sang en fin de traitement et au cours du suivi tous les 3 mois pendant 4 ans permet de différencier des sous-groupes pronostiques de patients et de détecter la survenue d'une rechute hématologique.

Composition du Jury :

Président : Professeur Jean-Pierre JOUET.

Asseseurs : Professeur Nicolas BOISSEL, Docteur Stéphane DE BOTTON, Docteur Céline BERTHON, Professeur Claude PREUDHOMME (directeur de thèse).