

Place des agents hypométhylants dans les hémopathies malignes de l'enfant : étude rétrospective de l'administration d'Azacitidine dans trois centres d'hématologie d'Île-de-France

Émilie Saucier

▶ **To cite this version:**

Émilie Saucier. Place des agents hypométhylants dans les hémopathies malignes de l'enfant : étude rétrospective de l'administration d'Azacitidine dans trois centres d'hématologie d'Île-de-France. Médecine humaine et pathologie. 2019. dumas-03190565

HAL Id: dumas-03190565

https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03190565

Submitted on 2 Sep 2021

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

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



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

UNIVERSITÉ PARIS DESCARTES

AVERTISSEMENT

Cette thèse d'exercice est le fruit d'un travail approuvé par le jury de soutenance et réalisé dans le but d'obtenir le diplôme d'Etat de docteur en médecine. Ce document est mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt toute poursuite pénale.

Code de la Propriété Intellectuelle. Articles L 122.4

Code de la Propriété Intellectuelle. Articles L 335.2-L 335.10

USPC
Université Sorbonne Paris Cité

UNIVERSITÉ PARIS DESCARTES

Faculté de Médecine PARIS DESCARTES

Année 2019 N°115

THÈSE

POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT

DE

DOCTEUR EN MÉDECINE

Place des agents hypométhylants dans les hémopathies malignes de l'enfant : étude rétrospective de l'administration d'Azacitidine dans trois centres d'hématologie d'Île-de-France

Présentée et soutenue publiquement
le 5 septembre 2019

Par

Émilie SAUCIER

Née le 15 février 1987 à Paris

Dirigée par Dirigée par M. Le Professeur André BARUCHEL

Jury :

M. Le Professeur Guy Leverger, PU-PH ..... Président

M. Le Professeur André Baruchel, PU-PH

M. Le Professeur Nicolas Boissel, PU-PH

M. Le Professeur Pierre Fenaux, PU-PH

USPC Université Sorbonne Paris Cité

CC BY NC ND

UNIVERSITÉ PARIS DESCARTES

AVERTISSEMENT

Cette thèse d'exercice est le fruit d'un travail approuvé par le jury de soutenance et réalisé dans le but d'obtenir le diplôme d'Etat de docteur en médecine. Ce document est mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt toute poursuite pénale.

Code de la Propriété Intellectuelle. Articles L 122.4

Code de la Propriété Intellectuelle. Articles L 335.2-L 335.10

USPC Université Sorbonne Paris Cité

Remerciements

Mes plus sincères remerciements vont aux membres du jury, qui me font l'honneur de bien vouloir lire et discuter ce travail.
Je remercie le Pr Baruchel, qui a dirigé cette thèse. J'ai eu l'opportunité de travailler au sein de votre service, ce qui a fait naître mon goût pour l'hématologie. Je vous remercie pour votre rigueur et votre pédagogie, qui m'ont permis de conduire ce travail à son terme.
Je remercie le Pr Leverger, qui me fait l'honneur de présider ce jury. Votre pédagogie et vos travaux ont nourri ma curiosité pour l'oncologie pédiatrique.
Je remercie le Pr Fenaux, qui me fait l'honneur d'être membre de ce jury. Vos travaux ont guidé ma recherche, et je suis très heureuse que vous ayez accepté de juger ce travail.
Je remercie enfin le Pr Boissel, qui me fait l'honneur d'être membre de ce jury. J'ai eu l'immense plaisir de travailler dans votre service, et y ai beaucoup appris. Je vous remercie pour vos qualités pédagogiques et humaines.

Je remercie Antoine Schernberg dont la splendeur des courbes a fait une différence significative.

Je remercie Chantal, secrétaire du service d'hématologie de l'hôpital R. Debré, dont la disponibilité et l'efficacité ont été précieuses à la réalisation de ce travail.

J'adresse mes remerciements à tous les médecins qui m'ont transmis leur savoir tout au long de mon parcours.
Merci au Dr Laurence Brugières. Votre bienveillance, votre soutien, votre rigueur et votre énergie m'ont portée tout au long de mon internat.
Merci au Pr Scoazec et au Dr Pasqualini qui m'ont accompagnée et soutenue au cours de mon année de Master 2.
Merci au Dr Valteau-Couannet, pour la confiance que vous m'avez accordée et dont j'espère être digne au cours des deux années à venir.
Merci aux docteures Sylvie Sauvion, Mony Fahd, Nathalie Dhédin, Aurélie Cabannes-Hamy et Julie Starck, qui ont été des sources d'inspiration.

Je remercie les chef.fe.s de cliniques et assistant.e.s qui m'ont tellement appris, et dont j'espère être à la hauteur.
Je remercie particulièrement le Dr Charlotte Rigaud et le Dr Marie-Emilie Dourthe, qui m'ont transmis leur passion pour l'oncologie pédiatrique. Votre soutien et votre bonne humeur ont été nécessaires, votre rigueur et votre empathie inspirantes.
Je remercie aussi le Dr Aurélien Galerne, le Dr Samuel Abbou, le Dr Julien Hogan, le Dr Maria Jesus Lobon Iglesias, le Dr Aurélie Cabannes-Hamy, le Dr Cécile Valentin et le Dr Jean-Eudes Piloquet.

Je remercie tou.te.s mes co-internes, sans qui l'internat aurait été BEAUCOUP moins rigolo : Alice, Glagla, Louis, Lulu, Roro, Rita, Eric, Laura, Charlotte, Claire, Alexandra, Edouard, Jason, Alexis, Sylvanna, Caro, Jérèm, Pinar, Pauline, Guillaume et tou.te.s les autres.

À ma famille, à mes amis,

Je remercie mes parents pour leur soutien inconditionnel, durant mes longues années d'études. Je vous remercie également pour vos relectures multiples, et courageuses. Malgré la rudesse du propos pour des non-initiés, vous avez toujours été d'une pertinence et d'une aide précieuses.
Je remercie mes sœurs, Jeanne et Clémentine, pour leur aide informatique et leur soutien sans faille.

Je remercie mes copines de toujours, Camille, Daphné et Tina. Vous avez toujours été là pour moi.
Camille, je te remercie pour ton enthousiasme à toute épreuve, et ton écoute engagée.
Daphné, je ne te remercierai jamais assez pour ton soutien et ton amour sans faille. Cette thèse est ta thèse. Ton admiration, tes conseils avisés, tes relectures subtiles, mais aussi tes petits plats gourmets, tes massages bienvenus et ta mise en page splendide, font de toi la clé de voûte de ce travail.
Tina, je te remercie pour m'avoir supportée dans toutes les épreuves difficiles de ces années de médecine. Tu as été mon repère, ma boussole. Jusqu'à ta dernière relecture attentive, tu as toujours été là pour moi.

Olivia, mon seul regret sera de ne jamais avoir été ta co-interne. Même si tu ne marches plus dans mes traces, j'espère que l'avenir nous réserve autant de fou-rires que le passé.

Chamy, travailler à tes côtés ces dernières semaines a été salvateur. Tu es mon modèle de sérieux, et de rigueur. J'espère que toi aussi, un jour, tu écriras tes remerciements. Pour te remercier, j'ai prévu des toasts à la harissa.

Alice, tu as été le rayon de soleil de mon internat. Ton humour, ton soutien et ton regard impitoyable sur ma garde-robe ont fait de moi une interne comblée et stylée. Je te remercie également pour ta relecture attentive et pertinente.

Merci aussi à : Max, Zach, Sarah, Gaby, Diane, Marie L., Marie O., Xou, Arthur, Romain, Julien, Kévin, Vivien, Margaux.

Et enfin…
Aurélien, je ne te remercierai jamais assez pour ton soutien, ta patience, tes attentions du quotidien, et tes powerpoints. Ton amour, digne de celui d'un bichon maltais pour ses croquettes, est d'une valeur inestimable.

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS **3**

TABLE DES MATIERES **5**

TABLE DES FIGURES **8**

TABLE DES TABLEAUX **9**

LISTE DES ABREVIATIONS **10**

INTRODUCTION **12**

1. ÉPIGENETIQUE ET CANCER **12**

1.1 Épigenetique : une nouvelle histoire du cancer 12

1.2 Methylation de l'ADN : mecanismes et enjeux 12

1.3 Agents hypomethylants : exemple de l'Azacitidine 14

1.4 Place des agents hypomethylants en hematologie adulte 14

2. HEMOPATHIES MYELOÏDES PEDIATRIQUES : MISE AU POINT **16**

2.1 Leucemies aiguës myeloïdes 16

2.1.1 Épidemiologie 16

2.1.2 Diagnostic 16

2.1.3 Nosologie 16

2.1.4 Prise en charge therapeutique 18

2.1.5 Profils de methylation des LAM de l'enfant 20

2.2 Leucemies myelomonocytaires juveniles 20

2.2.1 Épidemiologie 20

2.2.2 Diagnostic 21

2.2.3 Anomalies genetiques 21

2.2.4 Prise en charge therapeutique 22

2.2.5 Profils de methylation des LMMJ 22

2.3 Syndromes myelodysplasiques 23

2.3.1 Épidemiologie 23

2.3.2 Diagnostic 23

2.3.3 Nosologie 23

2.3.4 Prise en charge therapeutique 24

2.3.5 Profils de methylation des SMD de l'enfant 24

3. AZANUCLEOSIDES EN HEMATOLOGIE PEDIATRIQUE : REVUE DE LA LITTERATURE 25

3.1 Rapports de cas 25

3.2 Études retrospectives de series de patients 28

3.3 Études prospectives 31

OBJECTIF 34

MATERIEL ET METHODE 34

1. POPULATION 34

2. ÉVALUATION DE LA REPONSE A L'AZACITIDINE 35

2.1 Leucemies aiguës myeloïdes 35

2.2 Leucemies myelomonocytaires juveniles 35

2.3 Syndromes myelodysplasiques 38

3. ÉVALUATION DE LA TOLERANCE DE L'AZACITIDINE 40

4. ANALYSE STATISTIQUE 40

RESULTATS 41

1. LEUCEMIES AIGUËS MYELOÏDES (N = 16) 42

1.1 Caracteristiques initiales des patients 42

1.2 Description des traitements reçus 44

1.3 Évaluation de la reponse a l'Azacitidine 46

1.3.1 Statut des patients a l'initiation de l'Azacitidine 46

1.3.2 Reponse a l'Azacitidine 47

2. LEUCEMIES MYELOMONOCYTAIRES JUVENILES (N = 6) 51

2.1 Caracteristiques initiales des patients 51

2.2 Description des traitements reçus 53

2.3 Évaluation de la reponse a l'Azacitidine 55

2.3.1 Statut des patients a l'initiation de l'Azacitidine 55

2.3.2 Reponse a l'Azacitidine 55

3. SYNDROMES MYELODYSPLASIQUES (N = 7) 58

3.1 Caracteristiques initiales des patients 58

3.2 Description des traitements reçus 60

3.3 Évaluation de la reponse a l'Azacitidine 62

3.3.1 Statut des patients a l'initiation de l'Azacitidine 62

3.3.2 Reponse a l'Azacitidine 62

4. AUTRES PATHOLOGIES (N = 3)..... 65

4.1 Caracteristiques initiales des patients 65

4.2 Description des traitements reçus 67

4.3 Évaluation de la reponse a l'Azacitidine 69

4.3.1 Statut des patients a l'initiation de l'Azacitidine 69

4.3.2 Reponse a l'Azacitidine 69

5. DEVENIR DES PATIENTS 71

5.1 Donnees de survie des patients 71

5.2 Devenir des patients allogreffes au decours de l'Azacitidine 73

6. ÉVALUATION DE LA TOLERANCE DE L'AZACITIDINE..... 75

6.1 Tolerance hematologique..... 76

6.1.1 Tolerance hematologique : analyse par cure 76

6.1.2 Tolerance hematologique : analyse par equivalent-patient 77

6.2 Tolerance non hematologique : analyse par cure 78

DISCUSSION 81

CONCLUSION..... 90

ANNEXES..... 91

REFERENCES..... 93

RESUME/ ABSTRACT..... 105

TABLE DES FIGURES

Figure 1 Modèle des mécanismes de méthylation *de novo* et de maintenance de la méthylation 13
Figure 2 Distribution du nombre de patients traités par Azacitidine par année 42
Figure 3 Survie sans événement après initiation de l'Azacitidine chez les patients présentant une LAM, selon le statut de la maladie 49
Figure 4 Survie globale des patients présentant une LAM, selon le statut de la maladie 49
Figure 5 Survie globale des patients toutes pathologies confondues 71
Figure 6 Survie globale des patients selon leur pathologie 72
Figure 7 Survie sans événement après initiation de l'Azacitidine des patients, selon leur pathologie 72
Figure 8 Survie globale des patients, selon qu'ils aient ou non reçu une allogreffe de CSH au décours de l'Azacitidine 74
Figure 9 Distribution des grades de toxicité observés par effet indésirable hématologique et par cure d'Azacitidine 77
Figure 10 Distribution du grade maximal de toxicité observé par effet indésirable hématologique, et par équivalent-patient 78
Figure 11 Distribution des grades de toxicité observés par effet indésirable non hématologique fréquent et par cure d'Azacitidine 79

TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1 Stratification des groupes de risque cytogénétique et moléculaire des LAM de l'adulte, selon le groupe ELN-2017 17
Tableau 2 Stratification des groupes de risque cytogénétique et moléculaire des LAM, dans le protocole Myechild01 18
Tableau 3 Résultats des principales études pédiatriques multicentriques sur la prise en charge des LAM 19
Tableau 4 Incidence des mutations épigénétiques dans les LAM en fonction de l'âge 20
Tableau 5 Rapports de cas pédiatriques sur l'administration des azanucléosides 27
Tableau 6 Études rétrospectives pédiatriques portant sur l'administration des azanucléosides 30
Tableau 7 Études prospectives pédiatriques portant sur l'administration des azanucléosides . 33
Tableau 8 LMMJ : Critères d'évaluation de la réponse thérapeutique 37
Tableau 9 SMD : Critères d'évaluation de la réponse thérapeutique 39
Tableau 10 Caractéristiques initiales des patients présentant une LAM 43
Tableau 11 Description des traitements reçus par les patients présentant une LAM 45
Tableau 12 Évaluation de la réponse à l'Azacitidine chez les patients présentant une LAM .. 50
Tableau 13 Caractéristiques initiales des patients présentant une LMMJ 52
Tableau 14 Description des traitements reçus par les patients présentant une LMMJ 54
Tableau 15 Évaluation de la réponse à l'Azacitidine chez les patients présentant une LMMJ 57
Tableau 16 Caractéristiques initiales des patients présentant un SMD 59
Tableau 17 Description des traitements reçus par les patients présentant un SMD 61
Tableau 18 Évaluation de la réponse à l'Azacitidine chez les patients présentant un SMD 64
Tableau 19 Caractéristiques initiales des patients présentant une pathologie autre 66
Tableau 20 Description des traitements reçus par les patients présentant une pathologie autre 68
Tableau 21 Évaluation de la réponse à l'Azacitidine chez les patients présentant une pathologie autre 70

Liste des abreviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

AID : Activation-induced cytidine deaminase

AIEOP : Associazione italiana di ematologia e oncologia pediatrica

AML1-ETO : Acute myeloid leukemia 1-eight twenty one

AMM : Autorisation de mise sur le marché

APOBEC : Apolipoprotein B mRNA editing enzyme, catalytic polypeptide-like

AraC : Aracytine

ARN : Acide ribonucléique

ATCD : Antécédent

AZA : Azacitidine

BCL-2 : B-cell lymphoma 2

BCORL1 : BCL6 corepressor-like 1

BFM SG : Berlin-Frankfurt-Munster study group

BM : Blastes médullaires

BRAF : B rapidly accelerated fibrosarcoma

BS : Blastes sanguins

CALCA : Calcitonin related polypeptide alpha

Caryo : Caryotype

CBFB : Core-binding factor, sous-unité beta

CBL : Casitas B-lineage lymphoma

CDKN2B : Cyclin dependent kinase inhibitor 2B

Chimio : Chimiothérapie

CHOP : Cyclophosphamide, Hydroxyadriamycine, Oncovin, Prednisone

CLG : Children's leukemia group

Clofa : Clofarabine

CMV : Cytomégalovirus

COG : Children's oncology group

Conso : Consolidation

CSH : Cellule souche hématopoïétique

CTC : Corticoïdes

CTCAE : Common toxicity criteria of adverse events

D : Décédé

Dauno : Daunorubicine

Dexa : Dexaméthasone

DLI : Donnor lymphocytes injection

DM : Donnée manquante

DN : Dernières nouvelles

DNMT : DNA methyltransferase

EBV : Epstein-barr virus

EGR1 : Early growth response protein 1

ELAM02 (protocole) : Enfant leucémie aiguë myéloblastique 02

ELN : European leukemia net

EORTC : European organisation for research and treatment of cancer

EWOG-MDS : European working group of myelodysplastic syndrome

FAB : Franco-americano-britannique

FDA : Food and drug administration

FISH : Fluorescence in situ hybridization

FLT3 ITD : Fms-like tyrosine kinase 3 internal tandem duplication

Fluda : Fludarabine

FRALLE (protocole) : French acute lymphoblastic leukemia

GB : Globules blancs

GM-CSF: Granulocytes macrophages- colony stimulating factor

HAS : Haute autorité de santé

Hb : Hémoglobine

HD : Haute dose

HMG : Hépatomégalie

HSM : Hépatosplénomégalie

Ida: Idarubicine
IKZF1 : Ikaros zinc finger protein 1
IT: Intrathécale
IV: Intra-veineux
IWG : International working group
JPLSG : The japanese pediatric leukemia/lymphoma study group
KRAS : Kirsten rat sarcoma
LA : Leucémie aiguë
LAL : Leucémie aiguë lymphoblastique
LAM : Leucémie aiguë myéloïde
L-aspa : L-asparaginase
Lin28B : Lineage 28B
LMMC : Leucémie myélomonocytaire chronique
LMMJ : Leucémie myélomonocytaire juvenile.
MLL : Mixed-lineage leukemia
Mono : Monocytes
MP : Maladie progressive
MRC : Medical research council
MRD : Minimal residual disease (maladie résiduelle)
MS : Maladie stable
MTX : Méthotrexate
Myélo : Myélogramme
MYH11 : MYosin Heavy chain 11
NA : Non adapté
Nbre : Nombre
NE : Non évaluable
NF : Non fait
NF1 : Neurofibromatose de type 1
NGS : Next generation sequencing
NOPHO : Nordic society for pediatric hematology and oncology
NRAS : Neuroblastoma rat sarcoma
Plq : Plaquettes
PNN : Polynucléaires neutrophiles
PTPN11 : Protéine tyrosine phosphatase de type non-récepteur 11
RAS : Rat sarcoma
RASA2 : RAS p21 protein activator 2
RC : Rémission complète
RP : Rémission partielle
RUNX1 : Runt-related transcription factor 1
SC : Sous cutané
SETBP1 : SET binding protein 1
SMD : Syndrome myélodysplasique
SMG : Splénomégalie
SNC : Système nerveux central
SJCRH : St Jude children's research hospital
T21 : Trisomie 21
TET : Ten-eleven translocation
Ttt : Traitement
V : Vivant
VCI : Veine cave inférieure
VEDA : Vincristine, Etoposide, Dexaméthasone, Aracytine
WT1 : Wilms tumor

INTRODUCTION

1. Épigénétique et cancer

1.1 Épigénétique : une nouvelle histoire du cancer

Le mécanisme de cancérogenèse classiquement décrit est celui d'une mutation ou altération génétique se produisant dans un gène, et conduisant à une prolifération anormale de cellules par la perte du signal d'apoptose[1–3]. L'épigénétique, à savoir l'étude des mécanismes de développement qui, à partir de gènes, aboutissent à l'expression d'un phénotype, a permis de mettre en lumière le rôle clé de la régulation de l'expression des gènes dans la genèse du cancer[4–7]. Les modifications épigénétiques influent sur l'expression des gènes en modulant la structure de la chromatine et l'accessibilité de l'ADN[4]. Parmi les principaux mécanismes de modification épigénétique, on retrouve la méthylation de l'ADN, les modifications des histones, les ARNs non-codants, et les complexes de remodelage de la chromatine. La méthylation de l'ADN constitue une des dérégulations épigénétiques les plus caractéristiques de l'oncogenèse[7]. En 2012, Fernandez et al. ont étudié l'empreinte de méthylation de l'ADN de 1054 échantillons tumoraux humains. La première altération épigénétique observée était une hypométhylation globale des tissus cancéreux, par comparaison avec les tissus sains. Associée à cette hypométhylation globale, une hyperméthylation ciblée des îlots CpG dans les régions promotrices des gènes a été mise en évidence[8]. L'hypométhylation globale de l'ADN dans les cellules cancéreuses a été décrite par de nombreux auteurs[4,9–12]. Située dans des régions génomiques pauvres en gènes, elle participerait à l'instabilité génomique et favoriserait l'apparition de translocations[13]. L'hyperméthylation localisée au niveau des îlots CpG, quant à elle, participe à la répression de gènes suppresseurs de tumeur[8,13,14].

1.2 Méthylation de l'ADN : mécanismes et enjeux

La méthylation, décrite par Holliday et Pugh en 1975[15], est une modification épigénétique post-réplicative. Elle consiste en l'ajout d'un groupement méthyl sur une cytosine, avec pour conséquence une inhibition de la transcription de l'ADN[15,16]. Deux mécanismes ont été proposés pour expliquer l'inhibition de la transcription par la méthylation :

d'une part le groupement méthyl est responsable d'un blocage direct de la liaison des facteurs de transcription sur l'ADN ; d'autre part les zones méthylées de l'ADN sont reconnues par les « methyl-binding proteins », qui recrutent les complexes de remodelage de la chromatine à l'origine de la formation de l'hétérochromatine[13,17,18]. Les modifications épigénétiques sont des modifications réversibles. Il existe donc des mécanismes de maintien de la méthylation, qui permettent sa stabilisation et sa transmission d'une génération cellulaire à une autre[19]. Les DNA methyltransferases (DNMTs) sont les enzymes permettant l'ajout du groupement méthyl sur une cytosine. On en dénombre 5 chez l'homme, dont les 3 principales sont : DNMT1, qui méthyle préférentiellement l'ADN hémiméthylé et joue donc un rôle dans le maintien de la méthylation, et DNMT3A et 3B, impliquées dans la méthylation *de novo* (voir Figure 1)[16,17,20].

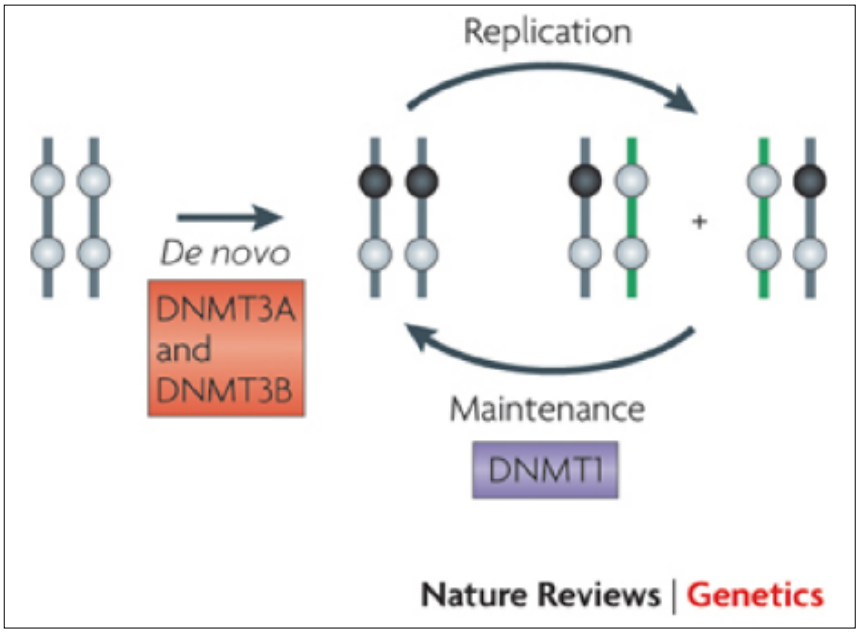


Figure 1 Modèle des mécanismes de méthylation de novo et de maintenance de la méthylation, d'après Jones et al., Nat Rev Genet 2009[17]

En 2011, Bhutani et al. ont souligné le caractère dynamique de la méthylation, et deux mécanismes de déméthylation ont été proposés. Un premier mécanisme dit « actif » met en jeu deux familles d'enzymes : Ten-Eleven Translocation (TET) et AID/APOBEC. Un second mécanisme dit « passif » est lié à la perte de la maintenance de la méthylation, notamment par la DNMT1[21].

Le caractère réversible des modifications épigénétiques fait de ces dernières des cibles thérapeutiques potentielles intéressantes[20,22]. Les inhibiteurs de DNA methyltransferases ont été développés au cours des dernières décennies, avec en tête de liste l'Azacitidine[23].

1.3 Agents hypométhylants : exemple de l'Azacitidine

L'Azacitidine appartient à la famille des azanucléosides, agents analogues pyrimidines du nucléoside cytidine. À faible dose, ces molécules ont pour propriété d'inhiber la méthylation de l'ADN, d'où leur qualification d'agents hypométhylants[24]. Synthétisée à partir des années 1960, l'Azacitidine fut initialement utilisée comme agent cytostatique[24]. Ce n'est qu'à partir de 1980, suite aux travaux de Jones et Taylor[25], que la propriété hypométhylante de l'Azacitidine fut révélée et testée en traitement des leucémies aiguës et des syndromes myélodysplasiques de l'adulte[24].

Deux principaux mécanismes d'action anti-tumorale de l'Azacitidine sont décrits : une cytotoxicité due à son incorporation dans l'ARN, et une hypométhylation de l'ADN via l'inhibition irréversible des DNA methyltransferases, et plus spécifiquement DNMT1. L'inhibition de DNMT1 est secondaire à une liaison covalente avec l'analogue de la cytidine, conduisant à une inhibition de sa fonction et à sa dégradation[26].

1.4 Place des agents hypométhylants en hématologie adulte

Silverman et al. sont à l'origine du premier essai clinique qui a montré, en traitement du syndrome myélodysplasique (SMD) de haut risque chez l'adulte, une supériorité de l'Azacitidine par rapport aux soins de supports habituels sur la survie globale[27]. L'autorisation de mise sur le marché a été obtenue en 2008 pour le traitement des SMD de haut risque chez les adultes non éligibles à une allogreffe de CSH. L'essai international de phase III AZA-001 avait montré une augmentation de la survie globale, avec une médiane de survie globale de 24,5 mois dans le groupe Azacitidine versus 15 mois dans le groupe traitement conventionnel (p=0,0001), chez les patients présentant un syndrome myélodysplasique *de novo* de risque intermédiaire ou élevé, et non éligibles à une transplantation de cellules souches hématopoïétiques[28]. En 2015, suite à l'essai AZA-AML-001[29], l'AMM a été étendue aux patients présentant une LAM avec plus de 30% de blastes médullaires et âgés de plus de 65 ans. En 2016, la limite d'âge de 65 ans a été supprimée. Cependant, la commission de la transparence de l'HAS du 21 juin 2017 a émis un avis défavorable quant au remboursement de la spécialité dans cette dernière indication, en raison d'un intérêt clinique jugé insuffisant[30].

En résumé, l'Azacitidine présente aujourd'hui plusieurs indications chez l'adulte : elle est indiquée chez les patients non éligibles à une transplantation de cellules souches hématopoïétiques (CSH) et présentant soit un SMD de haut risque, soit une leucémie myélomonocytaire chronique (LMMC), soit une leucémie aiguë myéloïde. Le schéma recommandé consiste en une administration par voie sous-cutanée quotidienne de 75 mg/m² pendant 7 jours, tous les 28 jours[31].

La Décitabine, autre agent hypométhylant de la famille des azanucléosides, a été principalement étudiée dans les LAM de l'adulte. En effet, l'essai multicentrique et randomisé de phase 3 DACO-16 comparait la Décitabine au traitement conventionnel (cytarabine à faible dose ou soins de support), chez les patients de 65 ans et plus présentant une LAM *de novo* ou secondaire, de risque cytogénétique intermédiaire ou défavorable, nouvellement diagnostiquée, et non éligibles à une chimiothérapie d'induction standard[32]. Il n'a pas été démontré de différence significative sur la survie globale entre les patients du groupe Décitabine et les patients du groupe traitement conventionnel (médianes de survie globale respectivement de 7,7 mois, IC95% [6,2 ; 9,2] et 5 mois, IC95% [4,3 ; 6,3], p = 0,108). La tolérance de la Décitabine était bonne, avec des profils de toxicité comparables avec le groupe ayant reçu le traitement conventionnel. Suite à cette étude, une AMM a été obtenue en 2012 pour la Décitabine en traitement des LAM *de novo* ou secondaires du sujet âgé de 65 ans et plus, non candidat à une chimiothérapie d'induction standard. En 2016, la limite d'âge de 65 ans a été supprimée (rectificatif du 30/06/2016). Cependant, la commission de la transparence de l'HAS du 7 mars 2018 a émis un avis défavorable quant au remboursement de la spécialité, en raison d'un intérêt clinique jugé insuffisant[33].

2. Hémopathies myéloïdes pédiatriques : mise au point

2.1 Leucémies aiguës myéloïdes

2.1.1 Épidémiologie

Les leucémies aiguës myéloïdes représentent 15 à 20% des leucémies de l'enfant, avec 75 à 80 nouveaux cas par an en France chez l'enfant de moins de 15 ans[34]. L'âge médian au diagnostic est de 6 ans, avec un pic d'incidence chez les enfants de moins de 2 ans. La survie globale des enfants présentant une LAM est aujourd'hui d'environ 70% à 5 ans, mais le taux de rechute reste important (environ 35%)[35–45].

2.1.2 Diagnostic

Les manifestations cliniques des LAM associent :

- des symptômes d'insuffisance médullaire : syndrome anémique, syndrome hémorragique et syndrome infectieux ;

- des signes d'infiltration tumorale : douleurs osseuses, hépato-splénomégalie, adénopathies, localisations cutanées de la maladie, signes de leucostase, atteinte méningée, chlorome ou sarcome granulocytaire, hypertrophie gingivale.

Le diagnostic positif repose sur un panel d'examens complémentaires permettant de caractériser les blastes, et est constitué au minimum d'une analyse cytologique, d'un immunophénotypage, d'un caryotype, d'une FISH, et de la recherche d'anomalies génétiques en biologie moléculaire. De plus, contrairement à la pratique chez l'adulte, la recherche d'une atteinte du système nerveux central par réalisation d'une ponction lombaire exploratrice est recommandée au diagnostic[39].

2.1.3 Nosologie

La classification des leucémies aiguës reposait historiquement sur les critères cytologiques et cytochimiques de la classification FAB[46]. La cytogénétique et la biologie moléculaire ont permis d'identifier de nouveaux groupes pronostiques, et une nouvelle classification des LAM a été proposée[47–51]. Chez l'adulte, le groupe d'experts européen ELN

a publié en 2017 une révision de sa classification génétique des LAM, présentée dans le Tableau 1[52].

Risk category*	Genetic abnormality
Favorable	t(8;21)(q22;q22.1); *RUNX1-RUNX1T1*
	inv(16)(p13.1q22) or t(16;16)(p13.1;q22); *CBFB-MYH11*
	Mutated *NPM1* without *FLT3*-ITD or with *FLT3*-ITD^{low}†
	Biallelic mutated *CEBPA*
Intermediate	Mutated *NPM1* and *FLT3*-ITD^{high}†
	Wild-type *NPM1* without *FLT3*-ITD or with *FLT3*-ITD^{low}† (without adverse-risk genetic lesions)
	t(9;11)(p21.3;q23.3); *MLLT3-KMT2A*‡
	Cytogenetic abnormalities not classified as favorable or adverse
Adverse	t(6;9)(p23;q34.1); *DEK-NUP214*
	t(v;11q23.3); *KMT2A* rearranged
	t(9;22)(q34.1;q11.2); *BCR-ABL1*
	inv(3)(q21.3q26.2) or t(3;3)(q21.3;q26.2); *GATA2,MECOM(EVI1)*
	−5 or del(5q); −7; −17/abn(17p)
	Complex karyotype,§ monosomal karyotype‖
	Wild-type *NPM1* and *FLT3*-ITD^{high}†
	Mutated *RUNX1*¶
	Mutated *ASXL1*¶
	Mutated *TP53*#

Tableau 1 Stratification des groupes de risque cytogénétique et moléculaire des LAM de l'adulte, selon le groupe ELN-2017[52]

Certaines anomalies cytogénétiques sont spécifiques des LAM de l'enfant, et plusieurs classifications pédiatriques ont été établies[39,53,54]. Les différences observées entre les classifications adultes et pédiatriques peuvent également s'expliquer par la différence d'incidence de certaines anomalies. La stratification des groupes de risque cytogénétique et moléculaire des LAM de l'enfant utilisée dans le protocole franco-britannique Myechild01 est présentée dans le Tableau 2 à titre d'exemple.



Tableau 2 Stratification des groupes de risque cytogénétique et moléculaire des LAM, dans le protocole Myechild01

2.1.4 Prise en charge thérapeutique

La prise en charge thérapeutique des patients présentant une LAM varie selon le groupe de risque cytogénétique, mais également selon la réponse au traitement, monitorée par l'évaluation de la maladie résiduelle (MRD)[55–57]. Les différentes phases du traitement des LAM sont les suivantes : un traitement d'induction associant une anthracycline (3 jours) et de l'Aracytine haute dose (7 à 10 jours) et dont l'objectif est l'obtention d'une rémission complète, puis un traitement de consolidation comprenant une à trois cures de chimiothérapie par Aracytine haute dose et/ou une allogreffe de CSH[39]. L'allogreffe de CSH n'est pas recommandée chez les patients de pronostic favorable en première rémission complète. En seconde rémission complète, l'allogreffe de CSH est recommandée pour tous les patients[39,58]. Les résultats des principales études pédiatriques multicentriques effectuées entre 1993 et 2011 sont résumés dans le Tableau 3.

Groupes d'étude Acronyme de l'étude	Période d'inclusion	Nombre de patients	Survie sans évènement (%)	Survie globale (%)	Rechute (%)	Auteurs
EORTC-CLG EORTC 58921	1993-2002	177	à 5 ans : 49	à 5 ans : 62	35	Entz-Werle et al 2005
MRC MRC AML12	1995-2002	564	à 10 ans : 54	à 10 ans : 63	35	Gibson et al 2011
Japon AML99	2000-2002	240	à 5 ans : 61,6	à 5 ans : 75,6	32	Tsukimoto et al 2009
SJCRH AML02	2002-2008	216	à 3 ans : 63	à 3 ans : 71	21	Rubnitz et al 2010
AIEOP AML2002/01	2002-2011	482	à 8 ans : 55	à 8 ans : 68	24	Pession et al 2013
NOPHO NOPHO AML 2004	2004-2009	151	à 3 ans : 57	à 3 ans : 69	30	Abrahamsson et al 2011
BFM-AML SG AML-BFM 2004	2004-2010	521	à 5 ans : 55	à 5 ans : 74	29	Creutzig et al 2013
COG AAML03P1	2003-2005	340	à 3 ans : 53	à 3 ans : 66	33	Cooper et al 2012
COG AAML0531	2006-2010	1022 (âges 0-29 ans)	à 3 ans : 53,1 et 46,9 *	à 3 ans : 69,4 et 65,4*	33 et 41*	Gamis et al 2014
JPLSG AML-05	2006-2010	443	à 3 ans : 54	à 3 ans : 73	30	Tomizawa et al 2013
SFCE ELAM02	2005-2011	438	à 4 ans: 57	à 4 ans: 73	37	Petit et al 2018

Tableau 3 Résultats des principales études pédiatriques multicentriques sur la prise en charge des LAM (selon le groupe de randomisation)*[35–38,43–45,59–62]

2.1.5 Profils de méthylation des LAM de l'enfant

Les mutations épigénétiques affectant la méthylation de l'ADN sont fréquemment observées dans les LAM de l'adulte[63]. Chez l'enfant, ces mutations sont également retrouvées, bien qu'à une fréquence moindre que chez l'adulte[64]. Newcombe et al. ont publié une revue de la littérature sur l'intérêt potentiel des thérapies épigénétiques dans les LAM de l'enfant et ont décrit l'incidence des mutations épigénétiques selon l'âge des patients, dans les LAM (voir Tableau 4)[64].

Gene	Mutation incidence in adult AML	Mutation incidence in paediatric AML
DNMT3A	20-22% (patients aged 18-81 years) (Yan et al. 2011; Ley et al. 2010)	1-2% (patients aged <18 years) (Liang et al. 2013; Thol et al. 2011; Hollink et al. 2011)
TET2	8-23% (patients aged 18-88 years) (Patel et al. 2012; The Cancer Genome Atlas Research Network 2013a; Metzeler, Maharry, et al. 2011)	1.7% (patients aged <18 years) (Liang et al. 2013)
ASXL1	3-17% (patients aged 18-100 years) (Patel et al. 2012; Boultwood et al. 2010; Metzeler, Becker, et al. 2011; Schnittger et al. 2012)	1-9% (patients aged <18 years) (Liang et al. 2013; Shiba et al. 2016).
IDH1/2	5-33% (patients aged 18-88 years) (The Cancer Genome Atlas Research Network 2013a; Marcucci et al. 2010; Chou et al. 2010)	1-4% (patients aged <18 years) (Valerio et al. 2014; Liang et al. 2013; Damm et al. 2011)
EZH2	1-5% (patients aged 18-88 years) (The Cancer Genome Atlas Research Network 2013a; X. Wang et al. 2013)	Rare (patients aged 1-20 years) (Ernst et al. 2012)

Tableau 4 Incidence des mutations épigénétiques dans les LAM en fonction de l'âge, Newcombe et al. 2018[64]

.

2.2 Leucémies myélomonocytaires juvéniles

2.2.1 Épidémiologie

Les LMMJ sont des néoplasies clonales myéloprolifératives associées à une activation constitutive de la voie de signalisation RAS. Elles sont rares et représentent environ 1,5% de toutes les leucémies de l'enfant[65].

Les LMMJ se présentent chez de petits enfants, avec un âge médian de 1,8 ans (0,8-11,4)[66]. Le ratio garçon/fille est de 2,1/1[66].

Chez les patients traités par allogreffe de CSH, la survie sans événement à 5 ans était de 52% dans la série rapportée par l'EWOG-MDS[67]. La rechute post allogreffe, principale cause d'échec thérapeutique, touchait environ un tiers des patients[67].

2.2.2 Diagnostic

Les signes cliniques les plus fréquemment rapportés sont : pâleur, fièvre, éruption cutanée, hépatomégalie, splénomégalie et adénopathies[66].

Sur le plan biologique, les critères diagnostiques de LMMJ comprennent[65,68] :

Tous les critères suivants :

- Taux de monocytes dans le sang > 1000/mm^3 ;
- Absence du chromosome Philadelphie ;
- Moins de 20 % de blastes circulant dans le sang et présents dans la moelle osseuse.

Et soit au moins un des critères suivants :

- Présence d'une mutation somatique de PTPN11 ou KRAS ou NRAS ;
- Diagnostic clinique de neurofibromatose de type 1, ou mutation germinale de NF1 ;
- Mutation germinale de CBL et perte de l'hétérozygotie de CBL ;
- Monosomie 7.

Soit au moins deux des critères suivants :

- Des taux d'hémoglobine F plus élevés que la normale pour l'âge du patient ;
- Des précurseurs myéloïdes immatures dans le sang ;
- Un nombre accru de globules blancs (mais < 100 000/mm^3) ;
- Des anomalies cytogénétiques clonales, sauf la monosomie 7 ;
- Une hypersensibilité des précurseurs myéloïdes au facteur de stimulation des granulocytes et macrophages (GM-CSF).

2.2.3 Anomalies génétiques

Des mutations de la voie RAS (mutations des gènes PTPN11, NRAS, KRAS, CBL, NF1) sont présentes dans les cellules leucémiques d'environ 90% des patients, représentant respectivement 38%, 18%, 14%, 12-18% et 5-10% des LMMJ[69]. Ces mutations sont soit germinales, et entrent dans un cadre syndromique (mutations de CBL, Neurofibromatose de type 1, syndrome de Noonan), soit somatiques[69]. Les mutations de la voie RAS sont classiquement décrites comme mutuellement exclusives, suggérant le caractère « driver » de ces mutations[70]. Caye et al. ont étudié les profils génétiques de 118 LMMJ et ont observé des

anomalies multiples concomitantes de la voie RAS dans 17% des LMMJ sporadiques[71]. De plus, la présence de mutations multiples de la voie RAS était associée à un mauvais pronostic, suggérant un effet dose-dépendant du nombre de mutations.

2.2.4 Prise en charge thérapeutique

Selon le sous-type de LMMJ, la prise en charge thérapeutique varie de la simple surveillance clinique à l'allogreffe de CSH, seul traitement curatif à ce jour[72]. Les facteurs pronostiques péjoratifs classiquement utilisés pour orienter le choix thérapeutique étaient : un âge supérieur à 2 ans, un taux de plaquettes inférieur à 33 000/mm^3 et un taux d'Hb fœtale supérieur ou égal à 10% au diagnostic[66]. L'apport de la génétique a permis plus récemment d'établir de nouveaux groupes de risque en fonction des mutations identifiées, et de mieux définir les indications d'allogreffe de CSH au diagnostic[72].

En effet, une allogreffe de CSH est recommandée chez tous les patients présentant une neurofibromatose de type 1, une mutation somatique de PTPN11, une mutation somatique de KRAS, et chez la majorité des patients présentant une mutation somatique de NRAS[73]. Mais chez les patients présentant une mutation germinale de CBL, une mutation somatique spécifique de NRAS, ou un syndrome de Noonan, une surveillance clinique rapprochée seule est recommandée.

La rechute post-allogreffe constitue la principale cause d'échec thérapeutique. Des facteurs de risque de rechute ont été proposés par Locatelli et al. : un âge supérieur à 4 ans au diagnostic, un pourcentage de blastes médullaires supérieur à 20%, une mutation de PTPN11, un profil génétique de type LAM, et un profil de méthylation de type hyperméthylé[72]. Le choix du traitement pré-allogreffe est assez controversé, dans la mesure où aucune chimiothérapie spécifique n'a montré sa supériorité sur la prévention du risque de rechute post-allogreffe[72,74]. De nouvelles stratégies thérapeutiques, notamment en pré-greffe de CSH, sont à l'étude. Les agents hypométhylants en font partie[72,75].

2.2.5 Profils de méthylation des LMMJ

L'étude des profils de méthylation des LMMJ a révélé une hyperméthylation des îlots CpG de certains gènes cibles spécifiques[75–77]. Il a par ailleurs été montré que cette hyperméthylation était associée à un mauvais pronostic[76–78]. Lipka et al. ont identifié 3 sous-groupes de LMMJ, aux caractéristiques cliniques et moléculaires spécifiques : le groupe « méthylation forte », caractérisé par une mutation somatique de PTPN11 et un mauvais

pronostic clinique ; le groupe « méthylation faible », caractérisé par des mutations somatiques de NRAS et CBL, ou les patients présentant un syndrome de Noonan, et associé à un bon pronostic ; et le groupe « méthylation intermédiaire », caractérisé par une monosomie 7 et des mutations somatiques de KRAS[77].

Ces résultats ont motivé l'essai de phase 2 européen évaluant l'efficacité et la tolérance de l'Azacitidine en traitement pré-greffe dans les LMMJ (EudraCT Number 2014-002388-13), actuellement clos[79].

2.3 Syndromes myélodysplasiques

2.3.1 Épidémiologie

Les syndromes myélodysplasiques constituent une pathologie clonale rare chez l'enfant, avec une incidence annuelle de 1 à 2 cas par million d'habitants. Les SMD de l'enfant diffèrent des SMD de l'adulte en terme de morphologie, de caractéristiques cytogénétiques, de facteurs pronostiques et de prise en charge thérapeutique[80].

2.3.2 Diagnostic

Les signes cliniques sont pauvres, et associés au tableau de pancytopénie. La majorité des patients ne présente pas d'organomégalie[80].

Le diagnostic repose sur l'examen de la moelle osseuse, qui peut retrouver une hypo, une normo ou une hyper-cellularité, l'hypocellularité étant plus fréquente chez l'enfant que chez l'adulte. S'associent des signes de dysplasie (érythropoïèse macrocytaire, larges mégacaryocytes et dysgranulopoïèse)[81].

Sur le plan cytogénétique, des anomalies du caryotype sont retrouvées chez 55% des patients présentant un SMD de bas grade, et 76% des patients présentant un SMD avancé. L'anomalie la plus fréquente est la monosomie 7, retrouvée chez 25% des patients, puis la trisomie 8 et la trisomie 21[82].

2.3.3 Nosologie

On distingue les SMD primaires des SMD secondaires : les premiers surviennent chez des enfants sans pathologie sous-jacente, tandis que les seconds surviennent dans un contexte de prédisposition, comme un syndrome de prédisposition génétique, une aplasie médullaire, ou un traitement par chimiothérapie ou radiothérapie[80]. Le déficit constitutionnel en GATA2

est le syndrome de prédisposition le plus fréquent des SMD de l'enfant, retrouvé chez environ 70% des adolescents présentant un SMD avec monosomie 7[83].

Par ailleurs, les SMD de l'enfant (hors LMMJ) sont classés en 2 grands groupes de pronostic et de prise en charge distincts : les SMD de bas grade et les SMD avancés. Les SMD de bas grade (ou cytopénies réfractaires de l'enfant) sont définis par un taux de blastes dans le sang périphérique inférieur à 2% et un taux de blastes médullaires inférieur à 5%. Les SMD avancés (ou anémie réfractaire avec excès de blastes en transformation) sont définis par un taux de blastes dans le sang supérieur ou égal à 2%, et un taux de blastes médullaires supérieur ou égal à 5% et inférieur à 20%. Chez les patients présentant un taux de blastes médullaires supérieur à 20%, le diagnostic différentiel de LAM *de novo* doit être discuté à la lumière des caractéristiques cliniques, morphologiques, immunophénotypiques et cytogénétiques[80,84].

2.3.4 Prise en charge thérapeutique

La prise en charge thérapeutique des SMD de l'enfant diffère selon le type de SMD. Ainsi, pour les SMD de bas grade, un traitement de première ligne par immunosuppresseurs (par sérum anti-lymphocytaire ou ciclosporine) peut être proposé chez les patients présentant une hypocellularité, et l'absence de monosomie 7 ou de caryotype complexe. Le taux de survie sans progression à 3 ans de ces patients est de 57%[80,85]. Pour les patients en échec de ce traitement, un rattrapage par allogreffe de CSH est alors proposé, permettant l'obtention de 88% de survie globale à 3 ans[80].

Pour les SMD avancés, le traitement repose sur l'allogreffe de CSH, avec une probabilité de survie globale à 5 ans de 63% dans l'étude de l'EWOG-MDS de 1998[80,86]. Par ailleurs, pour les patients présentant un taux de blastes médullaires supérieur à 30%, une chimiothérapie d'induction type LAM peut être proposée en pré-greffe [87].

2.3.5 Profils de méthylation des SMD de l'enfant

Vidal et al. ont analysé les profils de méthylation des promoteurs de 13 gènes identifiés dans les SMD de l'adulte, chez 21 patients pédiatriques présentant un SMD[88]. Les 2 gènes les plus fréquemment hyperméthylés étaient CALCA et CDKN2B. L'hyperméthylation de CDKN2B dans les SMD de l'enfant a été confirmée par Kim et al. dans leur étude portant sur 25 patients[89]. Hasegawa et al. ont étudié le profil de méthylation de 2 gènes (p15 et p16) chez 9 enfants présentant un SMD et ont montré une hyperméthylation du gène p15[90]. En

2010, Rodrigues et al. ont montré une association entre le statut de méthylation des gènes p15 et p16 et le risque d'acutisation de la maladie, chez 47 enfants présentant un SMD [91]. Ces résultats suggéraient une hyperméthylation aberrante assez comparable aux SMD de l'adulte, en faveur d'un intérêt des agents hypométhylants chez les patients pédiatriques.

3. Azanucléosides en hématologie pédiatrique : revue de la littérature

La littérature sur l'utilisation de l'Azacitidine en pédiatrie est relativement pauvre.

3.1 Rapports de cas

En 2009, Furlan et al. ont rapporté un premier cas de réponse complète moléculaire chez un enfant présentant une LMMJ avec monosomie 7[92].

Inoue et al., en 2014, ont décrit un cas pédiatrique de mise en rémission moléculaire d'un SMD secondaire en rechute post-allogreffe de CSH [93].

Un cas de mise en rémission partielle pré-greffe de CSH par une cure d'Azacitidine associée au Sorafénib, chez une patiente présentant une LAM avec monosomie 7 et mutation de PTPN11 réfractaire après deux lignes de traitement, a été décrit[94].

Polishchuk et al. ont décrit un cas de mise en rémission morphologique et moléculaire après trois cures d'Azacitidine en monothérapie, d'un patient présentant une LA indifférenciée réfractaire à deux cures d'induction[95].

Glasser et al. ont rapporté deux patients traités par la combinaison Décitabine/Vorinostat (un inhibiteur d'histone désacéthylase), en traitement palliatif d'un syndrome myélodysplasique et d'une leucémie aiguë myéloïde respectivement, secondaires à des tumeurs solides[96].

Ding et al. ont rapporté le cas d'un patient présentant une maladie de Fanconi, mis en rémission complète pré-greffe d'une LAM par deux cures d'Azacitidine[97].

Le cas d'une autre patiente présentant une maladie de Fanconi et traitée par Azacitidine a été rapporté[98]. La patiente avait reçu onze cures à visée palliative, en traitement d'une LAM avec blastose sanguine, permettant une stabilisation de la maladie.

Enfin, Uemura et al. ont décrit le cas d'une patiente présentant une Trisomie 21, traitée par Azacitidine pour une seconde rechute précoce post-allogreffe d'une LAM à caryotype complexe[99].

Les rapports de cas pédiatriques sur l'administration des azanucléosides sont résumés dans le Tableau 5.

	Auteurs	Année	Pathologie	Sd prédisposition	Âge (ans)	Traitement reçus	Doses Aza	Nombre de cures d'Aza
Cas n°1	Furlan et al.	2009	LMMJ, monosomie 7	Non	1,5	Aza	100 mg/m²/j x 5 j	8
Cas n°2	Inoue et al.	2014	SMD secondaire Rechute post greffe	Non	11	Aza	32 à 75 mg/m²/j x 5 à 7 j	9
Cas n°3	Dahl et al.	2016	LAM réfractaire	Non	3	Aza + Sorafénib	75 mg/m²/j x 7 j	1
Cas n°4	Polishchuk et al.	2016	LA indifférenciée réfractaire	Non	15	Aza	75 mg/m²/j x 5 j	3
Cas n°5	Glasser et al.	2017	SMD secondaire LAM secondaire	Non Non	13 15	Décitabine + Vorinostat	NA	6 4
Cas n°6	Ding et al.	2016	LAM	M. de Fanconi	13	Aza	50 mg/m²/j x 7 j	2
Cas n°7	Berot et al.	2018	LAM	M. de Fanconi	1,5	Aza	50 mg/m²/j x 7 j	11
Cas n°8	Uemura et al.	2018	LAM, rechute post greffe	Trisomie 21	2	Aza	75 mg/m²/j x 7 j	3 + 5

Tableau 5 Rapports de cas pédiatriques sur l'administration des azanucléosides

3.2 Études rétrospectives de séries de patients

En 2013, Phillips et al. ont publié une analyse rétrospective de 8 enfants et jeunes adultes traités par Décitabine (azanucléoside proche) en traitement de LAM réfractaires ou en rechute[100]. Un total de 24 cures de Décitabine a été administré (médiane 2,5 cures). Six/8 patients ont présenté au moins une réponse partielle, dont 3/8 patients une rémission complète (1 rémission complète, 1 rémission complète avec thrombopénie, 1 rémission complète avec cytopénie). Deux/8 patients étaient non-répondeurs (1 maladie stable, 1 maladie progressive).

Une analyse rétrospective portant sur 12 enfants atteints de LMMJ ayant reçu de l'Azacitidine soit en pré-greffe de CSH (n = 9), soit en traitement d'une rechute post-greffe, a montré une efficacité et une bonne tolérance chez ces patients, avec notamment 3 cas de mise en rémission clinique, cytogénétique et moléculaire en pré-greffe (Cseh et al., 2015)[101].

En 2016, deux séries d'enfants et jeunes adultes traités par Azacitidine pour un SMD ont été rapportées : Cseh et al. ont présenté une analyse rétrospective de 24 sujets traités par Azacitidine au diagnostic (n = 16) et/ou à la rechute post-greffe de CSH (n = 10) (2 patients traités au diagnostic et à la rechute)[102]. Sur les 16 patients traités au diagnostic, 1 patient a atteint la rémission complète clinique, 1 patient a atteint la rémission complète médullaire, et 6 patients avaient une maladie stable avec amélioration hématologique. Sur les 10 patients en rechute post-greffe de CSH, 7 patients ont présenté une maladie stable. Waespe et al. ont quant à eux effectué une analyse rétrospective comparative de 22 patients atteints de SMD, dont 8 avaient été traités par Azacitidine en pré greffe de CSH[103]. Parmi les patients traités par Azacitidine, 4/8 étaient en rémission complète médullaire après Azacitidine, et aucun n'a eu de maladie progressive. La survie sans événement à 4 ans était significativement supérieure dans le groupe traité par Azacitidine avant greffe de CSH par rapport au groupe sans Azacitidine, mais il n'a pas été observé de différence significative sur la survie globale à 4 ans.

En 2018, Tamura et al. ont rapporté une série rétrospective de 3 patients ayant reçu de l'Azacitidine en traitement d'entretien post-allogreffe de LAM de haut risque[104]. Après 9 à 24 cures d'Azacitidine, les patients étaient toujours en rémission complète aux dernières nouvelles (recul de 13 à 41 mois).

En 2019, Oshrine et al. ont également publié une étude rétrospective sur l'efficacité et la tolérance de l'Azacitidine en traitement d'entretien post-greffe de 15 patients pédiatriques présentant une pathologie myéloïde (LAM *de novo* n = 10, LMMJ acutisée n = 1, SMD acutisé n = 1, LAM post traitement n = 1, LA biphénotypique n = 2)[105]. Trois/15 ont présenté

une rechute, après une médiane de suivi de 20 mois. La tolérance de l'Azacitidine était par ailleurs bonne.

Le Tableau 6 résume les études pédiatriques rétrospectives portant sur l'administration des azanucléosides.

	Auteurs	Année	Pathologies	Âge des patients	Nbre de sujets traités	Azanucléoside	Nombre total de cures d'Aza	Résultats
Etude 1	Phillips et al.	2013	LAM réfractaire ou en rechute	Enfants et jeunes adultes (3 à 26 ans)	N = 8	Décitabine	24	6/8: répondeurs 2/8: non répondeurs
Etude 2	Cseh et al.	2015	LMMJ en pré greffe ou rechute post greffe	Enfants (0,4 à 9,1 ans)	N = 12 dont pré greffe N = 9 Rechute N = 3	Azacitidine	64	3/12 RC (administration en pré greffe)
Etude 3	Cseh et al.	2016	SMD au diagnostic ou après rechute post greffe	Enfants et jeunes adultes (3 à 25.3 ans)	N = 24	Azacitidine	154	Diagnostic: 2/16 RC, 6/16 MS Rechute: 7/10 MS
Etude 4	Waespe et al.	2016	SMD avancé en pré greffe	Enfants (1 à 18 ans)	N = 8 (témoins N = 14)	Azacitidine	31	4/8 RC médullaires
Etude 5	Tamura et al.	2018	LAM de haut risque en traitement d'entretien post allogreffe	Enfants (2 à 15 ans)	N = 3	Azacitidine	43	3/3 en RC Recul médian de 17 mois
Etude 6	Oshrine et al	2019	LAM (de novo/post LMMJ ou SMD/post traitement/biphénotypique) en traitement d'entretien post greffe	Enfants et jeunes adultes (2 à 20 ans)	N = 15	Azacitidine	111	12/15 en RC Recul médian de 20 mois

Tableau 6 Études rétrospectives pédiatriques portant sur l'administration des azanucléosides

3.3 Études prospectives

En 1987, Hakami et al. ont publié une étude portant sur 96 enfants et adolescents, traités par Etoposide associé à l'Azacitidine pour une leucémie non lymphocytaire réfractaire ou en rechute[106]. L'Azacitidine était administrée sur deux jours à la dose de 300 mg/m²/j, c'est-à-dire une dose élevée de type « chimiothérapie » et non à visée déméthylante. Le taux de rémission complète était de 45%, après une médiane de deux cures d'Etoposide/Azacitidine.

En 1996, Steuber et al. ont effectué une étude randomisée pédiatrique comparant une combinaison de traitement par Amsacrine et Etoposide, contre Amsacrine, Etoposide et Azacitidine, en traitement d'une LAM réfractaire (n = 41 patients) ou en rechute (n = 126 patients)[107]. Le taux de rémission complète était significativement supérieur dans le groupe traité par Azacitidine pour les patients présentant une LAM réfractaire mais, pour les patients en rechute, l'ajout de l'Azacitidine n'a pas amélioré la réponse au traitement.

En 2017, Gore et al. ont conduit une étude de phase 1 multicentrique et randomisée comparant le traitement par Décitabine pré-chimiothérapie d'induction standard au traitement standard par chimiothérapie d'induction seul, chez des enfants présentant une LAM *de novo* au diagnostic[108]. L'étude n'a pas montré de différence significative entre les deux groupes de traitement sur la mise en rémission complète en fin d'induction, mais a montré une modification significative des profils de méthylation de l'ADN dans le groupe traité par Décitabine. Le traitement était par ailleurs bien toléré.

En 2018, Sun et al. ont publié un essai de phase 1 portant sur 14 patients pédiatriques traités par Azacitidine associée à une chimiothérapie conventionnelle, en traitement de leucémies réfractaires ou en rechute[109]. Douze/14 patients présentaient une LAM, et après une cure d'Azacitidine, 6/12 patients présentaient une rémission complète, 1/12 une rémission avec persistance de cytopénie. La tolérance de l'Azacitidine était bonne.

Un essai de phase 2 multicentrique (AZA-JMML-001) visant à évaluer les caractéristiques pharmacocinétiques et pharmacodynamiques de l'Azacitidine, ainsi que sa tolérance et son efficacité en pré-greffe de CSH chez des patients présentant une LMMJ au diagnostic, vient d'être achevé en Europe[79]. Le critère de jugement principal était l'obtention d'une rémission clinique complète ou partielle au J28 du cycle 3 d'Azacitidine. Sur les 18 patients inclus dans l'étude, 16 ont reçu au moins 3 cycles d'Azacitidine, et 11 patients (61%)

étaient en rémission clinique partielle au J28 du 3e cycle. Par ailleurs, l'Azacitidine a été bien tolérée chez ces patients.

En 2019, Kearns et al. ont mené une étude de phase 1-2 portant sur 17 patients présentant une LAM en rechute ou réfractaire, traités par Décitabine et Aracytine[110]. L'étude a montré une bonne tolérance de la Décitabine, mais l'absence d'efficacité clinique significative. Le Tableau 7 résume les études pédiatriques prospectives portant sur l'administration des azanucléosides.

	Auteurs	Année	Type d'étude	Pathologies	Âge des patients	Nbre de sujets traités	Traitements administrés	Résultats
Etude 1	Hakami et al.	1987	Non randomisée	LA non lymphocytaire, réfractaire ou en rechute	Enfants et Adolescents	N = 96	Azacitidine + Etoposide	45% de RC
Etude 2	Steuber et al.	1996	Randomisée	LAM réfractaire ou en rechute	Enfants (< 18 ans)	Réfractaire N = 41 Rechute N = 126	A: Amsacrine + Etoposide B: Amsacrine + Etoposide + Azacitidine	LA réfractaire: taux de RC 18% (gpe A) vs 53% (gpe B), p = 0,03 LA rechute: pas de différence significative
Etude 3	Gore et al.	2017	Phase 1 Randomisée	LAM au diagnostic	Enfants (1 à 16 ans)	A:N = 10 B: N = 14	A: Décitabine + chimio standard B: chimio standard	Pas de différence sur taux de RC en fin induction
Etude 4	Sun et al.	2018	Phase 1 Non randomisée	LA réfractaire ou en rechute	Enfants (< 18 ans)	N = 14 Dont : 12 LAM 2 LAL	Azacitidine + chimio standard	LAM: 6/12 RC, 1/12 RP
Etude 5	Niemeyer et al.	2019	Phase 2 Non randomisée	LMMJ en pré greffe, au diagnostic	Enfants (0,2 à 7 ans)	N = 18	Azacitidine puis allogreffe de CSH	11/18 RP à J28C3
Etude 6	Keams et al.	2019	Phase 1-2 Non randomisée	LAM réfractaire ou en rechute	Enfants (1 à 13 ans)	N = 17	Décitabine + Aracytine	Absence d'efficacité clinique Bonne tolérance

Tableau 7 Études prospectives pédiatriques portant sur l'administration des azanucléosides

OBJECTIF

L'objectif de notre travail est de rapporter l'expérience clinique de 3 centres hématologiques d'Île-de-France prenant en charge des enfants et des jeunes adultes, quant à l'utilisation de l'Azacitidine en traitement des pathologies hématologiques malignes. Ont été étudiées : les indications de traitement par Azacitidine, son efficacité et sa tolérance.

MATERIEL ET METHODE

1. Population

Les patients de trois services universitaires d'hématologie d'Île-de France, âgés de moins de 25 ans à l'initiation du traitement, et traités par Azacitidine entre le 1er septembre 2009 et le 1er mai 2019, ont été inclus. Les trois services impliqués étaient les suivants : le service d'hématologie pédiatrique de l'hôpital Robert-Debré, le service d'hématologie pédiatrique de l'hôpital Armand-Trousseau, et le service d'hématologie pour adolescents et jeunes adultes de l'hôpital St-Louis, à Paris.

Les patients ont été identifiés grâce aux logiciels de prescription de chimiothérapie de la pharmacie des différents hôpitaux.

L'analyse rétrospective des données cliniques et des examens complémentaires des patients identifiés a été effectuée à partir des dossiers médicaux.

Pour les patients ayant reçu de l'Azacitidine à plusieurs stades de leur maladie, chaque traitement a été analysé de manière indépendante concernant l'évaluation de la réponse en fin de traitement et la toxicité. Chaque traitement par Azacitidine a été identifié par le terme « équivalent-patient », un même patient pouvant donc correspondre à plusieurs « équivalent-patients » en fonction du nombre de traitements reçus.

Pour l'analyse des données de survie chez les patients ayant reçu plusieurs traitements par Azacitidine, seul le premier traitement par Azacitidine a été pris en considération.

2. Évaluation de la réponse à l'Azacitidine

2.1 Leucémies aiguës myéloïdes

Concernant les patients atteints de LAM, l'évaluation de la réponse au traitement a été effectuée en accord avec les recommandations de l'IWG (Cheson et al), révisées en 2003[111].
La rémission complète (RC) s'évalue sur trois dimensions : la RC morphologique (indépendance transfusionnelle), la RC cytogénétique (normalisation du caryotype), et la RC moléculaire (absence d'anomalie moléculaire, MRD indétectable). Dans tous les cas, sont nécessaires : des PNN > 1000/mm^3, des plaquettes ≥ 100 000/mm^3, des blastes < 5% dans la moelle, sans corps d'Auer visible et l'absence de maladie extra-médullaire. La rémission partielle (RP) est caractérisée par des PNN > 1000/mm^3, des plaquettes ≥ 100 000/mm^3, des blastes médullaires ayant diminué d'au moins 50% (par rapport au pré-traitement), mais ayant un taux entre 5% et 25%, ou la présence de corps d'Auer, quel que soit le taux de blastes. Ces critères doivent être observés pendant au moins 4 semaines.

L'échec thérapeutique inclut les patients n'ayant ni les critères de rémission complète, ni les critères de rémission partielle. On distingue différents types d'échec : la LAM résistante, définie par la persistance de blastes dans le sang ou dans la moelle, chez des patients ayant survécu au moins 7 jours après la fin de la chimiothérapie ; l'aplasie, qui concerne les patients ayant survécu au moins 7 jours post chimiothérapie, mais décédés avec des cytopénies, et une moelle aplasique ; les étiologies indéterminées, qui comportent les patients décédés dans les 7 jours post chimiothérapie, ou décédés à plus de 7 jours de la fin du traitement, sans blastes périphériques mais sans examen de la moelle, ou encore les patients décédés avant la fin du traitement. La rechute morphologique est définie par la réapparition de blastes dans le sang ou dans la moelle après rémission complète. La rechute moléculaire ou cytogénétique correspond à la réapparition d'une anomalie moléculaire ou cytogénétique.

2.2 Leucémies myélomonocytaires juvéniles

Pour les patients atteints de LMMJ, la réponse au traitement a été évaluée en suivant les critères de réponse établis par C. M. Niemeyer et al[112].

Ces critères sont multimodaux, incluant des éléments cliniques, biologiques, cytogénétiques et moléculaires. Des conditions pré-traitement sur chaque paramètre étudié

sont nécessaires à l'évaluation de la réponse au traitement. L'ensemble de ces données est résumé dans le Tableau 8.

Deux sortes de réponse sont évaluées : la réponse clinique (variables 1 à 6 du Tableau 8) et la réponse génétique (réponse cytogénétique et moléculaire, variables 7 à 9 du Tableau 8). Les niveaux de réponse se déclinent en : rémission complète (RC), rémission partielle (RP), maladie stable (MS), maladie progressive (MP) et rechute. La rémission complète clinique est affirmée chez les patients qui remplissent, pour les variables 1 à 6 applicables, les critères du Tableau 8 pendant au moins 4 semaines. La rémission partielle clinique est définie par l'absence de critère de rémission complète clinique, au moins une variable répondant à la définition de rémission partielle clinique, et aucune variable ne répondant à la définition de maladie progressive clinique. La maladie stable clinique correspond aux patients qui ne remplissent ni les critères de rémission complète et rémission partielle cliniques, ni un seul des critères de maladie progressive clinique. On parle de maladie progressive clinique dès lors qu'au moins une des variables cliniques répond aux critères de maladie progressive. Quant à la rechute clinique, elle se caractérise par l'apparition d'au moins un des critères de maladie progressive clinique, après l'obtention d'une rémission complète ou d'une rémission partielle cliniques.

La rémission complète génétique est définie par un caryotype normal et l'absence de mutation acquise ; la maladie stable génétique correspond à un patient ne répondant pas aux critères de rémission complète génétique et n'ayant aucun des critères de maladie progressive génétique ; la maladie progressive génétique correspond à la positivité d'au moins un des critères de progression génétique ; et la rechute génétique à la réapparition d'un caryotype anormal, et/ou à une mutation en lien avec les LMMJ, et/ou à une augmentation du chimérisme receveur (> 10% ou augmentation d'au moins 50%).

Le Tableau 8 résume les critères d'évaluation de la réponse thérapeutique des LMMJ définis par C. M. Niemeyer et al.

Variables d'évaluation de la réponse	Définition de la réponse			Définition de la progression ou rechute
	Critères pré traitement nécessaires à l'évaluation d'une réponse	Critères de RC pour chaque variable	Critères de RP pour chaque variable	Critères de MP pour chaque variable
Nbre de GB	> 20x10^9/L	3.0-15.0x10^9/L	Diminution de ≥ 50% par rapport au pré-traitement, mais > 15x10^9/L	Augmentation ≥ 50% et ≥ 20x10^9/L
Taux de précurseurs myéloides et érythroides, et blastes dans le SP	≥ 5%	0 à 1%	Diminution de ≥ 50% par rapport au pré-traitement, mais ≥ 2%	Augmentation par rapport au taux initial Si < 5% : augmentation ≥ 50% et ≥ 5% Si ≥ 5% : ≥ 50% d'augmentation
Nbre de plaquettes	< 100x10^9/L	≥ 100x10^9/L	Patients partants de ≥ 20x10^9/L: augmentation absolue ≥ 30x10^9/L Patients partants de < 20x10^9/L : augmentation ≥ 100% et > 20x10^9/L	Apparition d'une dépendance transfusionnelle, ou si taux de plaquettes
Taux de blastes médullaires	≥ 5%	< 5%	Diminution ≥ 50% mais ≥ 5%	Augmentation par rapport au taux initial Si < 5% : augmentation ≥ 50% et > 5% Si ≥ 5% : ≥ 50% d'augmentation
Taille de la rate clinique	≥ 2 cm de débord costal	Pas de splénomégalie	Diminution de 50% du débord costal	Augmentation : ≥ 100% si débord < 4 cm ≥ 50% si débord 5-10 cm > 30% si débord > 10 cm
Taille de la rate échographique	Longueur ≥ 150% limite sup pr l'âge	Pas de splénomégalie	Diminution de 25% de la longueur, mais persistance splénomégalie	Augmentation ≥ 25% de la longueur
Maladie extramédullaire	Infiltration leucémique extra-médullaire	Absence d'infiltration leucémique extra-médullaire	-	Aggravation ou nouvelles lésions d'infiltration extra-médullaire
Réponse cytogénétique	Anomalie cytogénétique somatique détectée	Caryotype normal	-	Réapparition ou nouvelle acquisition d'une anomalie cytogénétique
Réponse moléculaire	Anomalie génétique somatique détectée	Absence d'anomalie génétique somatique	-	Réapparition ou nouvelle acquisition d'une anomalie génétique somatique spécifique de la JMLL
Réponse sur chimérisme	> 15% de chimérisme receveur après allo-GCSH	Chimérisme complet donneur	-	Augmentation du chimérisme receveur de 50%, et augmentation absolue > 5% et chimérisme receveur > 5%

Tableau 8 LMMJ : Critères d'évaluation de la réponse thérapeutique

2.3 Syndromes myélodysplasiques

Pour les patients atteints de SMD, la révision de 2006 des critères de réponse de l'IWG (International Working Group) a été utilisée[113].

La réponse thérapeutique est basée sur l'analyse de 4 paramètres : l'altération de l'histoire naturelle de la maladie, la réponse cytogénétique, l'amélioration hématologique, et l'amélioration de la qualité de vie.

Dans notre analyse, en raison du caractère rétrospectif de l'étude, seuls les 3 premiers paramètres ont été relevés. Il était effectivement difficile d'évaluer la qualité de vie *a posteriori*.

Le Tableau 9 résume les critères de réponse des différents paramètres tels que définis par l'IWG.

Altération de l'histoire naturelle de la maladie	Critères de réponse (durée minimum de 4 semaines)
Rémission complète	Moelle : ≤ 5% de blastes avec maturation normale des lignées cellulaires
	Sang périphérique :
	Hb ≥ 11 g/dL,
	Plaq ≥ 110x10^9/L,
	Neutro ≥ 1000x10^9/L,
	0% de blastes
Rémission partielle	Critères de RC en périphérie
	Moelle : diminution ≥ 50% du nombre de blastes, mais taux > 5%
Rémission complète médullaire	≤ 5% de blastes, et diminution ≥ 50%
Maladie stable	Absence de réponse au minimum type RP, mais sans critère de progression pendant > 8 semaines
Echec	Décès en cours de traitement ou maladie progressive
Maladie Progressive	Pour patients avec blastes :
	< 5% : augmentation ≥ 50%, > 5%
	10%-20% : augmentation ≥ 50%, > 20%
	20%-30% : augmentation ≥ 50%, > 30%
	Ou 1 parmi :
	Décroissance ≥ 50% par rapport au niveau max de réponse des taux de plaquettes et granulocytes
	Diminution de l'Hb ≥ 2 g/dL
	Dépendance transfusionnelle
Rechute après RC ou RP	Au moins 1 parmi :
	Retour au taux de blastes dans la moelle pré-traitement
	Décroissance ≥ 50% par rapport au niveau maximal de réponse des taux de plaquettes et granulocytes
	Diminution de l'Hb ≥ 1.5 g/dL ou dépendance transfusionnelle
Réponse cytogénétique	
Réponse cytogénétique complète	Disparition de l'anomalie chromosomique, sans apparition de nouvelle anomalie
Réponse cytogénétique partielle	Diminution d'au moins 50% de l'anomalie chromosomique
Amélioration hématologique	
Réponse érythrocytaire (pré-ttt < 11 g/dL)	Augmentation de l'Hb de ≥ 1.5 g/dL
	Réduction du nombre de transfusion de CGR d'au moins 4 sur 8 semaines (en comparaison au nombre de transfusions sur les 8 semaines pré-traitement).
Réponse plaquettaire (pré-ttt < 100x10^9/L)	Augmentation absolue ≥ 30x10^9/L pour patients débutants avec > 20x10^9/L plaquettes
	Augmentation de < 20 à > 20x10^9/L et ≥ 100%
Réponse granulocytaire (pré-ttt < 1.0x10^9/L)	Augmentation ≥ 100% et augmentation absolue > 0.5x10^9/L
Progression ou rechute après amélioration hématologique	Au moins 1 parmi :
	Diminution d'au moins 50% par rapport au max de la réponse du taux de granulocytes ou plaquettes.
	Diminution de l'Hb d'au moins 1.5 g/dL
	Dépendance transfusionnelle

Tableau 9 SMD : Critères d'évaluation de la réponse thérapeutique

3. Évaluation de la tolérance de l'Azacitidine

La tolérance de l'Azacitidine a été évaluée à partir des données consignées dans le dossier médical, de l'analyse de la fréquence des transfusions en produits sanguins, et des données du laboratoire d'hématologie, de biochimie et de microbiologie de l'hôpital.
Les événements indésirables ont été gradés selon le « common toxicity criteria of adverse events » (CTCAE v4.0).

4. Analyse statistique

Les résultats sont présentés à l'aide de statistiques descriptives : calcul de médianes avec étendue pour les variables continues, calcul de pourcentages pour les variables qualitatives. La survie globale a été définie comme le temps entre le diagnostic et la survenue du décès, quelle qu'en soit la cause. La survie sans événement a été définie comme le temps entre la première administration d'Azacitidine et la progression, la rechute, ou le décès quelle qu'en soit la cause. Pour les patients ayant reçu plusieurs traitements par Azacitidine, seul le premier traitement a été pris en compte dans l'estimation de la survie sans événement. La survie globale et la survie sans événement ont été analysées par la méthode de Kaplan-Meier. Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel R (version 3.3.2).

Le taux de réponse globale a été défini comme la proportion de patients présentant une réponse partielle ou complète en fin de traitement par Azacitidine.

RESULTATS

Trente-quatre patients ont été identifiés. Deux patients ont été exclus, soit en raison d'un âge à l'initiation de l'Azacitidine supérieur à 25 ans, soit parce que le traitement par Azacitidine n'avait pas été administré dans le centre de référence, mais dans le centre de proximité de prise en charge du patient.

Au total, **32 patients** ont donc été analysés dans cette étude : 15 patients du service de l'hôpital Robert-Debré, 6 patients du service de l'hôpital Armand-Trousseau, et 11 patients du service de l'hôpital St-Louis. Trois patients ayant reçu de l'Azacitidine à deux stades différents de leur maladie, un total de 35 traitements par Azacitidine a été analysé.

L'âge médian au diagnostic était de 11,7 ans (0,1-22,4), et le sex ratio de 15 garçons pour 17 filles.

Les pathologies initiales présentées par les patients étaient les suivantes : leucémie aiguë myéloïde (n = 16), leucémie myélomonocytaire juvénile (n = 6), syndrome myélodysplasique (n = 7), leucémie aiguë biphénotypique M et T (n = 2), sarcome à cellules dendritiques interdigitées (n = 1).

La majorité des traitements par Azacitidine (32/35, 91%) a été administrée à partir de 2013, avec une stabilité du nombre de patients par an à compter de cette date (4 à 6 patients par an). La distribution du nombre de patients traités par Azacitidine par année est présentée Figure 2.

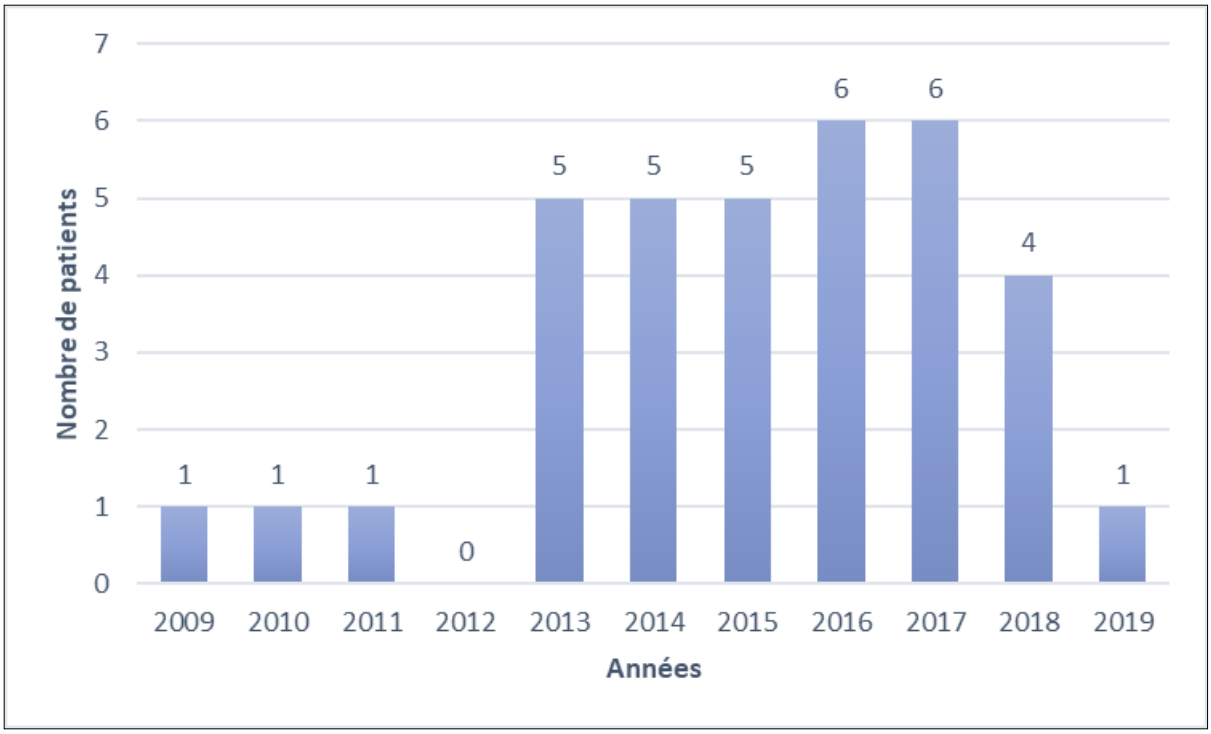


Figure 2 Distribution du nombre de patients traités par Azacitidine par année

1. Leucémies aiguës myéloïdes (n = 16)

1.1 Caractéristiques initiales des patients

L'âge médian des patients au diagnostic de LAM était de 12,3 ans (0,08-22,4) et le sex ratio de 4 garçons pour 12 filles. Le nombre médian de globules blancs au diagnostic était de 59 275/mm^3 (6860-307 000). Une patiente présentait une atteinte du système nerveux central au diagnostic (patiente n°30).

Deux patients présentaient un syndrome de prédisposition : une mutation constitutionnelle du gène RUNX1 (patient n°25) et une mutation constitutionnelle du gène RASA2 (patiente n°30).

Parmi les 16 patients avec une LAM, 4 présentaient une maladie de pronostic favorable, 5 présentaient une maladie de pronostic intermédiaire, et 7 présentaient une maladie de pronostic défavorable (selon la stratification du risque de l'étude pédiatrique Myechild).

Les caractéristiques cytologiques, cytogénétiques et moléculaires des patients sont résumées dans le Tableau 10.

N° patient	Sexe	Age diag	délai diag/ début Aza	Prédispo	FAB	GB /mm³	% de BM	Cytogénétique	Biologie moléculaire	Groupe de risque
8	M	4 ans 10 mois	1 an 3 mois	0	2	19 000	49%	46,XY,t(8;21)	Transcrit RUNX1-RUNX1T1	Favorable
9	F	9 ans 3 mois	4 mois	0	4	85 660	massif	47,XX,+8[20] FISH: remaniement de NUP98 dans 30% des noyaux analysés	FLT3 ITD, Surexpression de WT1	Défavorable
11	F	11 ans 6 mois	1 an 1 mois	0	1	202 700	89%	46,XX[20] FISH: pas de réarrangement MLL	WT1 muté	Intermédiaire
12	F	11 ans 10 mois	2 ans 10 mois	0	2	60 400	33%	46,XX,t(8;21)(q22;q22)[22]	Transcrit RUNX1-RUNX1T1, Surexpression WT1, Mutation de NRAS	Favorable
13	F	5 ans 8 mois	5 mois	0	4	58 400	50 à 55%	45,XX,-7/45,idem,der(2)?inv(2)(p?24q?11)[21]/46,XX [1]	Expression de WT1	Défavorable
15	F	12 ans 8 mois	3 mois	0	1	94 400	81%	46,XX FISH: pas de réarrangement MLL	Expression de WT1, FLT3 ITD	Défavorable
17	F	16 ans 3 mois	2 mois	0	2	14 000	60%	46,XX FISH: remaniement de NUP98	PTPN11 muté, RUNX1 muté, Surexpression de WT1	Défavorable
19	M	18 ans	5 mois	0	5	136 000	MD	50,XY,+8,+8,+13,+22[13]/46,XY[7]	FLT3-ITD, DNMT3A muté	Défavorable
20	F	18 ans 8 mois	1 an 8 mois	0	2	32 600	52%	46,XX,t(8;21)(q22;q22),del(9)(q13q33)[24]/45,X,-X,t(8;21)[6]	Transcrit RUNX1-RUNX1T1, Expression de WT1	Favorable
21	F	20 ans 2 mois	2 mois	0	5	307 000	92%	45,XX,i(3)(p10) or del(3)(q2?4q?26),?del(5)der(5)(q3;2),-7,add(12)(p13)[24]	EVI1 surexprimé, Mutation de NRAS	Défavorable
22	M	20 ans 9 mois	2 ans	0		60 150	78%	46,XY,t(11;19)(q23;13)[23]/46,XY[1] FISH: réarrangement MLL/ENL	Pas d'anomalie*	Intermédiaire
24	F	22 ans 5mois	9 mois	0	4	30400	64%	46,XX,?inv(16)(p13q22)[9]/46,XX[9] FISH: fusion CBFB-MYH11	WT1 surexprimé, BCOR muté exon 6, Transcrit CBFB-MYH11	Favorable
25	M	16 ans 3mois	6 mois	RUNX1	2	6860	45%	46,XY,del(7)(q22)[3]/47,idem+21[23]	WT1 muté, EVI1 surexprimé, RUNX1 muté, TET2 muté	Défavorable
30	F	1 mois	3 mois	RASA2	5	39 990	40%	46,XX FISH: pas de réarrangement MLL	Variant tronquant de RASA2 hétérozygote	Intermédiaire
31	F	5 ans 3 mois	7 mois	0	4~5	161 000	90%	46,XX,t(9;11)(p21;q23)[22] FISH: MLL réarrangé	Surexpression de WT1	Intermédiaire
32	F	5 ans 4 mois	1 an 2 mois	0	1	9314	88%	46,XX,t(2;14)(q13 ;q31)[19]/46,XX[1] FISH: pas de réarrangement MLL ni IGH, RUNX1 négatif	Expression de WT1	Intermédiaire

*Tableau 10 Caractéristiques initiales des patients présentant une LAM (*en NGS)*

1.2 Description des traitements reçus

Chez les patients présentant une LAM (n = 16), 49 cures d'Azacitidine ont été administrées, dont 48 cures complètes. Un patient ayant reçu un traitement par Azacitidine à 2 stades différents de sa maladie, un total de 17 équivalent-patients a été analysé. Le nombre médian de cures d'Azacitidine par équivalent-patient était de 3 cures (1-8), et 2/17 (12%) équivalent-patients ont reçu au moins 6 cures d'Azacitidine.

L'Azacitidine a été administrée après une médiane de 2 lignes de traitement (1-4) et aucun patient présentant une LAM n'a reçu l'Azacitidine en première ligne de traitement.

Le délai médian entre le diagnostic et l'administration d'Azacitidine était de 7 mois (2-34).

Pour la majorité des équivalents-patients (9/17, 53%), le schéma d'administration de l'Azacitidine suivait le schéma classique habituellement recommandé de 75 mg/m^2 par jour pendant 7 jours, tous les 28 jours, par analogie au schéma utilisé dans la majorité des études chez l'adulte. Quatre/17 traitements ont été administrés à la dose de 75 mg/m^2 par jour pendant 5 jours tous les 28 jours. Certains équivalent-patients ont reçu des schémas d'administration variables d'une cure à l'autre : variation de la dose en mg/m^2 (n = 3), ou du nombre d'injections par cure (patient n°12). Trois équivalent-patients ont reçu des doses réduites ($\leq$ 50 mg/m^2/injection), pendant au moins une cure : 1 équivalent-patiente en raison d'un traitement concomitant par Sorafénib (patiente n°9), 1 équivalent-patient en post-allogreffe (patient n°22'), et 1 équivalent-patiente présentant une neutropénie profonde à l'initiation de l'Azacitidine (patiente n°30). Pour 2 de ces équivalent-patients, la dose quotidienne a été augmentée à 75 mg/m^2 dès la 2^e cure, en raison de la bonne tolérance hématologique. Le 3^e équivalent-patient a reçu l'ensemble de son traitement à dose réduite, sans mauvaise tolérance hématologique.

La voie d'administration de l'Azacitidine était sous-cutanée pour la majorité des équivalent-patients (13/17, 76%) et intra-veineuse dans les autres cas.

Des traitements anti-leucémiques ont été administrés concomitamment à l'administration d'Azacitidine chez 11/17 (65%) équivalent-patients : du Sorafénib, anti-tyrosine kinase (patients n°9, n°15, n°19, n°31), du Gemtuzumab-ozogamicine (Mylotarg), anti-CD33 couplé à la calichéamycine (patients n°12 et n°13), des réinjections de lymphocytes du donneur (patients n°20 et n°22), du Venetoclax, inhibiteur de BCL-2 (patient n°25), une chimiothérapie intrathécale triple (patient n°30), et une polychimiothérapie par Ponatinib, VP16 oral et Idarubicine (patient n°21).

Le détail des doses et schémas d'administration de l'Azacitidine, ainsi que des traitements autres reçus par les patients présentant une LAM est résumé dans le Tableau 11.

N° patient	Traitements pré-Azacitidine	Aza: ligne de ttt n°	Nbre de cycles d'Aza	Dose Azacitidine	Voie Aza	Traitements associés	Traitements post Azacitidine
8	Induction ELAM01 + 3 conso Rattrapage AraC HD + Mylotarg + 2 conso Greffe de CSH	4	1	75 mg/m²/j x 7 j/28 j	SC	0	0
9	Induction ELAM02, 1 conso, début 1/2 conso 3 AraC + Mylotarg + Dauno	3	3	50 mg/m²/j x 7 j/28 j C1, 75 mg/m²/j x 7 j/28 j C2-C3	IV	Sorafénib	Greffe de CSH
11	Induction ELAM02 + 1 conso type n°2	2	3	75 mg/m²/j x 7 j/28 j	SC	0	Mylotarg AraC + Amsacrine Greffe CSH en RC2
12	Induction ELAM01 + 3 conso Complément Arac HD Relapsed AML 2009/01 FLAG Mylotarg Dauno Greffe de CSH	5	4	75 mg/m²/j x 5 j/28 j C1-C2, 75 mg/m²/j x7 j/28 j C3-C4	SC	Mylotarg C1-C2	Fluda Cyta VP16 + araC 2e greffe de CSH Azacitidine: 12 cures en entretien
13	Induction ELAM02 + conso n°1 Chimio attente greffe VP16 + AraC Greffe de CSH	4	1	75 mg/m²/j x 7 j/28 j	SC	Mylotarg à J8	Daunoxome + VP16 oral
15	Induction ELAM02 Rattrapage Mylotarg + AraC Vindésine + Oncaspar + VP16	4	3 *	75 mg/m²/j x 7 j/28 j	SC	Sorafénib	0
17	Induction 3+7 Rattrapage AraC HD	3	3	75 mg/m²/j x 7 j/28 j	SC	0	Greffe de CSH
19	Induction BIG (ida) Rattrapage AraC HD	3	2	75 mg/m²/j x 5 j/28 j	SC	Sorafénib	Greffe de CSH
20	Induction 3+7, 3 conso Induction mylotarg + AraC, conso mylotarg AraC Greffe de CSH	4	8	75 mg/m²/j x 5 j/28 j	SC	DLI	0
21	Induction 3+7 VP16 oral + purinéthol AraC HD + Idarubicine Dasatinib	5	3	75 mg/m²/j x 5 j/28 j	SC	Ponatinib VP16 oral Idarubicine	Idarubicine
22	Induction 3+7, 2 conso Greffe de CSH	3	1	75 mg/m²/j x 5 j/28 j	SC	0	clofa + AraC, 2 conso par AraC
22'		5	6	37,5 mg/m²/j x 5 j/28 j	SC	DLI x 3	AraC + venetoclax VP16 oral
24	Induction 3+7, 3 conso Rattrapage AraC HD + Mylotarg	3	2	75 mg/m²/j x 7 j/28 j	SC	0	0
25	2 inductions Myechild Mitoxantrone AraC Rattrapage AraC HD	3	3**	75 mg/m²/j x 7 j/28 j	SC	Venetoclax	0
30	Induction ELAM02 Rattrapage Fluda AraC Mylotarg	3	2	50 mg/m²/j x 7 j/28 j à C1, 70 mg/m²/j x 7 j/28 j à C2	IV	IT triple J22C2	Greffe de CSH
31	Induction ELAM02 + 3 conso Mylotarg + AraC + Daunorubicine	3	2	75 mg/m²/j x 7 j/28 j	IV	Sorafénib	Idarubicine MTX HD + PEG-Aspa VP16 oral + Idarubicine Venetoclax
32	Induction ELAM02 + 3 conso Fludarabine + AraC Vindésine	4	2	75 mg/m²/j x 7 j/28 j	IV	0	Daratumumab Daunorubicine MTX + kidrolase VP16 Caroplatine Dauno AraC

*Tableau 11 Description des traitements reçus par les patients présentant une LAM, (*patiente décédée à J5C3, **patient en cours de traitement aux dernières nouvelles)*

1.3 Évaluation de la réponse à l'Azacitidine

Pour les patients présentant une LAM, la réponse à l'Azacitidine chez 17 équivalent-patients a été étudiée. Le recul médian entre la première administration d'Azacitidine et la date des dernières nouvelles était de 10 mois (1-72).

1.3.1 Statut des patients à l'initiation de l'Azacitidine

À l'initiation du traitement, 10/17 équivalent-patients étaient en rechute de leur LAM, 6/17 équivalent-patients présentaient une LAM réfractaire d'emblée, 1/17 patient était en RC2. Parmi les 10 équivalent-patients présentant une rechute : 5/10 équivalent-patients étaient en rechute n°1, sans traitement par allogreffe préalable (patients n°11, n°24, n°25, n°31, n°32), 2/10 équivalent-patients étaient en rechute n°1 post-allogreffe (patients n°13 et n°22), et 3/10 équivalent-patients étaient en rechute n°2 post-allogreffe (patients n°8, n°12, n°20). Six/10 des équivalent-patients en rechute ont reçu l'Azacitidine en première ligne de traitement de cette rechute (dont 5/6 équivalent-patients en rechute post-allogreffe, 1/6 équivalent-patient en rechute sans allogreffe préalable), et 4/10 équivalent-patients (tous en rechute sans allogreffe préalable) présentaient une LAM réfractaire à la rechute et ont reçu l'Azacitidine après une médiane de 1 ligne de traitement (1-2).

Les caractéristiques cytogénétiques et/ou moléculaires des leucémies à la rechute différaient des caractéristiques initiales de la maladie chez 3 patients : la rechute d'une LAM 1 sous forme de LA biphénotypique M et T, avec apparition d'une surexpression de WT1 (patiente n°11), l'apparition d'une surexpression de WT1 (patient n°22), l'apparition de trisomies 8 et 21 au caryotype d'une LAM 4 avec inversion du 16, associée à la perte de la mutation BCORL1 en biologie moléculaire (patiente n°24).

Concernant les 6/17 équivalent-patients présentant une LAM réfractaire d'emblée, 4/6 équivalent-patients avaient reçu 2 lignes de traitement préalables (patients n°9, n°17, n°19, n°30), 1/6 équivalent-patient avait reçu 3 lignes de traitement préalables (patiente n°15), et 1/6 équivalent-patient avait reçu 4 lignes de traitement préalables (patient n°21).

Le patient n°22 a reçu 2 cycles de traitement par Azacitidine : un premier cycle à la rechute n°1, à 20 mois post allogreffe de CSH, avec échec thérapeutique précoce à une cure, puis un second cycle en traitement d'entretien d'une RC2.

Le traitement par Azacitidine a été introduit dans un projet thérapeutique palliatif chez une patiente (patiente n°15).

1.3.2 Réponse à l'Azacitidine

L'évaluation de la meilleure réponse au traitement retrouvait : 10/17 équivalent-patients n'ont présenté aucune réponse à l'Azacitidine, 3/17 équivalent-patients ont présenté une aplasie non blastique après 1 cure (patient n°30) ou 2 cures (patients n°17 et n°19), 1/17 équivalent-patient a eu un maintien de sa RC pendant 5 cures (patient n°22'), 1/17 équivalent-patiente a eu une maladie stable après 3 cures (patiente n°12), et 1/17 équivalent-patiente a obtenu une RC après 3 cures (patiente n°9). Le patient n°25 étant toujours en cours de traitement aux dernières nouvelles, sa réponse au traitement n'a pu être évaluée.

À l'arrêt de l'Azacitidine, 12/17 (71%) équivalent-patients étaient en échec thérapeutique, avec une LAM réfractaire au traitement (n=11) ou une rechute morphologique (n=1), 2/17 équivalent-patients étaient en aplasie non blastique, 1/17 équivalent-patient était en rémission partielle, 1/17 équivalent-patient était en rémission complète n°1. 1/17 équivalent-patient étant en cours de traitement, sa réponse n'a pu être évaluée. Le taux de réponse globale était donc de 4/16, soit 25%.

Parmi les 10 équivalent-patients en rechute à l'initiation de l'Azacitidine, 9/10 étaient en échec thérapeutique à la fin du traitement, et 1/10 était toujours en cours de traitement.

Parmi les 11 équivalent-patients réfractaires à l'Azacitidine en fin de traitement, 10/11 étaient décédés aux dernières nouvelles, après un délai médian de 7 mois (1-19). Quatre équivalent-patients sur ces 10 patients décédés n'ont pas reçu de traitement post Azacitidine (patients n°8, n°15, n°20, n°24), 2/10 ont reçu un traitement palliatif post Azacitidine (patients n°13 et n°21), 4/10 ont reçu un traitement curatif post Azacitidine, dont 2 ont permis d'obtenir une RC2 chez le patient (patients n°11 et n°22).

La patiente n°12 présentait une LAM réfractaire en fin de traitement par Azacitidine, et était vivante en RC3 aux dernières nouvelles, avec un recul de 37 mois. Elle avait reçu une 2^{e} allogreffe de CSH en RC3, puis avait bénéficié d'un traitement d'entretien par 12 cures d'Azacitidine. Ces 12 cures de traitement par Azacitidine ne sont pas évaluées ici, car elles n'ont pas été administrées dans l'un des trois centres de l'étude.

L'équivalent-patient en rechute morphologique à la fin du traitement (n°22') avait reçu l'Azacitidine en traitement d'entretien de sa RC2. Il a présenté une rechute morphologique après 6 cures, et est décédé à 12 mois du début du traitement d'entretien.

Les 2 équivalent-patients en aplasie non blastique à la fin du traitement par Azacitidine présentaient une LAM réfractaire d'emblée, et à 2 lignes de traitement à l'initiation de l'Azacitidine. Ils ont reçu un traitement anti-leucémique concomitant (Sorafénib pour le

patient n°19, et IT triple pour la patiente n°30), puis une allogreffe de CSH et étaient, aux dernières nouvelles, en RC à 6 ans et 1 an de l'initiation de l'Azacitidine.

La patiente en rémission partielle à la fin du traitement (n°17) était traitée pour une LAM réfractaire d'emblée et à 2 lignes de traitement. Elle a reçu une allogreffe de CSH à l'arrêt de l'Azacitidine, et était en RC1 aux dernières nouvelles (21 mois après l'initiation de l'Azacitidine).

La patiente en RC1 à la fin du traitement par Azacitidine (n°9) avait reçu concomitamment du Sorafénib, puis une allogreffe de CSH, et était toujours en RC1 aux dernières nouvelles (recul de 38 mois).

Au total, l'Azacitidine a conduit à une allogreffe de CSH chez 4 équivalent-patients présentant une LAM (patients n°9, n°17, n°19 et n°30). Tous étaient en vie en RC aux dernières nouvelles (recul médian de 29,5 mois (12-72)), alors que tous présentaient une LAM réfractaire d'emblée, et après 2 lignes de traitement, à l'initiation de l'Azacitidine.
Deux autres patients ont été greffés secondairement à l'Azacitidine (patients n°11 et n°12), mais ils avaient reçu une autre ligne de traitement en pré-greffe.

Aux dernières nouvelles, 10/16 (63%) patients étaient décédés, après un recul médian post-traitement par Azacitidine de 10 mois (1-72).

La survie globale à 5 ans des patients présentant une LAM était de 17%, IC95% [4 ; 83] (voir Figure 6). La médiane de survie sans événement après initiation de l'Azacitidine était de 10,7 mois (voir Figure 7). Il n'y avait pas de différence significative sur la médiane de survie sans événement après initiation de l'Azacitidine, entre les patients ayant reçu un traitement associé concomitant ou non (médianes de survie respectivement de 8,61 mois, et 10,78 mois, p = 0,48) (voir Annexe 1). Les survies sans événement à 3 ans pour les patients présentant une LAM en rechute ou une LAM réfractaire d'emblée étaient respectivement de 11% IC95% [2 ; 72] et 67% IC95% [38 ; 100], p = 0,08 (voir Figure 3), et les survies globales à 3 ans de 22% IC95% [7 ; 75] et 67% IC 95% [38 ; 100], p = 0,45 respectivement (voir Figure 4).

La réponse au traitement des patients présentant une LAM est détaillée dans le Tableau 12.

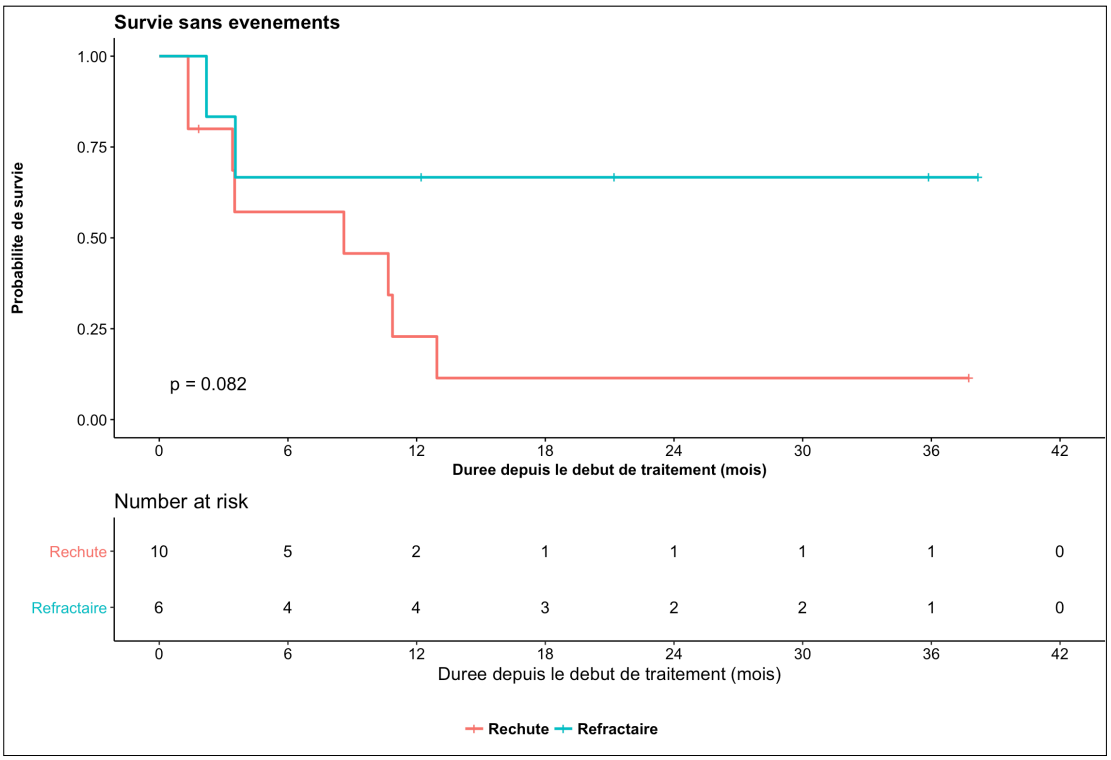


Figure 3 Survie sans événement après initiation de l'Azacitidine chez les patients présentant une LAM, selon le statut de la maladie (en rechute ou réfractaire d'emblée)

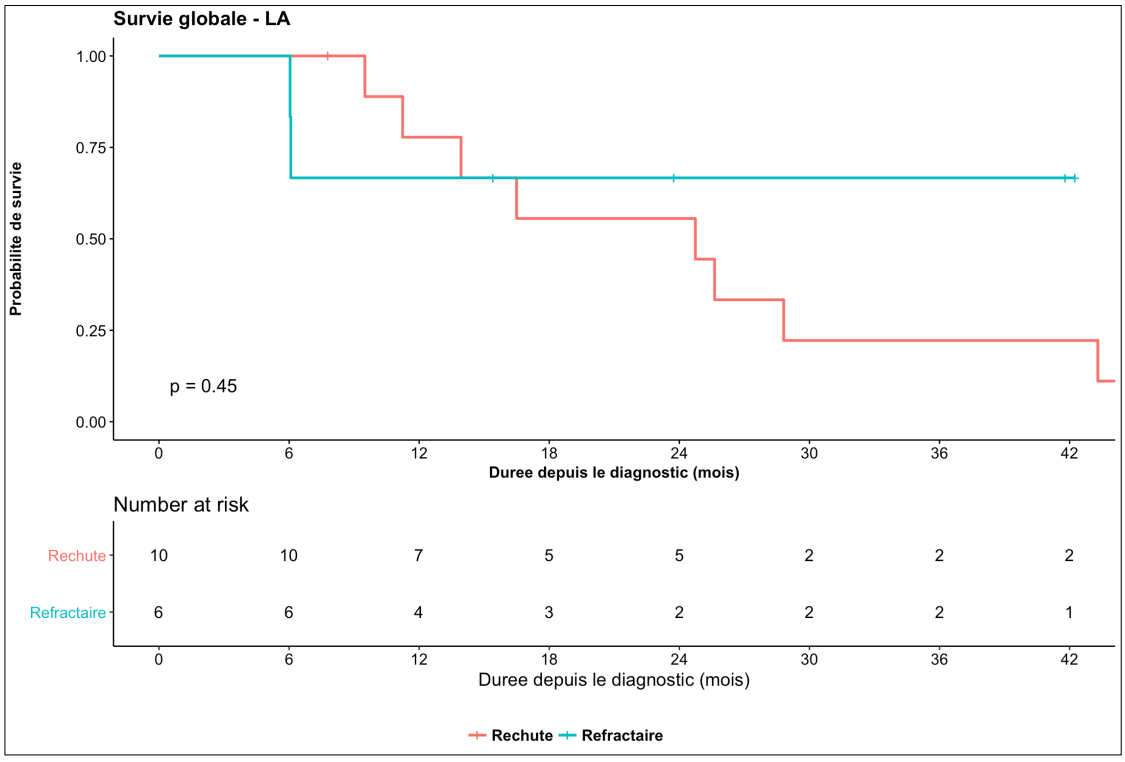


Figure 4 Survie globale des patients présentant une LAM, selon le statut de la maladie (en rechute ou réfractaire d'emblée)

Tableau 12 Évaluation de la réponse à l'Azacitidine chez les patients présentant une LAM

N° patient	Statut à l'initiation de l'Azacitidine	Numérations pré ttt	% de BM pré tt	Cytogénétique préttt	Biologie moléculaire préttt	Evaluations réponse	Meilleure réponse à l'AZA	Statut à l'arrêt de l'AZA	Délai début ttt/DN	Statut aux DN
8	Rechute n°2 à 2mois post allogreffe	Hb = 6,4 GB = 20 000 plq = 20 000	22%	idem diagnostic	idem diagnostic	C1: BS	Pas de réponse	Echec thérapeutique, LAM réfractaire	1 mois	D
9	LAM réfractaire après 2 lignes	Hb = 10,8 GB = 870 Plq = 17 000	28%	idem diagnostic	idem diagnostic	C1: 10% de BM C2: aplasie non blastique C3: RC1	C3: RC1	Rémission complète n°1	38 mois	V
11	Rechute n°1 à 1 an de RC LA biphénotypique M et T	PNN = 2600 Plq = 172 000	41%	46,XX	Surexpression WT1	C1: 46% de BM C3: 48% de BM	Pas de réponse	Echec thérapeutique, LAM réfractaire	11 mois	D
12	Rechute n°2 à 18 mois post allogreffe	PNN = 2310 Plq = 138 000	15%	idem diagnostic	MRD RUNX1-RUNX1T1 12%, Surexpression de WT1	C2: 18% de BM C3: 10% de BM C4: 12% de BM	C3: Maladie stable	Echec thérapeutique, LAM réfractaire	37 mois	V
13	Rechute n°1 à 2 mois post allogreffe	PNN = 2970 Plq = 28 000 Autre: chim 100% donneur	28%	idem diagnostic	DM	C1: 70% de BM	Pas de réponse	Echec thérapeutique, LAM réfractaire	3 mois	D
15	LAM réfractaire après 3 lignes	PNN = 1650 Plq = 151 000 Autre: 151 000 BS	NF	idem diagnostic	idem diagnostic	C1: 45 à 50% de BM C2: 85 740 BS	Pas de réponse	Echec thérapeutique, LAM réfractaire	2 mois	D
17	LAM réfractaire après 2 lignes	Hb = 9,8 PNN = 1110 Plq = 139 000	29%	idem diagnostic	idem diagnostic	C1: 6% de BM C2: 2% de BM C3: 6% de BM	C2: aplasie non blastique	Remission partielle	21 mois	V
19	LAM réfractaire après 2 lignes	PNN = 3720 Plq = 21 000	31%	idem diagnostic	idem diagnostic	C1: 6% de BM C2: 0% de BM	C2: aplasie non blastique	Aplasie non blastique	72 mois	V
20	Rechute n°2 à 4 mois post allogreffe	Hb = 11,4 PNN = 1770 Plq = 183 000	9%	idem diagnostic	idem diagnostic	C1: 20% de BS C5: 3% de BS, 53% de BM	Pas de réponse	Echec thérapeutique, LAM réfractaire	8 mois	D
21	LAM réfractaire après 4 lignes	Hb = 7,8 GB = 29 500, dt BS Plq = 122 000	NF	idem diagnostic	idem diagnostic	C1: BS (GB = 140 000) C2: 76% de BS C3: 86% de BS	Pas de réponse	Echec thérapeutique, LAM réfractaire	15 mois	D
22	Rechute n°1 à 20 mois post allogreffe	Hb = 13,7 PNN = 510 Plq = 135 000 BS = 2%	35%	idem diagnostic	Surexpression WT1	C1: 50% de BS	Pas de réponse	Echec thérapeutique, LAM réfractaire	19 mois	D
22'	RC2	Hb = 13,8 PNN = 3640 Plq = 201 000	NF	idem diagnostic	Surexpression WT1	C1: persistance RC2 C6: 68% de BM, 60% de BS	C1 à C5: maintien RC	Rechute morphologique	12 mois	
24	Rechute n°1 réfractaire après 1 ligne	PNN = 250 Plq = 25 000	53%	47,XX,inv(16)(p13q22),+21[2]/ 48,sl,+8[17]/ 48,sdl1,t(3;6)(q2?9;q2?1)[3]	Transcrit CBFB-MYH11, Absence mutation BCORL1 du diag, t(3;6) 2 métaphases sur 20	C1: 52% de BM	Pas de réponse	Echec thérapeutique, LAM réfractaire	1 mois	D
25	Rechute n°1 on therapy, réfractaire après rattrapage	Hb = 8,8 PNN = 1570 Plq = 115 000	19%	idem diagnostic	idem diagnostic	C1: 15% de BM	NE	En cours de traitement	1 mois	V
30	LAM réfractaire après 2 lignes	PNN = 0 Plq = 101 000	10%	idem diagnostic	idem diagnostic	C1: 2,5% de BM C2: 4% de BM	C1: aplasie non blastique	Aplasie non blastique	12 mois	V
31	Rechute n°1 on therapy, réfractaire après rattrapage	PNN = 1590 Plq = 104 000	15%	idem diagnostic	idem diagnostic	C1: 59% de BM C2: 40% de BS	Pas de réponse	Echec thérapeutique, LAM réfractaire	6 mois	D
32	Rechute n°1 à 10 mois de RC1, réfractaire après 2 lignes	GB = 580 Plq = 127 000	92%	idem diagnostic	idem diagnostic	C2: 95% de BM	Pas de réponse	Echec thérapeutique, LAM réfractaire	10 mois	D

2. Leucémies myélomonocytaires juvéniles (n = 6)

2.1 Caractéristiques initiales des patients

L'âge médian des patients au diagnostic de LMMJ était de 26 mois (1-55) et le sex ratio de 5 garçons pour 1 fille.

Un syndrome de prédisposition à type de mutation constitutionnelle du gène CBL a été rapporté chez 1 patient (patient n°3).

Au diagnostic, 2 patients présentaient une LMMJ acutisée d'emblée (patients n°1 et n°29).

Le diagnostic de LMMJ a été posé secondairement chez la patiente n°29 (diagnostic initial de LAM 4), et les caractéristiques cytogénétiques initiales de cette patiente ne sont pas connues. À la rechute, elle présentait une mutation de NRAS somatique associée à des variants pathogènes des gènes SETBP1 et Ikaros.

Les mutations de la voie RAS identifiées chez nos patients comprenaient 3 mutations somatiques de PTPN11, 2 mutations de NRAS (dont une à l'état hétérozygote), et une mutation germinale de CBL. Les caractéristiques initiales des patients présentant une LMMJ sont résumées dans le Tableau 13.

N° patient	Sexe	Age diag	Délai diag/ début Aza	Prédispo	Rate clinique/écho	Maladie extra médullaire	% BM	Cytogénétique	Biologie moléculaire
1	M	2 ans 2mois	1 an 6 mois	0	12 cm/DM	Oui	32%	46,XY,del(9)(q21,q32)[10]/48,idem,+21,+22[1]/48,XY,+21,+22[3]/46,XY[16]	Mutation PTPN11, Surexpression WT1
2	M	2 ans 2mois	4 ans 6mois	0	Non palpée/DM	Oui	3 à 5%	46, XY [30]	Mutation PTPN11
3	M	1 mois	2 mois	CBL	5 cm/DM	Oui	0%	DM	Mutation CBL (germinale)
4	M	3 ans 3 mois	3 mois	0	7 cm/DM	Oui	7%	46, XY, del(5) (q13q32), ?inv(9) (p11q13)c [11]/45 , X , -Y, idem [11]/46, XY, ?inv(9) (p11q31)c [4]	Mutation hétérozygote de NRAS
27	M	4 ans 7 mois	1 mois	0	8 cm/169,5 mm	Oui	10%	46, XY [20] FISH: présence de 2 signaux de EGR1 (5q31) dans les 200 noyaux analysés	Mutation PTPN11, Surexpression de Lin28B
29	F	1 an 3 mois	1 an	0	HMG/DM	DM	90%	DM	DM

Tableau 13 Caractéristiques initiales des patients présentant une LMMJ

2.2 Description des traitements reçus

Chez les patients présentant une LMMJ (n = 6), 13 cures d'Azacitidine ont été administrées, dont 11 cures complètes. Un patient ayant reçu un traitement par Azacitidine à 2 stades différents de sa maladie, un total de 7 équivalent-patients a été analysé. Le nombre médian de cures d'Azacitidine par équivalent-patient était de 2 cures (0,3-3). Aucun équivalent-patient n'a reçu au moins 6 cures d'Azacitidine.

L'Azacitidine a été administrée après une médiane de 3 lignes de traitement (0-5) et 1 patient a reçu l'Azacitidine en première ligne de traitement.

Le délai médian entre le diagnostic et l'administration d'Azacitidine était de 12 mois (1-54).

Pour la majorité des équivalent-patients (6/7, 86%), le schéma d'administration de l'Azacitidine suivait le schéma classique habituellement recommandé de 75 mg/m^2 par jour pendant 7 jours, tous les 28 jours, par analogie au schéma utilisé dans la majorité des études chez l'adulte. Un équivalent-patient sur 7 a reçu une dose réduite (50 mg/m^2/injection), dans un contexte de leucopénie avant initiation du traitement.

La voie d'administration de l'Azacitidine était intra-veineuse pour la majorité des équivalent-patients (5/7, 71%) et sous-cutanée dans les autres cas.

Un traitement anti-leucémique par polychimiothérapie (Etoposide, Dexaméthasone et Aracytine) a été administré concomitamment à l'administration d'Azacitidine chez 1/7 équivalent-patient (patient n°29). Le détail des doses et schémas d'administration de l'Azacitidine, ainsi que des traitements autres reçus par les patients présentant une LMMJ est résumé dans le Tableau 14.

N° patient	Traitements pré-Azacitidine	Aza: ligne de ttt n°	Nbre de cycles d'Aza	Dose Azacitidine	Voie Aza	Traitements associés	Traitements post Azacitidine
1	CTC + purinéthol Fluda + AraC + Mylotarg Greffe de CSH n°1 Rapamune + CTC Greffe de CSH n°2	6	1*	75 mg/m²/j x 2 j/28 j	SC	0	VP16 oral
2	Purinéthol Greffe de CSH Purinéthol	4	3	75 mg/m²/j x 7 j/28 j	SC	0	2e greffe de CSH Cytarabine + VP16 oral
3	Dexa + purinéthol + AraC + VP16 AraC + Fluda	3	1	50 mg/m²/j x 7 j/28 j	IV	0	Purinéthol Pseudo VEDA FRALLE B
4	Purinéthol	2	2**	75 mg/m²/j x 7 j/28 j	IV	0	ELAM02 Greffe de CSH
4'		5	2	75 mg/m²/j x 7 j/28 j	IV	0	VEDA
27	0	1	3	75 mg/m²/j x 7 j/28 j	IV	0	Greffe de CSH Greffe de CSH n°2
29	Induction ELAM02 + 3 conso Entretien par AraC SC + purinéthol CTC	4	1	75 mg/m²/j x 7 j/28 j	IV	VP16 + Dexa + AraC à J9	Fluda + AraC + Ida + Mylotarg

*Tableau 14 Description des traitements reçus par les patients présentant une LMMJ (*2 injections/7 administrées, **1 injection/7 administrée à C2)*

2.3 Évaluation de la réponse à l'Azacitidine

Pour les patients présentant une LMMJ (n = 6), la réponse à l'Azacitidine chez 7 équivalent-patients a été évaluée. Le recul médian entre la première administration d'Azacitidine et la date des dernières nouvelles était de 8,5 mois (1-25).

2.3.1 Statut des patients à l'initiation de l'Azacitidine

À l'initiation du traitement, 4/7 équivalent-patients étaient en rechute de leur maladie, dont 3 après allogreffe de CSH, 2/7 équivalent-patients ont reçu l'Azacitidine en « bridge to transplant », soit en 1e ligne (patient n°27), soit en 2e ligne de traitement (patient n°4), et 1/7 équivalent-patient (patient n°3) a reçu l'Azacitidine en 3e ligne de traitement d'une maladie réfractaire. Les caractéristiques des patients à la rechute différaient du diagnostic pour un d'entre eux, avec acquisition d'une monosomie 7 au caryotype (patient n°2). Pour la patiente n°29, les caractéristiques au diagnostic n'étaient pas connues. À la rechute, elle présentait un caryotype complexe, et en biologie moléculaire, une mutation de NRAS, associée à des variants pathogènes de SETBP1 et d'Ikaros.
Tous les patients ont reçu le traitement à visée curative.

Le patient n°4 a reçu de l'Azacitidine à deux stades de sa maladie : en pré-greffe de CSH, en 2e ligne de traitement, puis à la rechute n°1 post-allogreffe de CSH.

2.3.2 Réponse à l'Azacitidine

L'évaluation de la meilleure réponse au traitement retrouvait : 3/7 équivalent-patients n'ont pas présenté de réponse à l'Azacitidine, 2/7 équivalent-patients présentaient une rémission partielle à 2 cures (patient n°2) ou à 3 cures (patient n°27) (2/7 équivalent-patients non évaluables).

À l'arrêt de l'Azacitidine, 3/7 équivalent-patients présentaient une maladie progressive (patients n°3, n°4 et n°4'), et 2/7 équivalent-patients présentaient une rémission partielle (patients n°2 et n°27). La réponse n'était pas évaluable chez 2/7 équivalent-patients. La réponse globale au traitement était donc de 2/5, soit 40%.

Parmi les équivalent-patients présentant une maladie progressive en fin de traitement par Azacitidine, l'un présentait une maladie réfractaire d'emblée et est décédé à 1 mois de l'initiation de l'Azacitidine (patient n°3), l'autre (patient n°4/4') a reçu de l'Azacitidine à 2 reprises : en 2e ligne au diagnostic, où il avait présenté une acutisation rapide après 1 cure,

puis en rechute post-allogreffe, où il a présenté une maladie progressive à C1, et est décédé à 4 mois de l'initiation de l'Azacitidine.

Parmi les 2 patients en rémission partielle à la fin du traitement par Azacitidine, le patient n°2 était traité pour une première rechute de sa maladie, et a reçu une seconde allogreffe de CSH au décours de son traitement par Azacitidine. Il a présenté une seconde rechute précoce post-allogreffe n°2 et est décédé, à 10 mois de l'initiation de l'Azacitidine. Le second patient en rémission partielle à la fin du traitement (patient n°27) avait reçu l'Azacitidine en première ligne de traitement, dans le cadre du protocole AZA-JMML-001. Il a été allogreffé au décours de l'Azacitidine et était en vie en RC1 aux dernières nouvelles (recul de 25 mois).

La réponse n'était pas évaluable chez 2 patients : le patient n°1, qui n'a reçu que 2 injections/7 de sa cure en raison d'une toxicité précoce de grade 2, et le patient n°29, qui a reçu une cure de chimiothérapie de type EDA (Etoposide, Dexaméthasone et Aracytine) à J9 de sa cure, en raison d'une évolution blastique. Ces deux patients sont décédés respectivement 7 mois et 3 mois après l'initiation de l'Azacitidine.

L'Azacitidine a conduit à une allogreffe de CSH chez 2/7 équivalent-patients (patients n°27 et n°2), dont 1/2 équivalent-patient était toujours en vie en RC aux dernières nouvelles (patient n°27). Pour le patient décédé, il s'agissait d'une seconde allogreffe de CSH. Un autre patient a reçu une allogreffe de CSH secondairement à l'Azacitidine, mais après une autre ligne de traitement en pré-greffe (patient n°4).

Au total, 5/6 patients étaient décédés aux dernières nouvelles, après un délai médian post Azacitidine de 7 mois (1-13).

La survie globale à 5 ans des patients présentant une LMMJ était de 33%, IC95% [11 ; 100] (voir Figure 6). La médiane de survie sans événement après initiation de l'Azacitidine était de 4,22 mois (voir Figure 7).

La réponse au traitement des patients présentant une LMMJ est détaillée dans le Tableau 15.

Tableau 15 Évaluation de la réponse à l'Azacitidine chez les patients présentant une LMMJ

N° patient	Statut à l'initiation de l'Azacitidine	Numérations préttt	taille rate préttt clinique/écho	% BM pré ttt	Maladie extramédullaire préttt	Cytogénétique préttt	Biologie moléculaire préttt	Evaluations réponse	Meilleure réponse à l'AZA	statut à l'arrêt de l'AZA	Délai début ttt/DN	Statut aux DN
1	Rechute n°2 J45 post 2e allogreffe	GB = 7700 Mono = 960 Blastes = 8,4% Plq = 16 000	DM/DM	11%	Non	DM	DM	NE	NE	NE, passage SP	7 mois	D
2	Rechute n°1 post allogreffe	GB = 2200 Mono = 40 Blastes = 0,5% Plq = 11 000	4 cm/DM	19%	HMG = 2 cm, Adénoapthies	45,XY,-7	idem diagnostic	C1: BS = 2%, BM = 2,5%, Plq = 22 000, Rate clinique = 6 cm, HMG = 1 cm C2: BS = 0%, BM = 0%, Rate = 3-4 cm, Disparition m. extramédullaire	C2: RP, aplasie non blastique	RP	10 mois	D
3	3e ligne, maladie réfractaire	GB = 1680 Mono = 1550 Blastes = 0% Plq = 72 000	DM/11 cm	0%	HMG: 7,3 cm en avant VCI, 8,7 cm en avant rein D	DM	idem diagnostic	C1: Plq = 23 000 Rate écho 13,5x10,5x3cm Foie: 5,5 cm en avant VCI, 7 cm en avant rein D	Pas de réponse	MP	1 mois	D
4	2e ligne, bridge to transplant	GB = 2340 Mono = 140 Blastes = 16% Plq = 19 000	DM/DM	DM	Non	idem diagnostic	idem diagnostic	C1: Blastes = 29%	Pas de réponse	MP, acutisation	13 mois	D
4'	Rechute n°1 à 5,5 mois post allogreffe	GB = 5400 Mono = 1080 Blastes = 0% Plq = 32 000	0 cm/DM	3%	lésions cutanées	idem diagnostic	idem diagnostic	C1: 16% de BM, diminution lésions cutanées C2: 15% de BM	Pas de réponse	MP	4 mois	
27	1e ligne, bridge to transplant, protocole AZA-JMML-001	GB = 15 600 Mono = 1400 Blastes = 16% Plq = 19 000	8 cm/169,5 mm	10%	HMG, Adénopathies	idem diagnostic	idem diagnostic	C1: BS = 7%, BM = 8%, Plq = 113 000, Rate: 11 cm/15x15x4,5 cm, adénopathies stables, Foie=7 cm C3: BS = 5%, BM= 6%, Plq = 81 000, Rate: 9 cm/15 x 14 cm, Foie = 5 cm	C3: RP	RP	25 mois	V
29	Rechute n°1 à 6 mois de RC1	GB = 4200 Mono = 130 Blastes = 55% Plq < 10 000	HSM	55%	Non	45,XX,?del(1)(q?4?2)[10], der(6)t(6;10;7)(q2?3;?;?),-7,-10, del(12)(p13),der(18)t(18;7;10)(?,?;?q?), +r(10)(?)[20]	Mutation NRAS, Variant SETBP1, Variant IKZF1	NE	NE	NE	3 mois	D

3. Syndromes myélodysplasiques (n = 7)

3.1 Caractéristiques initiales des patients

L'âge médian des patients au diagnostic de SMD était de 13,9 ans (5,25-21,6) et le sex ratio de 3 garçons pour 4 filles.

Quatre patients sur 7 présentaient un SMD secondaire : post chimiothérapie d'une LAL T chez un patient présentant par ailleurs un Xeroderma Pigmentosum (patient n°5), secondaire à une maladie de Fanconi (patient n°7), post chimiothérapie en traitement d'une LAL B (patient n°14), post chimiothérapie pour un rhabdomyosarcome (patiente n°26), évolution clonale d'une aplasie médullaire chez un patient présentant un déficit constitutionnel en récepteur 3 du fragment gamma des immunoglobulines, FcgRIII (patient n°23).

Au diagnostic, le SMD était de bas grade chez 1/7 patiente (n°26), et de grade avancé chez 6/7 patients, dont un SMD acutisé d'emblée chez une patiente (n°14). Sur le plan cytogénétique, 2 patients présentaient un caryotype normal (patients n°23 et n°28), 2 patients présentaient une monosomie 7 (patients n°6 et n°14), et 3 patients présentaient un caryotype complexe (patients n°5, n°7 et n°26).

Les caractéristiques initiales des patients présentant un SMD sont résumées dans le Tableau 16.

N° patient	Sexe	Age diag	Délai diag/ début Aza	Prédispo	Primaire/ secondaire	% de BM	Cytogénétique	Biologie moléculaire
5	M	13 ans 3 mois	1 mois	XP	Secondaire	6%	45,XY,-5,?t(14;15)(q32;q1?4),del(7)(q2?2)[cp15]/45,XY,-5,del(9)(q2?2)[5]/46,XY[3]	DM
6	F	7 ans	2 mois	0	Primaire	16%	45,XX,-7	Mutation PTPN11 hétérozygote
7	M	5 ans 3 mois	1 mois	M. Fanconi	Secondaire	17%	46,XY,add(2)(q2?5)[11],del(5)(q22q35),del(13)(q1?3q32),del(17)(p11),+/-?mar[5][cp24]/ 46,sl,?der(6)t(1.6)(q?:q?)[1]/46,sl2,der(?8)t(1;8)(q11;p?11)[1] FISH: perte d'un signal de TP53 dans 90% des noyaux analysés, Présence de 3 signaux de MDM4 dans 50% des noyaux analysés, Présence de 2 signaux 7q22 et 7q31 dans les 200 noyaux analysés	Lin28B surexprimé, Mutation heterozygote sous clonale de K-RAS
14	F	14 ans 9 mois	2 mois	0	Secondaire	60%	45,XX,-7	Expression de WT1
23	M	21 ans 7 mois	0 mois	0	Secondaire	9%	46,XY[30] FISH: 2 signaux centromériques du chromosome 8, 2 signaux en 7q22/7q31 2 signaux en 5q31(EGR1)/5p15	Pas d'anomalie
26	F	17 ans 9 mois	10 mois	0	Secondaire	3%	Complexe, del(5q), remaniement 7q et 17p, del(17p53)	DM
28	F	13 ans 11 mois	3 ans 10 mois	0	Primaire	12%	46,XX	DM

Tableau 16 Caractéristiques initiales des patients présentant un SMD

3.2 Description des traitements reçus

Chez les patients présentant un SMD, 41 cures de chimiothérapie par Azacitidine ont été administrées, toutes complètes. Un patient ayant reçu un traitement par Azacitidine à 2 stades différents de sa maladie, un total de 8 équivalent-patients a été analysé. Le nombre médian de cures d'Azacitidine par équivalent-patient était de 3,5 cures (1-19). Deux équivalent-patients ont reçu au moins 6 cures d'Azacitidine.

L'Azacitidine a été administrée après une médiane de 0,5 ligne de traitement (0-4) et 4/8 équivalent-patients ont reçu l'Azacitidine en première ligne de traitement.

Le délai médian entre le diagnostic et l'administration d'Azacitidine était de 2 mois (0-46).

Le schéma d'administration de l'Azacitidine suivait le schéma classique habituellement recommandé de 75 mg/m^2 par jour pendant 7 jours, tous les 28 jours, par analogie au schéma utilisé dans la majorité des études chez l'adulte, pour 3/8 équivalent-patients (n°6, n°7 et n°26). Trois/8 équivalent-patients ont reçu la dose de 75 mg/m^2 par jour pendant 5 jours tous les 28 jours. Deux équivalent-patients (patients n°5 et n°23) ont reçu un nombre d'injections par cure variable d'une cure à l'autre (7 à 5 injections par cure). La voie d'administration de l'Azacitidine était sous-cutanée pour la majorité des équivalent-patients (7/8, 88%) et intra-veineuse dans l'autre cas.

Un traitement anti-leucémique par VP16, corticothérapie et Etopophos a été administré concomitamment à l'administration d'Azacitidine chez un patient (patient n°14). Le détail des doses et schémas d'administration de l'Azacitidine, ainsi que des traitements autres reçus par les patients présentant un SMD est résumé dans le Tableau 17.

N° patient	Traitements pré-Azacitidine	Aza: ligne de ttt n°	Nbre de cycles d'Aza	Dose Azacitidine	Voie Aza	Traitements associés	Traitements post Azacitidine
5	0	1	19	75 mg/m²/j x 7 j/28 j C1-C12, 75 mg/m²/j x 5 j /28 j C13-C19	SC	0	Hydréa
6	AraC SC x2/j x 15 j	2	3	75 mg/m²/j x 7 j/28 j	SC	0	0
7	0	1	1	75 mg/m²/j x 7 j/28 j	IV	0	VP16 oral + AraC
14	Vindésine AraC + Mylotarg	3	6	75 mg/m²/j x 5 j/28 j	SC	VP16, CTC, Etopophos	Endoxan, Hydréa, VP16 oral
23	0	1	4	75 mg/m²/j x 7 j/28 j C1-C3, 75 mg/m²/j x 5 j/28 j à C4	SC	0	Greffe de CSH
23'		3	1	50 mg/m²/j x 5 j/28 j	SC	0	Decitabine
26	0	1	2	75 mg/m²/j x 7 j/28j	SC	0	Greffe séquentielle de CSH
28	Induction ELAM02 + 1 conso Greffe de CSH Fluda + AraC + Ida DLI X 5	5	5	75 mg/m²/j x 5 j/28 j	SC	0	Protocole DLI boost AraC + venetoclax

Tableau 17 Description des traitements reçus par les patients présentant un SMD

3.3 Évaluation de la réponse à l'Azacitidine

Pour les patients présentant un SMD, la réponse à l'Azacitidine chez 8 équivalent-patients a été étudiée. Le recul médian entre la première administration d'Azacitidine et la date des dernières nouvelles était de 12 mois (2-30).

3.3.1 Statut des patients à l'initiation de l'Azacitidine

À l'initiation du traitement, 3/8 équivalent-patients étaient au diagnostic, soit en 1e ligne de traitement (patients n°5 et n°23), soit en 2e ligne (patient n°6) ; 2/8 équivalent-patients présentaient une acutisation de leur SMD en LAM, respectivement à 1 mois (patient n°7) et 1 an (patiente n°26) du diagnostic ; 2/8 équivalent-patients présentaient une rechute post-allogreffe de CSH (patients n°23' et n°28) ; 1/8 équivalent-patient, dont la maladie était acutisée d'emblée au diagnostic, présentait une LA réfractaire après 2 lignes de traitement (patient n°14).

Deux/8 équivalent-patients ont reçu l'Azacitidine à visée palliative : le patient n°5, qui avait été récusé de la greffe en raison d'une absence de donneur, et la patiente n°14, qui présentait un SMD secondaire à une LAL B, acutisé d'emblée et réfractaire après 2 lignes de traitement.

3.3.2 Réponse à l'Azacitidine

L'évaluation de la meilleure réponse à l'Azacitidine retrouvait : une maladie stable chez 4/8 équivalent-patients, maintenue pendant 2 à 11 cures, 1/8 réponse érythrocytaire et granulocytaire (patient n°7), 1/8 réponse hématologique (patient n°14), et 2/8 absences de réponse.

À l'arrêt de l'Azacitidine, 6/8 équivalent-patients présentaient une maladie progressive (patients n°5, n°7, n°14, n°23, n°23' et n°26) et 2/8 équivalent-patientes présentaient une maladie stable (patientes n°6 et n°28). Le taux de réponse globale était donc de 0%. Le patient n°5 avait présenté une maladie stable sous Azacitidine seule pendant 11 cures, avant de présenter une acutisation de son SMD en LAM 6.

Parmi les patientes présentant une maladie stable en fin de traitement par Azacitidine, une patiente est décédée d'une hémorragie cérébrale dans un contexte de poly-immunisation anti-plaquettaire (patiente n°6) et la seconde patiente était en cours de traitement d'une 3e rechute aux dernières nouvelles (patiente n°28). Parmi les patients présentant une maladie

progressive en fin de traitement, tous sont décédés, après un délai médian post Azacitidine de 9,5 mois (2-30).

L'Azacitidine a conduit à une allogreffe de CSH chez 2/8 équivalent-patients (patients n°23 et n°26), tous deux décédés à 30 mois et 7 mois de l'initiation de l'Azacitidine respectivement.

Au total, 6/7 (86%) patients étaient décédés aux dernières nouvelles, après un recul médian de 12 mois (2-30) post-initiation de l'Azacitidine. La patiente en vie aux dernières nouvelles était en cours de traitement d'une troisième rechute.

La survie globale à 5 ans des patients présentant un SMD était de 14%, IC95% [2 ; 88] (voir Figure 6). La médiane de survie sans événement après initiation de l'Azacitidine était de 7,13 mois (voir Figure 7).

La réponse au traitement des patients présentant un SMD est détaillée dans le Tableau 18.

N° patient	Statut à l'initiation de l'Azacitidine	Numérations préttt	% BM pré ttt	Cytogénétique préttt	Evaluations réponse	Meilleure réponse à l'AZA	statut à l'arrêt de l'AZA	Délai début ttt/DN	Statut aux DN
5	Diagnostic, 1e ligne	DM	6%	idem diagnostic	C6: Hb = 11,3 PNN = 230 Plq = 220 000 BM = 0% Cytogénétique : clone initial + apparition sous clone T21 C18: Hb = 7,2 PNN = 250 Plq = 49 000 BM = 27%	C6 à C17: Maladie stable	Acutisation LAM 6	21 mois	D
6	Diagnostic, 2e ligne	Hb = 10,9 PNN = 1130 Plq = 15 000	11%	idem diagnostic	C2: Hb = 9,1 PNN = 10 Plq < 10 000 BM = 9%	C2: Maladie stable	MS	2 mois	D
7	Acutisation en LAM, à 1 mois du diagnostic, 1e ligne	Hb = 9,2 PNN = 900 Plq = 17 000	24%	idem diagnostic	C1: Hb = 10,8 PNN = 2680 Plq = 15 000 BM = 9% Progression tumorale lésions cutanées	C1: Réponse érythrocytaire et granulocytaire	MP, Passage SP	4 mois	D
14	LAM réfractaire, 3e ligne	Hb = 7,9 PNN = 290 Plq = 37 000	24%	idem diagnostic	C1: BS = 71% C2: BS = 44% C4: BS = 26% C6: BS = 83%	C4: Réponse hématologique	MP	12 mois	D
23	Diagnostic, 1e ligne	Hb = 11,1 PNN = 9830 Plq = 36 000	9%	idem diagnostic	C3: Hb = 13,6 PNN = 3240 Plq = 51 000 BM = 9% C4: BM = 12%, BS = 9%	C3: Maladie stable	MP	30 mois	D
23'	Rechute J293 post allogreffe	Plq = 143 000	10%	46,XY,-4,add(6)(q26),del(13)(q13q33), add(14)(p11),?der(15)del(15)(q1?2),+mar[19]/ 46,XY[3]	C1: BS présente	Pas de réponse	MP	16 mois	
26	Acutisation en LAM, à 1 an du diagnostic, 1e ligne	Hb = 8,2 PNN = 70 Plq = 89 000	Myélo inaspirable, BOM: 80% blastes	échec	C2: BM = 80%	Pas de réponse	MP, Réfractaire	7 mois	D
28	Rechute n°2 post greffe à 11 mois de la RC2, 1e ligne	Hb = 13,5 PNN = 4000 Plq = 170 000	DM	DM	C1: progression tumorale C3: progression tumorale C4: lésions tumorales stables C5: lésions tumorales stables	C4: Maladie stable	MS	18 mois	V

Tableau 18 Évaluation de la réponse à l'Azacitidine chez les patients présentant un SMD

4. Autres pathologies (n = 3)

4.1 Caractéristiques initiales des patients

Deux patients (n°10 et n°16) présentaient une leucémie aiguë biphénotypique M et T, associée à un sarcome granulaire de localisation médiastinale pour l'un d'entre eux (n°16). Le patient n°18 présentait un sarcome à cellules dendritiques interdigitées de localisation extra-médullaire au diagnostic et sans mutation de BRAF identifiée.

Les caractéristiques initiales de ces patients sont décrites dans le Tableau 19.

N° patient	Sexe	Age diag	Délai diag/ début Aza	Prédispo	Pathologie	% de BM	Cytogénétique	Biologie moléculaire
10	M	9 ans 1 mois	1 an 5 mois	0	LA biphénotypique M et T	97%	Remaniement 2q, 22q	Pas d'anomalie
16	M	15 ans 5 mois	1 an 9 mois	0	LA biphénotypique M et T Sarcome granulaire médiastinal	11%	46,XY[22]	FLT3-ITD, Réarrangement IgTCR
18	M	21 ans 4 mois	11 mois	0	Sarcome à cellules dendritiques interdigitées			Pas de mutation de BRAF

Tableau 19 Caractéristiques initiales des patients présentant une pathologie autre

4.2 Description des traitements reçus

Chez les 3 patients présentant une pathologie autre, 35 cures d'Azacitidine ont été administrées, toutes complètes. Le nombre médian de cures d'Azacitidine administrées par patient était de 3 cures (1-31). Un/3 patient a reçu au moins 6 cures d'Azacitidine.
L'Azacitidine a été administrée en 4^{e}, 6^{e} et 7^{e} ligne de traitement respectivement chez les patients n°10, n°16 et n°18.

Le délai médian entre le diagnostic et l'administration d'Azacitidine était de 17 mois (11-21).

Le schéma d'administration de l'Azacitidine suivait le schéma classique habituellement recommandé de 75 mg/m^2 par jour pendant 7 jours, tous les 28 jours, par analogie au schéma utilisé dans la majorité des études chez l'adulte, pour 2/3 patients (patients n°10 et n°18). Le 3^{e} patient a reçu des cures à la dose de 75 mg/m^2 par jour pendant 5 jours tous les 28 jours, puis tous les 42 jours à partir du 13^{e} cycle. La voie d'administration de l'Azacitidine était sous-cutanée pour les patients n°16 et n°18. Le patient n°10 a reçu une cure en sous-cutané, puis 2 cures en intra-veineux.

Un traitement anti-leucémique a été administré concomitamment à l'administration d'Azacitidine chez les 2 patients présentant une LA biphénotypique : du Sorafénib seul chez le patient n°10, du Sorafénib associé à des DLI chez le patient n°16. Le détail des doses et schémas d'administration de l'Azacitidine, ainsi que des traitements autres reçus par les patients présentant une LA biphénnotypique ou un sarcome est résumé dans le Tableau 20.

N° patient	Traitements pré-Azacitidine	Aza: ligne de ttt n°	Nbre de cycles d'Aza	Dose Azacitidine	Voie Aza	Traitements associés	Traitements post Azacitidine
10	Induction FRALLE Induction ELAM02 + conso n°1 + 2 1/2 conso n°3 Greffe de CSH	4	3	75 mg/m² x 7 j/28 j	SCx1 IV x 2	Sorafénib à partir de C2	0
16	Induction Alpha Induction FRALLE AraC HD + Mylotarg Nélarabine + MTX HD Radiothérapie médiastinale Greffe de CSH	7	31	75mg/m² x 5 j/28 j C1-C12 75mg/m² x 5 j/42 j C13-C31	SC	Sorafénib + 3 DLI	Clofarabine + Aracytine + Midostaurine Aracytine + Venetoclax Décitabine + Sunitinib
18	CHOP+ Velbe Radiothérapie Induction 3+7 + 1 conso AraC HD Rattrapage par MTX purinéthol, Dexa, L-aspa Greffe de CSH	6	1	75 mg/m² x 7 j/28 j	SC	0	Oncaspar + Vinblastine MTX HD + IT

Tableau 20 Description des traitements reçus par les patients présentant une pathologie autre

4.3 Évaluation de la réponse à l'Azacitidine

4.3.1 Statut des patients à l'initiation de l'Azacitidine

Les 2 patients présentant une LA biphénotypique ont reçu l'Azacitidine dans un contexte de rechute post-allogreffe. Pour ces 2 patients, les caractéristiques de la maladie à la rechute différaient des caractéristiques au diagnostic : apparition d'une mutation de FLT3 pour le patient n°10, et apparition d'un caryotype complexe et d'une double duplication de FLT3 pour le patient n°16. Le patient n°18, traité pour un sarcome à cellules dendritiques interdigitées, a reçu de l'Azacitidine en traitement d'une seconde rechute extramédullaire, à 1 mois post-allogreffe de CSH.

Le patient n°10 a reçu le traitement à visée palliative, en association avec du Sorafénib.

4.3.2 Réponse à l'Azacitidine

À l'arrêt de l'Azacitidine, le patient n°10 présentait une maladie stable et le traitement a été interrompu en raison d'une mauvaise tolérance. Il est décédé à 9 mois de l'initiation de l'Azacitidine, dans un contexte de maladie progressive.

Le patient n°16 a présenté une rechute tumorale de sa maladie en cours de traitement par Azacitidine, ayant motivé son arrêt. Une rémission complète avait été obtenue après 3 cures d'Azacitidine associées à du Sorafénib et à 3 injections de lymphocytes du donneur, et avait été maintenue pendant 2 ans et 10 mois. Il est décédé dans un contexte de maladie progressive, à 4 ans de l'initiation du traitement par Azacitidine.

Le patient n°18 a présenté une progression tumorale précoce après une cure d'Azacitidine, ayant motivé le passage à une seconde ligne de traitement, et est décédé rapidement, à 2 mois de l'initiation du traitement par Azacitidine.

Au total, aucun patient présentant une pathologie autre n'a reçu d'allogreffe de CSH au décours du traitement par Azacitidine, et tous sont décédés, après un délai médian de 9 mois (2-49) post-initiation de l'Azacitidine.

La survie globale à 5 ans des patients présentant une pathologie autre était de 33% IC95% [7 ; 100] (voir Figure 6). La médiane de survie sans événement après initiation de l'Azacitidine était de 8,21 mois (voir Figure 7).

La réponse au traitement des patients présentant une pathologie autre est détaillée dans le Tableau 21.

N° patient	Statut à l'initiation de l'Azacitidine	Numérations préttt	% BM pré ttt	Cytogénétique préttt	Biologie moléculaire préttt	Evaluations réponse	Meilleure réponse à l'AZA	statut à l'arrêt de l'AZA	Délai début ttt/DN	Statut aux DN
10	Rechute n°1 à 13 mois post allogreffe	GB = 2390 Plq = 91 000	12%	idem diagnostic	Mutation de FLT3	C1: BM = 18% C2: BM = 12%	C2: Maladie stable	MS, arrêt pour toxicité	9 mois	D
16	Rechute n°1 à 7 mois post allogreffe	GB = 78580 Plq = 51 000	DM	45, XY, del(12)(p11), -13, i(17)(q10)[16]/ 46,XY, inc[2]/46,XX[2]	Double duplication FLT3	C2: BM = 0% C31: rechute tumorale	C3-C30: RC	Rechute	49 mois	D
18	Rechute n°2 à 1 mois post allogreffe	DM	0%			C1: progression tumorale	Pas de réponse	MP	2 mois	D

Tableau 21 Évaluation de la réponse à l'Azacitidine chez les patients présentant une pathologie autre

5. Devenir des patients

5.1 Données de survie des patients

Au total, 24/32 (75%) patients étaient décédés à la fin de l'étude. La survie globale à 5 ans, toutes pathologies confondues, était de 23%, IC95% [11 ; 48], avec une médiane de survie globale de 25 mois IC95% [16 ; 43] (voir Figure 5).

Il n'y avait pas de différence significative de survie globale ou de survie sans événement entre les différentes pathologies (p = 0,85 et p = 0,16 respectivement) (voir Figure 6 et Figure 7).

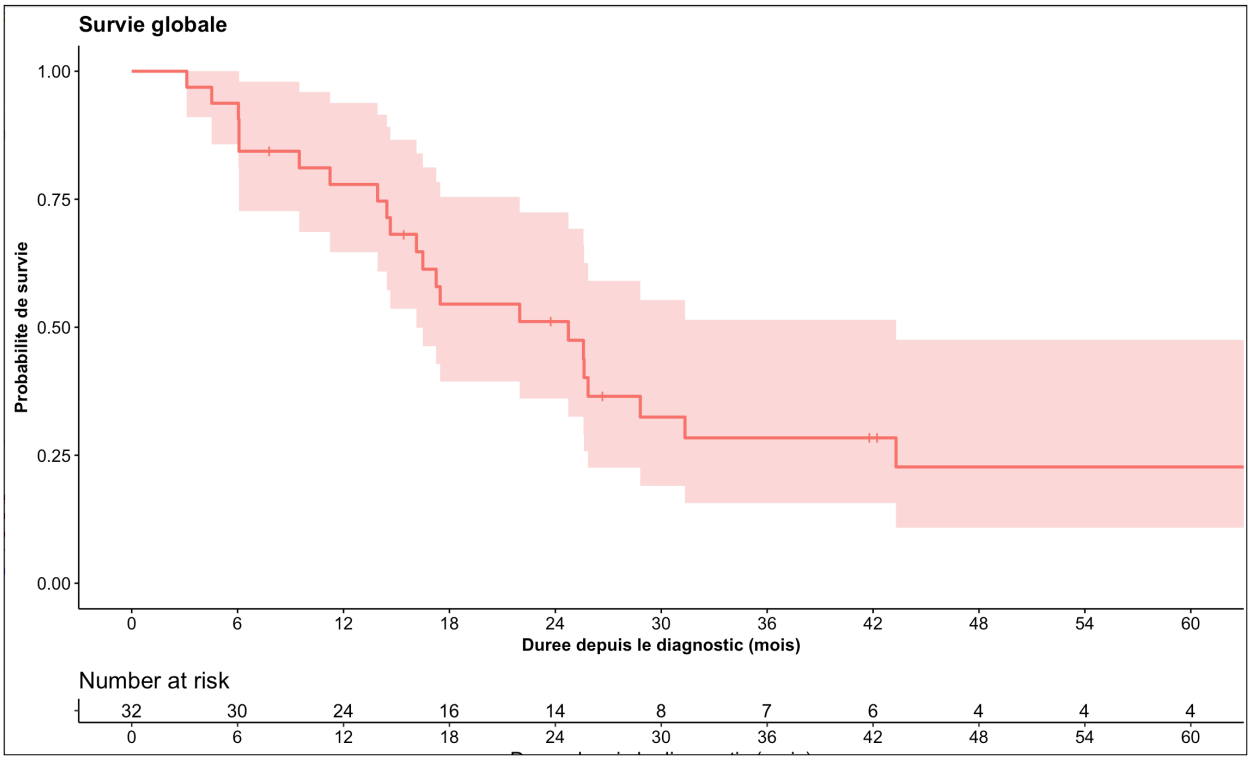


Figure 5 Survie globale des patients toutes pathologies confondues

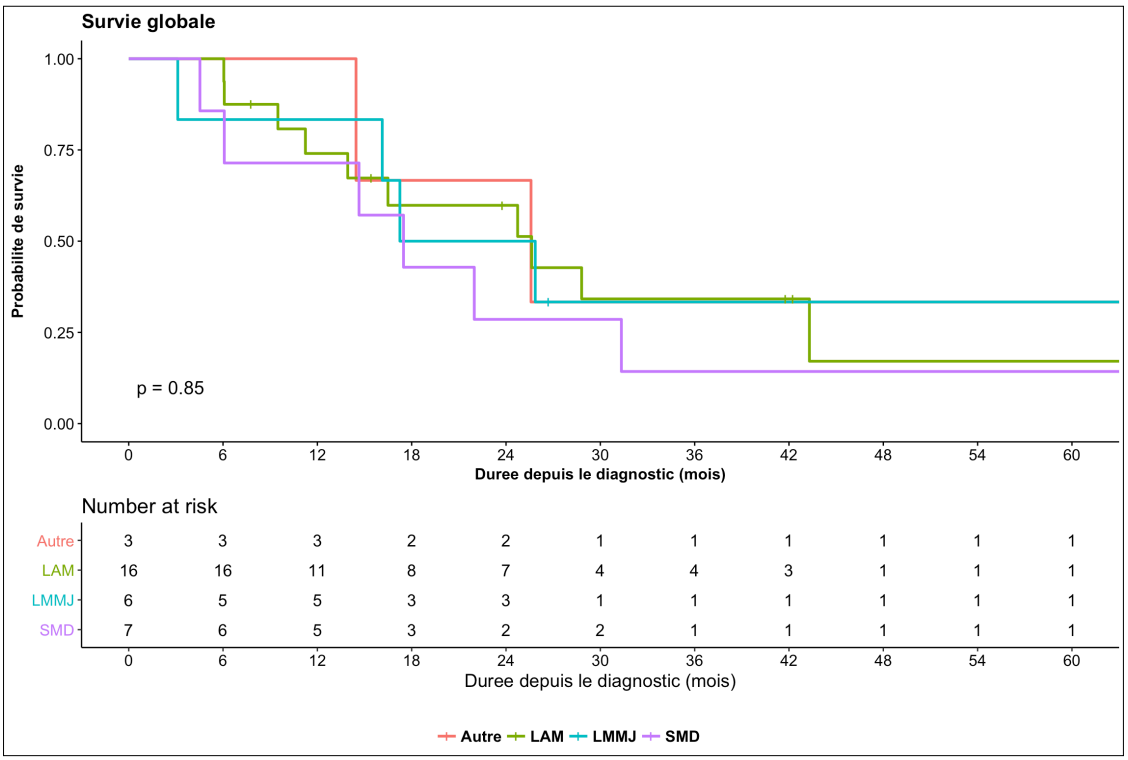


Figure 6 Survie globale des patients selon leur pathologie

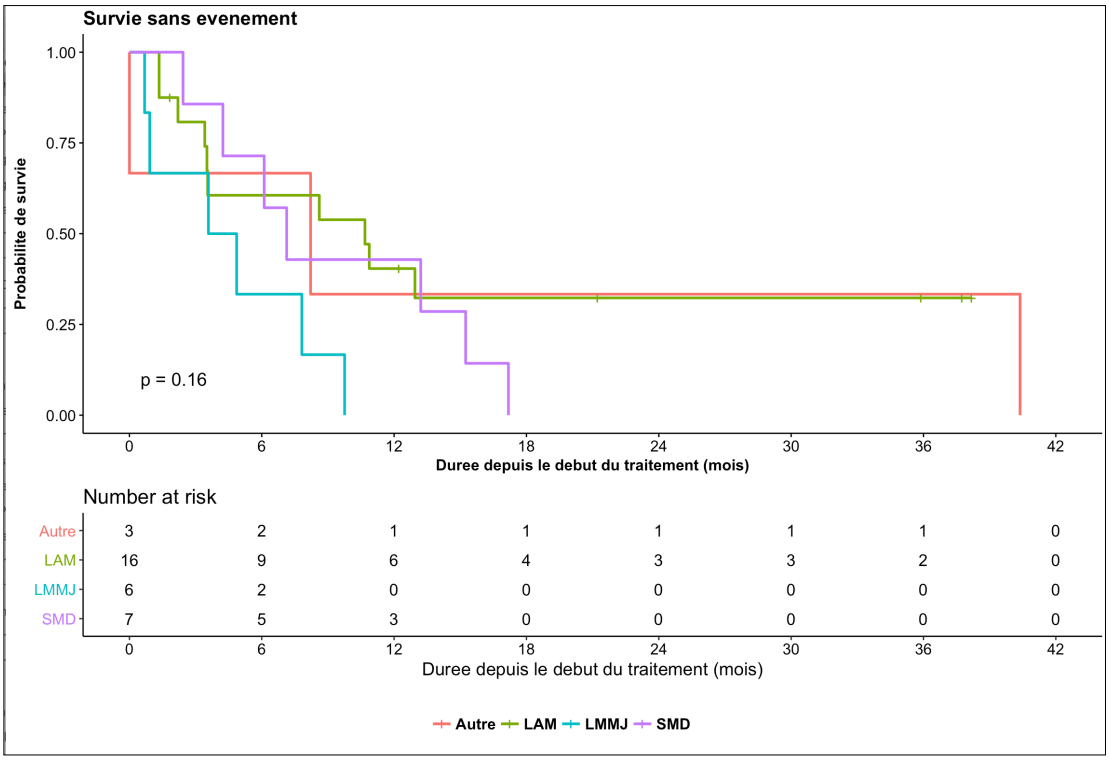


Figure 7 Survie sans événement après initiation de l'Azacitidine des patients, selon leur pathologie

5.2 Devenir des patients allogreffés au décours de l'Azacitidine

Au total, 8/32 patients ont reçu une allogreffe de CSH au décours du traitement par Azacitidine : 4 patients présentant une LAM, 2 patients présentant une LMMJ, et 2 patients présentant un SMD. Trois sur ces 8 patients sont décédés : 1 patient avec une LMMJ ayant déjà reçu une allogreffe de CSH, et les 2 patients présentant un SMD.

Trois autres patients ont reçu une allogreffe après le traitement par Azacitidine (2 LAM, 1 LMMJ), mais au décours d'une autre ligne de traitement.

Afin de comparer la survie globale des patients ayant reçu une allogreffe suite à l'Azacitidine à celle des patients n'ayant pas reçu d'allogreffe, nous avons exclu plusieurs patients de l'analyse. Nous avons d'une part exclu les patients ayant reçu une allogreffe au décours d'une autre ligne de traitement (3 patients), et d'autre part ceux pour lesquels le traitement par Azacitidine avait été explicitement introduit dans un but palliatif (4 patients).
Ainsi, la survie globale des 8 patients ayant reçu une allogreffe de CSH au décours de l'Azacitidine a été comparée à la survie globale des 17 patients non allogreffés après traitement par Azacitidine, et « éligibles » à une allogreffe à l'initiation du traitement.

Une figure résumant la répartition des patients ayant reçu ou non une allogreffe est présentée en Annexe 2.

Les survies globales à 3 ans des patients ayant reçu ou non une allogreffe de CSH au décours de l'Azacitidine étaient respectivement de 64%, IC95% [34 ; 100] et 19%, IC95% [7 ; 53], p = 0,03 (voir Figure 8).

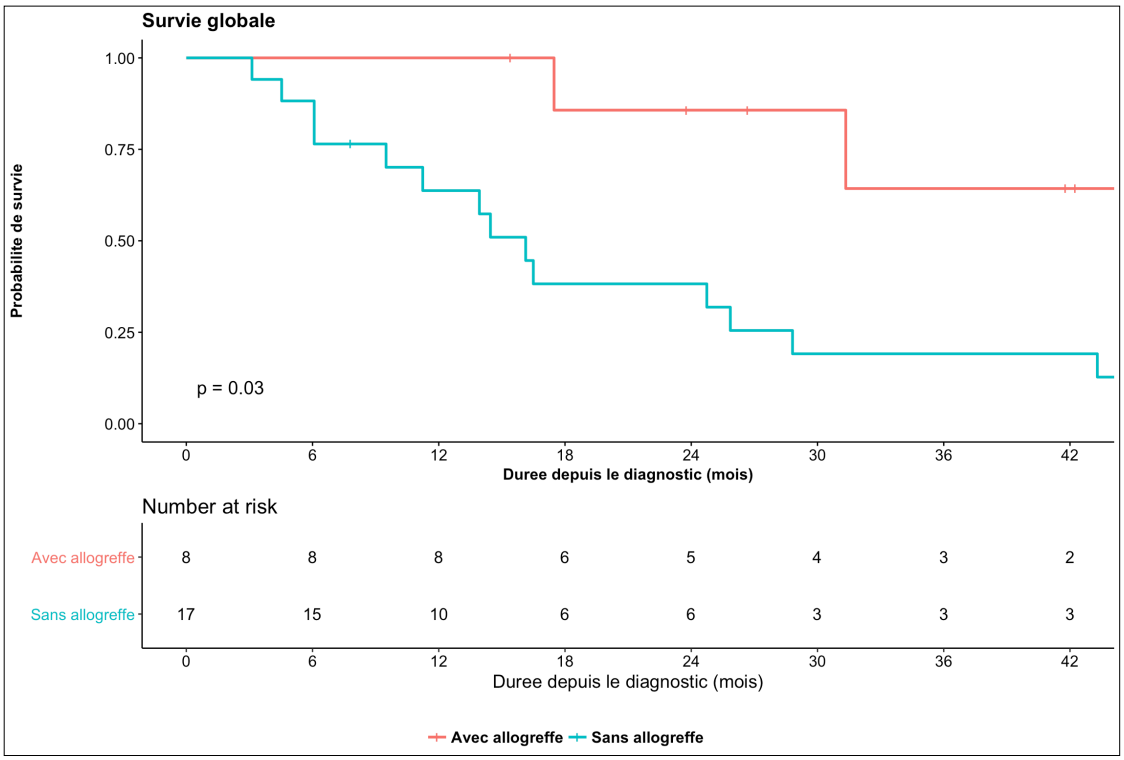


Figure 8 Survie globale des patients, selon qu'ils aient ou non reçu une allogreffe de CSH au décours de l'Azacitidine

6. Évaluation de la tolérance de l'Azacitidine

Un total de 137 cures de chimiothérapie par Azacitidine, dont 134 cures complètes, a été administré, chez 35 équivalent-patients.

Le nombre médian de cures d'Azacitidine par équivalent-patient était de 3 cures (0,3-31), et seulement 5/35 (14%) équivalent-patients ont reçu au moins 6 cures d'Azacitidine.

L'Azacitidine a été administrée en première ligne de traitement chez 5/35 équivalent-patients (dont 4 patients avec un SMD, 1 patient avec une LMMJ). Pour les autres patients, l'Azacitidine était administrée après une médiane de 3 lignes de traitement (1-6). Quatorze/35 (40%) traitements par Azacitidine ont été administrés chez un patient ayant reçu une allogreffe de CSH au préalable (LAM n = 6, LMMJ n = 3, SMD n = 2, pathologie autre n = 3).

Pour la majorité des équivalent-patients (20/35, 57%), le schéma d'administration de l'Azacitidine suivait le schéma classique habituellement recommandé de 75 mg/m^2 par jour pendant 7 jours, tous les 28 jours, par analogie au schéma utilisé dans la majorité des études chez l'adulte. Six/35 traitements ont été administrés à la dose de 75 mg/m^2 par jour pendant 5 jours tous les 28 jours. Certains équivalent-patients ont reçu des schémas d'administration variables d'une cure à l'autre : variation de la fréquence des cycles (n = 1), de la dose en mg/m^2 (n = 2), ou du nombre d'injections par cure (n = 3). Trois équivalent-patients ont reçu des doses réduites ($\leq$ 50 mg/m^2/injection) pendant l'ensemble des cures, dont 2 équivalent-patients en raison d'une allogreffe antérieure. Les motifs de variation du schéma d'administration comprenaient : le passage en traitement d'entretien chez des patients traités au long cours avec une bonne réponse et une bonne tolérance (n = 2, patient n°5 passage de 7 à 5 injections par cure, patient n°16 passage de la fréquence des cures de tous les 28 à tous les 42 jours) ; l'augmentation de la dose quotidienne à 75 mg/m^2 après une cure, en raison de la bonne tolérance (n = 2, patients n°9 et n°30) ; l'augmentation du nombre d'injections par cure après 2 cures, en raison de la bonne tolérance (n = 1, patiente n°12) ; la diminution du nombre d'injections par cure de 7 à 5, en raison d'une progression de la maladie (n = 1, patient n°23).

La voie d'administration de l'Azacitidine était sous-cutanée pour la majorité des équivalent-patients (24/35, 69%), sous-cutanée puis intraveineuse chez 1/35 équivalent-patient, et intraveineuse stricte dans les autres cas.

Des traitements anti-leucémiques ont été administrés concomitamment à l'Azacitidine chez 15/35 (43%) équivalent-patients.

Pour la tolérance hématologique, l'évaluation a porté d'une part sur les cures d'Azacitidine, considérées dans leur totalité et indépendamment du patient, et d'autre part sur les équivalent-patients, en prenant en compte pour chaque équivalent-patient le grade maximal observé par effet indésirable.

Pour la tolérance non hématologique, en raison du nombre plus faible d'événements observés, l'évaluation a uniquement porté sur les cures, considérées dans leur totalité et indépendamment du patient.

6.1 Tolérance hématologique

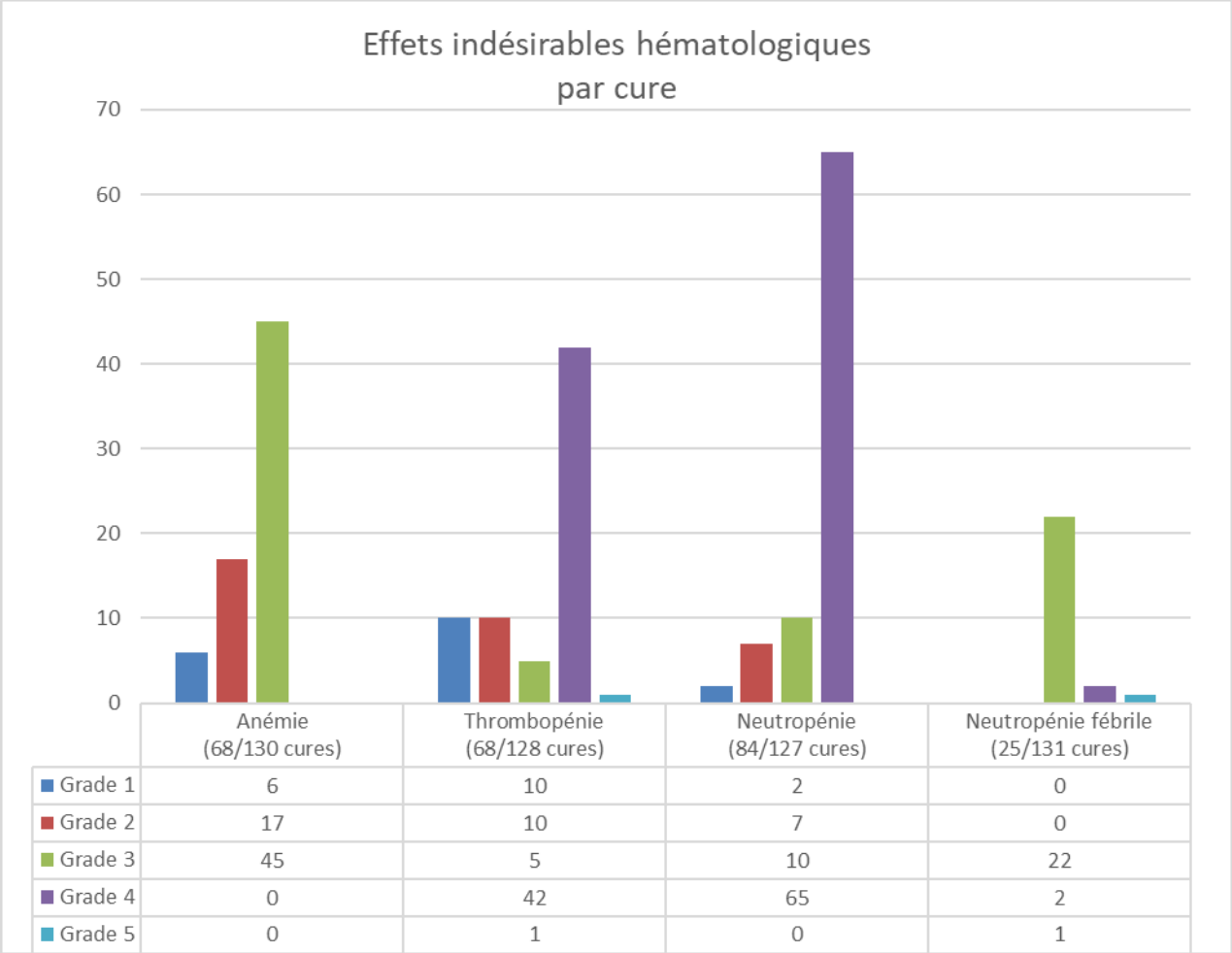
Sur le plan hématologique, l'évaluation de la tolérance a consisté en l'évaluation du degré d'anémie, de thrombopénie, de neutropénie, et de la présence ou non d'une aplasie fébrile.

6.1.1 Tolérance hématologique : analyse par cure

Soixante-huit/130 (52%) cures se sont compliquées d'anémie, majoritairement de grade 3 (Hb < 8 g/dL, besoin transfusionnel) (DM = 5, NE = 2). Soixante-huit/128 (53%) cures se sont compliquées de thrombopénie, majoritairement de grade 4 (< 25 000/mm^3) (DM = 7, NE = 2). Quatre-vingt-quatre/127 (66%) cures se sont compliquées de neutropénie, majoritairement de grade 4 (PNN < 500/mm^3) (DM = 6, NE = 2). Vingt-cinq/131 (19%) cures se sont compliquées de neutropénie fébrile (DM = 4, NE = 2).

Trois cures ont été décalées en raison de complications hématologiques : 1 cure pour persistance de l'aplasie, 1 cure pour neutropénie fébrile, et 1 cure pour neutropénie isolée persistante.

La distribution du grade de toxicité des effets indésirables hématologiques observés par cure d'Azacitidine est présentée dans la Figure 9.



	Anémie (68/130 cures)	Thrombopénie (68/128 cures)	Neutropénie (84/127 cures)	Neutropénie fébrile (25/131 cures)
Grade 1	6	10	2	0
Grade 2	17	10	7	0
Grade 3	45	5	10	22
Grade 4	0	42	65	2
Grade 5	0	1	0	1

Figure 9 Distribution des grades de toxicité observés par effet indésirable hématologique et par cure d'Azacitidine

6.1.2 Tolérance hématologique : analyse par équivalent-patient

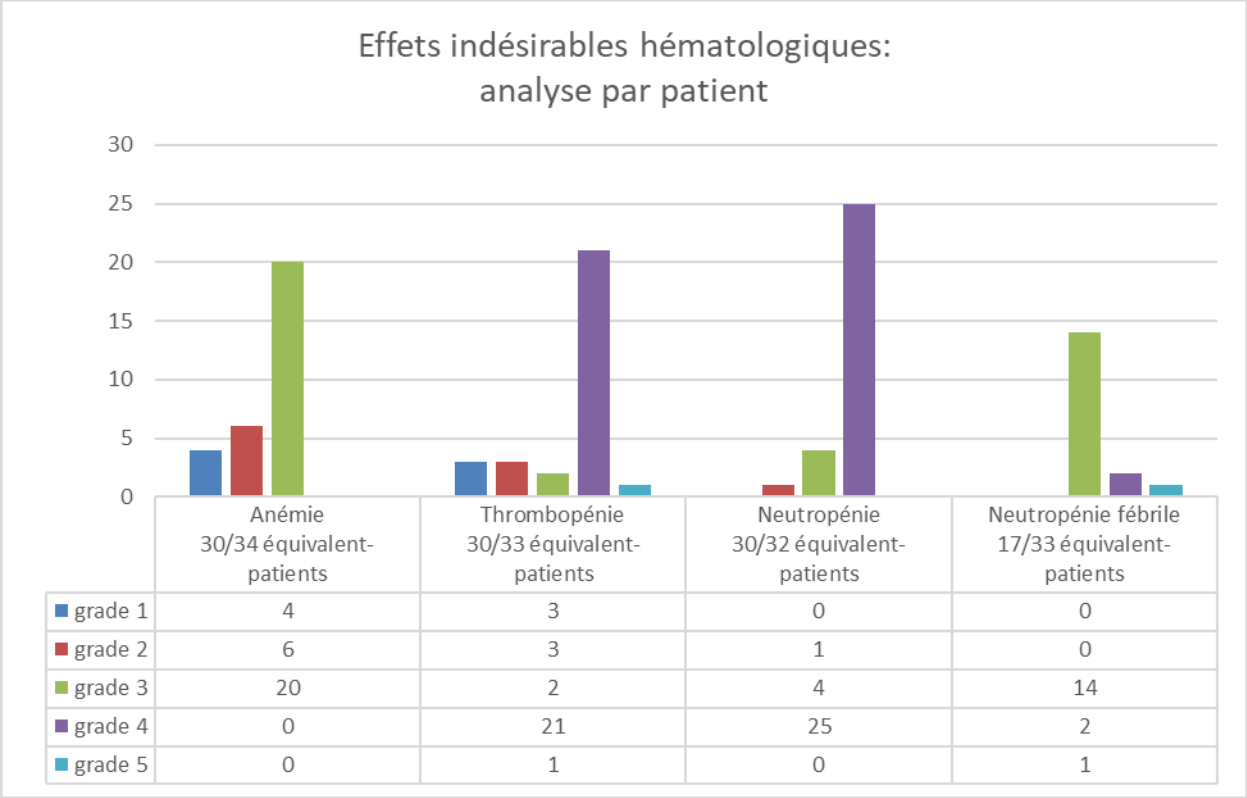
Trente/34 (97%) équivalent-patients ont présenté une anémie, majoritairement de grade maximal 3 (NE = 1), 30/33 (91%) équivalent-patients ont présenté une thrombopénie, majoritairement de grade maximal 4 (DM = 1, NE = 1), 30/32 (94%) équivalent-patients ont présenté une neutropénie, majoritairement de grade maximal 4 (DM = 2, NE = 1), et 17/33 (52%) équivalent-patients ont présenté une neutropénie fébrile, majoritairement de grade maximal 3 (DM = 1, NE = 1).

Une patiente a présenté une thrombopénie de grade 5 : elle est décédée d'une hémorragie intracérébrale secondaire à la thrombopénie, mais présentait une poly-allo-immunisation anti-plaquettaire (patiente n°6). Un épisode de neutropénie fébrile a conduit au

décès (patiente n°24), chez une patiente qui présentait par ailleurs une maladie progressive après une rechute.

Deux patients ont reçu une cure incomplète en raison d'une maladie progressive : la patiente n°15, décédée en cours de traitement (J5C3) dans un contexte de maladie progressive, et le patient n°4, dont la 2e cure a été suspendue après une injection devant la progression de la maladie sur l'évaluation de la moelle.

La Figure 10 décrit la distribution du grade maximal de toxicité observé par effet indésirable hématologique, et par équivalent-patient.



	Anémie 30/34 équivalent-patients	Thrombopénie 30/33 équivalent-patients	Neutropénie 30/32 équivalent-patients	Neutropénie fébrile 17/33 équivalent-patients
grade 1	4	3	0	0
grade 2	6	3	1	0
grade 3	20	2	4	14
grade 4	0	21	25	2
grade 5	0	1	0	1

Figure 10 Distribution du grade maximal de toxicité observé par effet indésirable hématologique, et par équivalent-patient

6.2 Tolérance non hématologique : analyse par cure

Parmi les complications non hématologiques les plus fréquemment observées, on note : les complications digestives, à type de nausées/vomissements (19/131 cures (15%), majoritairement de grade 1, DM = 4, NE = 2), ou de diarrhées (10/131 cures (8%), majoritairement de grade 1-2, DM = 4, NE = 2), les complications cutanées au point d'injection (12/111 cures (11%), toutes de grade 1 à 2, DM = 3, NE = 2, 116 cures

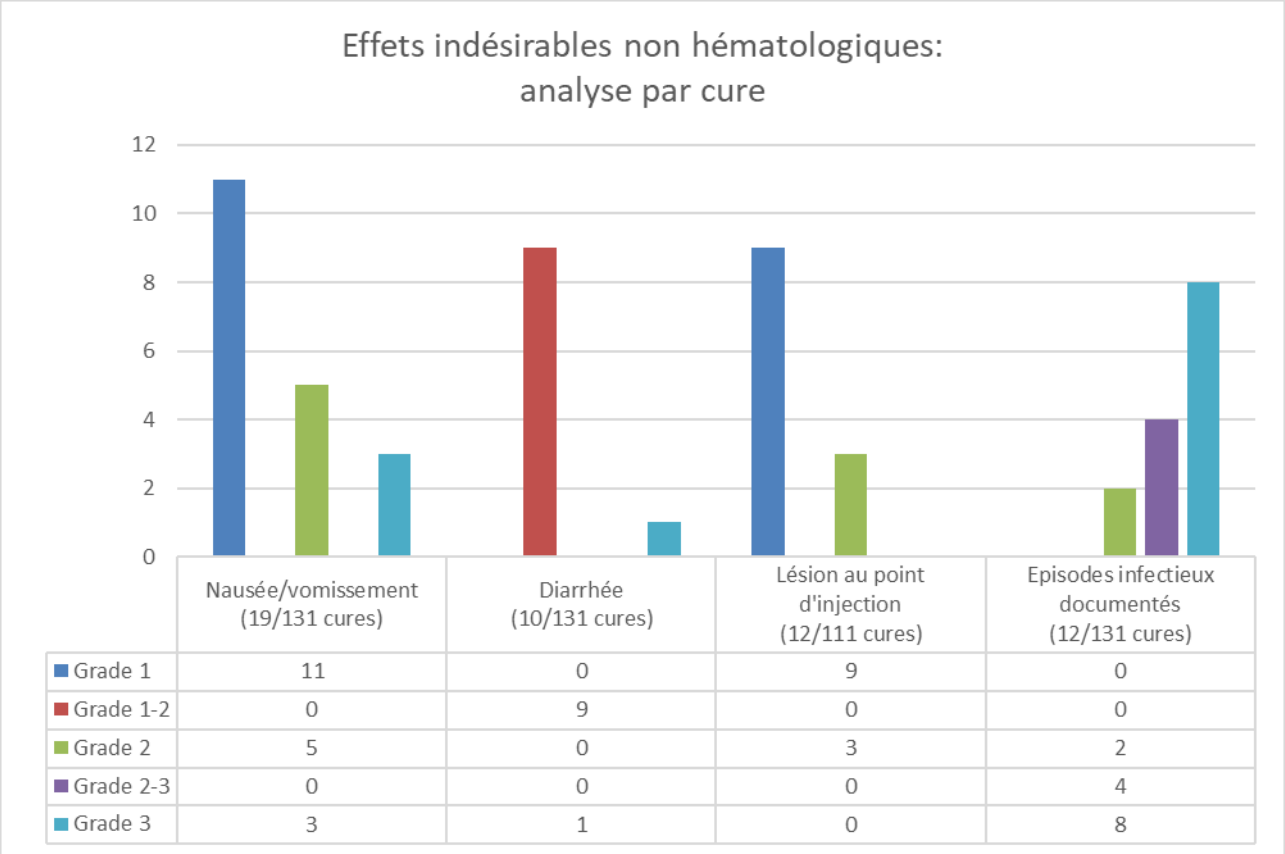
administrées en SC), et les infections documentées (14/131 cures (11%), majoritairement de grade 3, DM = 4, NE = 2).

Aucun grade 4 ou grade 5 n'a été observé dans ces complications non hématologiques fréquentes. Aucune cure n'a été interrompue ou décalée en raison d'une douleur au point d'injection ou autre complication locale.

Pour les complications digestives à type de diarrhée et les complications infectieuses à type de candidose buccale, les données collectées dans les dossiers médicaux ne permettaient pas de distinguer, respectivement, le grade 1 du grade 2, et le grade 2 du grade 3.

Les infections documentées comprenaient : des candidoses buccales de grade 2-3 (n = 4), une pancolite et pan-gastrite à CMV, chez un patient ayant reçu 2 allogreffes de CSH (patient n°1), une réactivation EBV avec atteinte pulmonaire, chez un patient ayant reçu une allogreffe de CSH (patient n°2), une colite à *C. difficile*, deux infections grippales, une infection de cathéter à *S. epidermidis,* un abcès de la marge anale, et un abcès de la grande lèvre.

La distribution du grade de toxicité des effets indésirables non hématologiques les plus fréquemment observés, par cure d'Azacitidine, est représentée dans la Figure 11.



	Nausée/vomissement (19/131 cures)	Diarrhée (10/131 cures)	Lésion au point d'injection (12/111 cures)	Episodes infectieux documentés (12/131 cures)
Grade 1	11	0	9	0
Grade 1-2	0	9	0	0
Grade 2	5	0	3	2
Grade 2-3	0	0	0	4
Grade 3	3	1	0	8

Figure 11 Distribution des grades de toxicité observés par effet indésirable non hématologique fréquent et par cure d'Azacitidine

D’autres effets indésirables moins fréquents ont été observés : des douleurs abdominales de grade 1 à 3 (n = 5), des rectorragies de grade 1 à 2 (n = 4), des insuffisances rénales aiguës de grade 1 à 2 (n = 4), une rhinorrhée de grade 1 (n = 4), une perturbation du bilan hépatique (n = 2), une anorexie (n = 2), une hypercalcémie (n = 1), et un prurit oculaire (n = 1).

Des modifications du schéma d’administration de l’Azacitidine pour complication non hématologique ont été observées dans 4 cures : un arrêt après 2 injections de la cure n°1 pour des rectorragies (patient n°1), un décalage d’une injection pour hypercalcémie (patient n°3), un arrêt du traitement après 3 cures en raison d’un sepsis sévère à point de départ périnéal non contrôlé (patient n°10), un décalage de cure d’une semaine en raison d’une virose intercurrente (patient n°20, cure n°2).

DISCUSSION

Nous rapportons dans cette étude rétrospective 32 patients âgés de moins de 25 ans traités par Azacitidine. S'il s'agit de la plus grosse cohorte pédiatrique rétrospective sur l'administration d'Azacitidine, il faut cependant souligner l'hétérogénéité des pathologies (5 pathologies hématologiques différentes), et l'hétérogénéité des stades de la maladie à l'initiation du traitement (rechute, maladie réfractaire, maladie progressive, entretien d'une mise en rémission).

La tolérance de l'Azacitidine a été évaluée sur un total de 137 cures, chez 35 équivalent-patients, et a été globalement bonne. Seulement 52% à 66% des cures se sont compliquées d'une cytopénie, cependant 91% à 97% des équivalent-patients ont présenté une cytopénie en cours de traitement. De même, seulement 19% des cures se sont compliquées de neutropénie fébrile, mais 52% des équivalent-patients ont présenté une neutropénie fébrile en cours de traitement.

Deux événements indésirables graves ont été rapportés : une thrombopénie de grade 5, ayant conduit au décès de la patiente suite à une hémorragie intracérébrale, et une neutropénie fébrile de grade 5 ayant également conduit au décès de la patiente. Il faut cependant préciser que la thrombopénie de grade 5 est survenue dans un contexte de poly-immunisation anti-plaquettaire. Au total, 32 épisodes infectieux ont été rapportés, dont 25/32 (78%) dans un contexte d'aplasie. La majorité des cures a été administrée par voie sous-cutanée (116/137, 85%), avec une bonne tolérance locale. En effet, aucune infection au point d'injection n'a été rapportée, et seulement 12/111 (11%) des cures se sont compliquées d'une réaction de grade 1 à 2. Aucune cure n'a été interrompue ou décalée en raison d'une douleur au point d'injection ou autre complication locale. Le profil de tolérance de l'Azacitidine était comparable aux études menées chez l'adulte[28,29,114] et chez l'enfant[79,115–117].

Dans cette étude, de multiples limites à l'évaluation de la toxicité doivent être soulignées. Tout d'abord, son caractère rétrospectif nous expose à un biais de déclaration, qui peut avoir conduit à une sous-estimation de la fréquence des effets indésirables. Ce biais est particulièrement important pour les effets indésirables non hématologiques, et de bas grade (grade 1 à 2), dans la mesure où ils ne sont pas évaluables objectivement par une mesure biologique, et ne constituent pas un motif de consultation ou d'hospitalisation (dans la majorité des cas). Concernant l'évaluation de la toxicité hématologique, la difficulté réside

dans la distinction entre l'évolution naturelle de la maladie (cytopénies d'origine tumorale) et une toxicité directe de la chimiothérapie. Ce risque est d'autant plus important qu'une proportion non négligeable de nos patients présentait une maladie réfractaire à l'initiation du traitement par Azacitidine et/ou a présenté une progression de la maladie en cours de traitement par Azacitidine. Cela a pu conduire à une surestimation de la toxicité hématologique de l'Azacitidine chez nos patients. De plus, 15/35 (43%) cycles d'Azacitidine ont été administrés concomitamment à d'autres traitements anti-leucémiques spécifiques. Si certains effets indésirables étaient relativement spécifiques à un traitement donné (exemple du syndrome pieds/mains associé au Sorafénib, ou de la présence de lésions au point d'injection de l'Azacitidine sous-cutanée), l'imputabilité d'autres effets était plus complexe à établir (nausées/vomissements, toxicité hématologique, asthénie). Enfin, le nombre et la qualité des traitements reçus antérieurement par les patients étaient très hétérogènes (Azacitidine administrée en 1^{e} à 7^{e} ligne de traitement, traitements antérieurs par chimiothérapie seule versus allogreffe de CSH), et n'ont pas été pris en compte dans l'étude du profil de tolérance de l'Azacitidine des différents patients.

L'efficacité de l'Azacitidine dans notre étude s'est révélée médiocre. En effet, 23/35 (66%) équivalent-patients étaient en échec thérapeutique en fin de traitement (11 LAM réfractaires, 1 LAM en rechute, 3 LMMJ progressives, 6 SMD progressifs, 1 rechute de LA biphénotypique, 1 sarcome progressif). À la fin de l'étude, 24/32 (75%) patients étaient décédés, dont 22/24 de la progression de leur maladie, avec un recul médian par rapport au diagnostic de 19,7 mois (3,1-71,8). La survie globale à 5 ans était faible (22%, IC95% [11 ; 48]).

Il est cependant important de souligner que les patients de notre cohorte présentaient des maladies de très haut risque, au pronostic très réservé.

En effet, à l'initiation de l'Azacitidine, les patients présentaient soit une LAM réfractaire d'emblée, soit une LAM en rechute, soit une LAM réfractaire à la rechute. La survie à 5 ans des LAM de l'enfant en rechute, dans la littérature récente, est de l'ordre de 30 à 40%[118–120], et la survie à 3 ans d'une cohorte de 417 patients présentant une LAM réfractaire, soit d'emblée soit à la rechute, était de 23% (IC95% [19 ; 28])[121]. Dans notre cohorte, la survie globale à 5 ans des patients présentant une LAM était moindre (17%, IC95% [4 ; 83]). Plusieurs études ont identifié des facteurs de bon pronostic à la rechute : le caractère tardif de la rechute (≥ 1 an du diagnostic), l'absence d'allogreffe de CSH en RC1, et les leucémies de cytogénétique favorable[119,122–125]. Dans l'étude de Karlsson et al., les patients ayant présenté

une rechute précoce (< 1 an du diagnostic) avaient une survie à 5 ans de 26%[122]. De même, pour les patients présentant une rechute post allogreffe de CSH, le caractère précoce de la rechute est associé à un mauvais pronostic[126]. Dans notre cohorte, 10/17 équivalent-patients ont reçu l'Azacitidine en traitement de la rechute de leur LAM : 5/10 présentaient une rechute post-allogreffe de CSH (dont 3 présentaient une seconde rechute), avec un délai médian de 4 mois post-greffe (2 mois à 20 mois). Pour les 5/10 équivalent-patients n'ayant pas reçu d'allogreffe de CSH en RC1, 4/5 ont rechuté à moins d'un an du diagnostic, et 1/5 a rechuté à 1 an du diagnostic. Gorman et al. ont montré, sur une cohorte de 99 patients ayant présenté une LAM réfractaire ou en rechute, un taux de RC inversement proportionnel au nombre de lignes de traitement reçues, avec 56% de RC après une 2e ligne de traitement, 25% de RC après une 3e ligne de traitement, et 17% de RC après 4 à 6 lignes de traitements[124]. Dans notre cohorte de LAM, 1/17 équivalent-patient a reçu l'Azacitidine en 2e ligne de traitement, 8/17 équivalent-patients en 3e ligne, et 8/17 équivalent-patients en 4e à 5e ligne de traitement. De plus, 7/16 (44%) patients présentant une LAM étaient âgés de plus de 15 ans au diagnostic. Si les LAM de l'adolescent et du jeune adulte ne semblent pas se distinguer sur le plan biologique des LAM de l'enfant, la survie globale est pourtant moindre dans cette population[127,128].

Concernant les patients présentant une LMMJ, 4/7 équivalent-patients présentaient une rechute (dont 3 rechutes post-greffe), 1/7 équivalent-patient présentait une maladie réfractaire, et 2/7 équivalent-patients ont reçu l'Azacitidine en pré-greffe. Un patient a reçu 2 cycles : 1 cycle en pré-greffe, et 1 cycle à la rechute. Un seul patient était vivant aux dernières nouvelles (patient ayant reçu l'Azacitidine en pré-greffe), et la survie globale à 5 ans était de 33% IC95% [11 ; 100]. De plus, 3/6 patients présentaient une mutation de PTPN11, mutation associée à un mauvais pronostic[73,129].

Concernant les patients présentant un SMD, tous les patients présentaient un SMD avancé à l'initiation de l'Azacitidine, dont 3 SMD acutisés en LAM et 2 rechutes post-greffe. De plus, 2 patients présentaient un syndrome de prédisposition (1 Xeroderma Pigmentosum, et 1 maladie de Fanconi).

Les autres pathologies sont de pronostic sombre. En effet, la survie globale à 5 ans des LA biphénotypiques est d'environ 50%[130,131], et à l'initiation de l'Azacitidine, nos 2 patients présentaient une rechute post-greffe de CSH. Les sarcomes à cellules dendritiques interdigitées constituent une entité très rare, dont le pronostic dépend du stade de la maladie (localisé, localement avancé ou métastatique), avec une survie globale à 2 ans de 68,1% pour les maladies localisées, versus 15,8% pour les maladies métastatiques[132].

Il est également nécessaire de préciser certaines limites à l'évaluation de l'efficacité dans notre étude. Tout d'abord, le nombre médian de cures administrées par équivalent-patient était de 3 cures (0,3-31). Chez l'adulte, un minimum de 6 cures de traitement par Azacitidine a été jugé nécessaire à l'évaluation de l'efficacité du traitement, avec un effet maximal observé à 12 cures[114,133]. Dans notre cohorte, seulement 5/35 (14%) des équivalent-patients ont reçu au moins 6 cures d'Azacitidine.

Une autre limite à l'évaluation de l'efficacité de l'Azacitidine dans notre étude était l'administration d'un traitement anti-leucémique concomitant chez 15/35 (43%) des équivalent-patients. La grande majorité concernait des patients présentant une LAM (11/15, 73%). Il n'a pas été observé de différence significative sur la médiane de survie après initiation de l'Azacitidine, entre les patients ayant reçu un traitement associé concomitant ou non (médianes de survie respectivement de 8,61 mois, et 10,78 mois, p = 0,48) chez les patients présentant une LAM.

Par ailleurs, dans cette étude rétrospective, nous ne disposions pas de données sur le niveau de méthylation pré et post administration d'Azacitidine de chaque patient.

Enfin, en raison du faible nombre de patients dans chaque sous-groupe de pathologie, et de l'hétérogénéité des indications thérapeutiques, aucune différence significative sur l'efficacité du traitement par Azacitidine selon la pathologie sous-jacente n'a pu être mise en évidence.

Les résultats chez les patients présentant un syndrome myélodysplasique étaient particulièrement décevants, avec un taux de réponse globale de 0%. Comme nous l'avons précisé précédemment, ces résultats peuvent s'expliquer par le profil « haut risque » de nos patients. Par ailleurs, chez l'adulte, des facteurs moléculaires prédictifs d'une bonne réponse aux agents hypométhylants ont été identifiés dans les SMD[134]. Ainsi, Itzykson et al., puis Bejar et al., ont montré un taux de réponse aux agents hypométhylants significativement supérieur dans les SMD avec mutation de TET2[135,136]. Les mutations de DNMT3A ont également été identifiées comme facteur prédictif de réponse aux agents hypométhylants[137]. Dans cette étude, aucun des patients présentant un SMD ne présentait de mutation de TET2 ou de DNMT3A. Nous avons donc peu d'arguments pour un intérêt de l'Azacitidine en traitement curatif des SMD de l'enfant. Cependant, l'Azacitidine a permis une stabilisation de la maladie chez 4/8 équivalent-patients, ainsi que des réponses hématologiques transitoires chez 2 équivalent-patients, avec une bonne tolérance. Son intérêt en situation palliative, ou dans l'attente d'une allogreffe de CSH peut donc être discuté chez les patients pédiatriques

présentant un SMD. Nos résultats étaient par ailleurs comparables à ceux rapportés dans l'étude rétrospective de Cesh et al[102].

Si l'efficacité de l'Azacitidine a été globalement médiocre dans notre étude, certains cas particuliers méritent notre attention.

Trois patients présentaient au diagnostic une LAM avec t(8;21) et transcrit de fusion RUNX1-RUNX1T1 (patients n°8, n°12 et n°20). Cette anomalie cytogénétique est associée à un pronostic favorable, et constitue une indication de traitement standard sans allogreffe de CSH en première intention[47,51]. Cependant, certaines études ont souligné un nombre élevé de rechute chez ces patients, avec une incidence cumulée de rechute d'environ 30%[38,45]. Zampini et al. ont étudié le profil de méthylation de 34 LAM de l'enfant avec t(8;21)/RUNX1-RUNX1T1, et ont mis en évidence des profils de méthylation des îlots CpG distincts entre les patients ayant présenté ou non une rechute de leur LAM, avec une hyperméthylation de certaines régions, et une hypométhylation d'autres régions chez les patients ayant rechuté[138]. Ces résultats sont intéressants pour identifier au diagnostic le sous-groupe de patients à risque de rechute afin d'adopter une stratégie thérapeutique adaptée, mais nous pouvons également nous poser la question de l'intérêt des agents hypométhylants pour ces patients. Dans notre cohorte, les 3 patients avec t(8;21)/RUNX1-RUNX1T1 ont présenté une 1e rechute après un traitement standard par induction et 3 cures de consolidation. Les 3 patients ont reçu une allogreffe de CSH en RC2, puis ont présenté une 2e rechute post-greffe de CSH. Aux dernières nouvelles, seule la patiente n°12 était vivante en RC3, après avoir bénéficié d'une seconde allogreffe de CSH. Aucun des 3 patients n'avait présenté une réponse à l'Azacitidine : le patient n°8 n'avait reçu qu'une cure d'Azacitidine et est décédé rapidement au décours. Il avait présenté une rechute précoce post-greffe de CSH. La patiente n°20 avait reçu 8 cures d'Azacitidine, sans réponse au traitement. Elle avait également présenté une rechute précoce post-greffe. La patiente n°12 avait présenté une maladie stable à 3 cures. Elle a reçu un 2e cycle de traitement par Azacitidine, en entretien de sa RC3 et, aux dernières nouvelles, était toujours en RC à 2 ans et 7 mois post-greffe n°2. Ces résultats ne semblent pas soutenir l'hypothèse d'une efficacité de l'Azacitidine chez les patients présentant une LAM t(8;21)/RUNX1-T1 en rechute.

Si la différence de survie sans événement à 3 ans après l'administration d'Azacitidine entre les patients présentant une LAM en rechute, et les patients présentant une LAM

réfractaire d'emblée n'était pas significative, nous pouvions quand même noter une tendance en faveur d'une meilleure réponse des LAM réfractaires d'emblée (survie sans événement à 3 ans de 11% IC95% [2 ; 72] versus 67% IC95% [38 ; 100], p = 0,08).

Quatre patients présentaient une LAM réfractaire d'emblée et ont reçu l'Azacitidine après 2 lignes de traitement. Tous ont présenté une réponse à l'Azacitidine, avec 1/4 mise en RC1, et 3/4 rémission partielle ou aplasie non blastique. Deux d'entre eux présentaient une mutation FLT3-ITD, et avaient reçu concomitamment du Sorafénib, 1 avait reçu une injection intrathécale triple à la 2e cure (patiente avec atteinte du SNC). La 4e patiente n'a pas reçu de traitement associé. Ils ont ensuite bénéficié d'une allogreffe de CSH, et tous étaient vivants en RC aux dernières nouvelles, avec un recul médian de 29,5 mois (12-72) après initiation de l'Azacitidine. Les caractéristiques cytogénétiques et moléculaires de ces 4 patients n'étaient pas homogènes, mais 3/4 avaient un pronostic défavorable, et 1/4 un pronostic intermédiaire. Deux/4 présentaient une mutation FLT3-ITD.

Deux autres patients présentaient une LAM réfractaire d'emblée, mais ont reçu l'Azacitidine en 3e et 4e lignes de traitement, et n'ont pas présenté de réponse.

Deux rapports de cas de LAM réfractaires d'emblée à deux lignes de traitement avaient montré également une réponse à l'Azacitidine en pré-greffe[94,95]. Ces résultats sont donc en faveur d'un intérêt de l'Azacitidine en « bridge to transplant » dans les LAM réfractaires d'emblée et à 2 lignes de traitement, seule ou en combinaison à un autre traitement anti-leucémique spécifique. Cependant, une étude prospective sur un plus grand nombre de patients est nécessaire pour confirmer ces résultats.

Parmi les patients présentant une LMMJ, 3 patients présentaient une mutation de PTPN11 en biologie moléculaire, mutation qui a été associée à un mauvais pronostic, mais également à un profil de méthylation dit « méthylation forte »[77]. Or, 2/3 de ces patients chez qui la réponse à l'Azacitidine était évaluable ont présenté une réponse partielle en fin de traitement (patients n°2 et n°27), dont 1 patient toujours en vie en RC à 25 mois de l'initiation de l'Azacitidine. Aucun autre patient traité pour une LMMJ n'a présenté de réponse au traitement. Dans la cohorte de Cseh et al., 6/12 patients présentaient une mutation de PTPN11. Quatre/6 ont présenté au moins une réponse partielle au traitement par Azacitidine, dont 2 RC sur les 3 observées dans l'étude[116]. Si le faible nombre de patients de notre cohorte ne permet pas de tirer de conclusion, ces résultats sont intéressants. Une évaluation des modifications épigénétiques induites par le traitement par Azacitidine chez ces patients au profil « méthylation forte », ainsi qu'une étude de son efficacité sur un plus grand nombre de

patients avec mutation de PTPN11 est nécessaire pour juger de son intérêt dans ce sous-groupe de patients.

Dans notre étude, l'Azacitidine a conduit à une allogreffe de CSH chez 8 patients, dont 4 LAM, 2 LMMJ et 2 SMD. La survie globale à 3 ans de ces patients était supérieure à celle des patients « éligibles » à une allogreffe de CSH ne l'ayant pas reçue (64%, IC95% [34 ; 100] versus 19%, IC95% [7 ; 53], p = 0,03). Il est important de noter que les patients allogreffés ont reçu l'Azacitidine à un stade plus précoce de la maladie que les patients non allogreffés : les 4 patients avec une LAM l'ont reçue en 3e ligne de traitement, 1 patient sur les 2 présentant une LMMJ l'a reçue en 1e ligne de traitement, et les 2 patients présentant un SMD l'ont également reçue en 1e ligne de traitement. Ainsi, les deux groupes de patients (allogreffés versus non allogreffés) n'étaient pas comparables en termes de sévérité de la maladie d'une part, et de toxicité liée aux traitements préalablement reçus d'autre part. Sur ces 8 patients, 5 étaient en vie aux dernières nouvelles : les 4 patients présentant une LAM réfractaire d'emblée et après 2 lignes de traitement, et le patient présentant une LMMJ traité dans le protocole AZA-JMML-001. Dans ces deux situations cliniques distinctes, l'Azacitidine en traitement pré-allogreffe de CSH est une option intéressante, notamment pour limiter le poids des effets indésirables.

Des études récentes chez l'adulte se sont intéressées à l'intérêt de l'Azacitidine en association avec d'autres traitements, soit de type inhibiteur ciblé sur une anomalie (exemple de l'Azacitidine associée au Sorafénib), soit de type inhibiteur non ciblé sur une anomalie (exemple de l'Azacitidine associée au Venetoclax).

Six patients ont reçu du Sorafénib en association avec l'Azacitidine : 4 patients présentant une LAM, et 2 patients présentant une LA biphénotypique. Cinq patients sur les 6 présentaient une mutation FLT3-ITD. Quatre/6 patients ont reçu ce traitement à but curatif, et une réponse a été observée chez 3 d'entre eux : 2 patients présentant une LAM réfractaire ont obtenu respectivement une RC et une aplasie non blastique ayant permis une allogreffe de CSH, et une RC prolongée de presque 3 ans a été obtenue chez le 3e patient, qui présentait une LA biphénotypique. Ce dernier patient avait également reçu 3 injections de lymphocytes du donneur au début du traitement. La patiente ayant reçu le traitement à visée curative et n'ayant pas présenté de réponse était la seule patiente sans mutation FLT3-ITD identifiée. La combinaison Sorafénib/Azacitidine a déjà été étudiée dans les LAM de l'adulte en rechute ou réfractaire, avec mutation FLT3-ITD. Un essai de phase 2 portant sur 43 adultes en rechute de

LAM a montré un taux de réponse de 46%[139]. Rautenberg et al. ont publié les résultats de 8 patients traités par Sorafénib et Azacitidine, (associés à des DLI pour 6 d'entre eux), en traitement d'une rechute post-allogreffe de LAM avec mutation FLT3-ITD[140]. Le taux de RC était de 50% (4/8 patients), dont 3 patients ayant reçu des DLI. Des résultats similaires ont été rapportés par Sid et al. sur une série de 5 patients également en rechute post-allogreffe de CSH. Trois/5 patients ont obtenu une RC après 4 cures de traitement[141]. L'ensemble de ces résultats suggère un intérêt de la combinaison Azacitidine/Sorafénib en traitement des LAM avec mutation FLT3-ITD, soit en rechute post-greffe, soit en pré-greffe pour des maladies réfractaires.

Dans notre cohorte, un seul patient (patient n°25) a reçu du Venetoclax en association avec l'Azacitidine. Il présentait une LAM dans un contexte de prédisposition par mutation germinale du gène RUNX1, et avait reçu cette combinaison en 3e ligne de traitement, après échec de rattrapage d'une rechute n°1 « on therapy ». Ce patient était encore en cours de traitement aux dernières nouvelles, donc l'évaluation de l'efficacité de son traitement n'a pu être effectuée. Les deux premières cures reçues ont été marquées par une toxicité hématologique (anémie de grade 3, thrombopénie et neutropénie de grade 4, neutropénie de grade 3).

Chez l'adulte et plus particulièrement le sujet âgé de plus de 65 ans, cette association a montré des résultats intéressants, tant en termes de tolérance que d'efficacité.

Une étude pré-clinique avait montré un effet synergique de l'association du Venetoclax avec un agent hypométhylant (Azacitadine ou Décitabine)[142]. Ces résultats ont motivé l'essai de phase 1b non randomisé, visant à déterminer la tolérance et la pharmacocinétique de l'association Venetoclax/agent hypométhylants, chez des patients âgés de 65 ans et plus en 1e ligne de traitement d'une LAM[143]. Dans le groupe Azacitidine associée au Venetoclax (n = 22 patients), le taux de réponse globale était de 59%, avec 6 patients en RC et 7 patients en RC sans récupération médullaire complète. La tolérance globale de l'association thérapeutique était bonne. En 2018, cette association a été validée par la FDA. La littérature sur l'association Venetoclax/Azacitidine dans les LAM de l'enfant est inexistante. Des essais thérapeutiques sont donc nécessaires afin d'évaluer son intérêt chez l'enfant et le jeune adulte.

Quatre patients ont reçu l'Azacitidine dans un but palliatif (LAM n =1, SMD n = 2, LA biphénotypique n = 1). Ces patients ont reçu une médiane de 4,5 cures d'Azacitidine (3-19), et un traitement concomitant pour 3 d'entre eux (Sorafénib n = 2, autre n = 1). Le délai médian entre l'initiation du traitement par Azacitidine et la survenue du décès était de 10,5

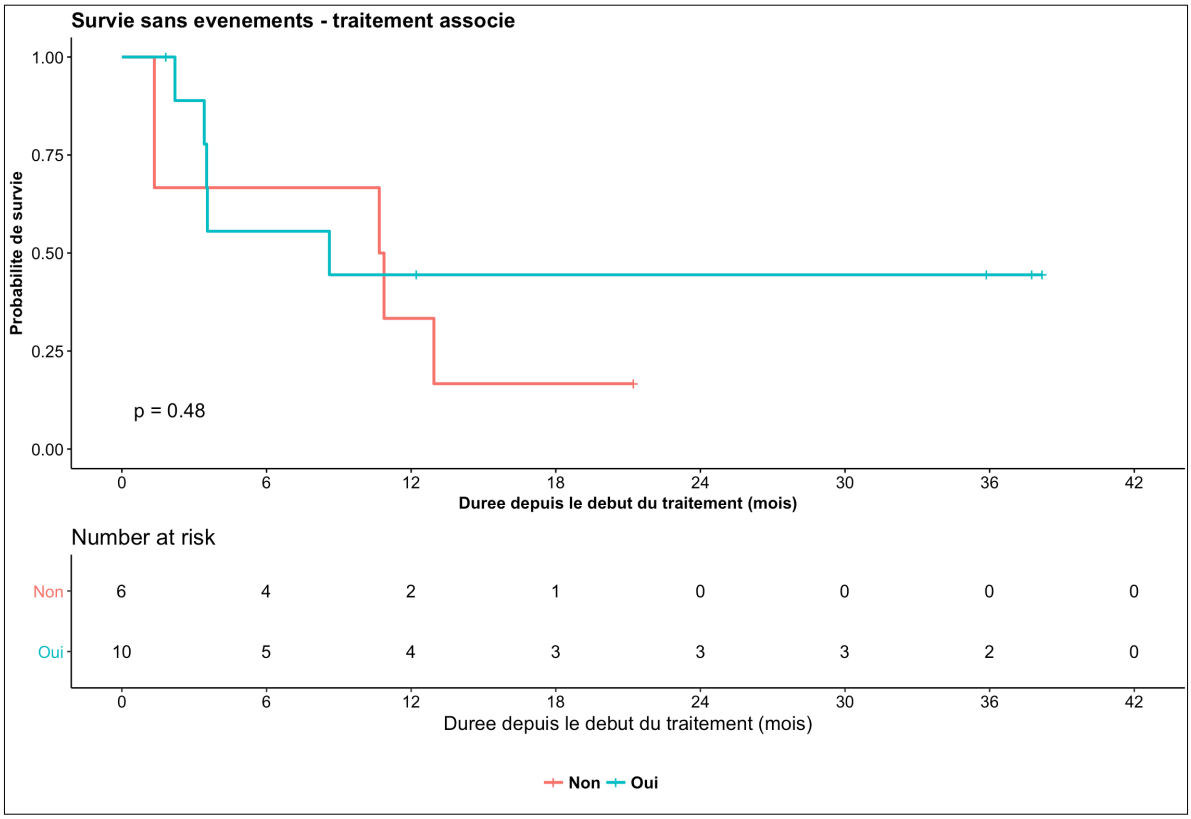
mois (2-21). Trois/4 patients ont présenté une réponse au traitement : 1 patient avec un SMD a présenté une stabilisation prolongée de sa maladie pendant 12 mois, avec une très bonne tolérance du traitement et une indépendance transfusionnelle, 1 autre patiente avec un SMD a présenté une réponse hématologique transitoire après 4 cures de traitement. Le patient présentant une LA biphénotypique a présenté une stabilisation transitoire de sa maladie, mais le traitement a été interrompu en raison d'une complication infectieuse à type d'abcès. L'imputabilité de l'Azacitidine dans ce dernier cas est délicate, car il présentait une aplasie dans un contexte de maladie progressive, et a par ailleurs reçu un traitement concomitant par Sorafénib. Ainsi, la tolérance de l'Azacitidine administrée en situation palliative a été globalement bonne. Chez un patient, le traitement a permis une augmentation significative de la durée de vie, avec préservation de la qualité de celle-ci. Dans des situations d'impasse thérapeutique, notamment d'impossibilité d'allogreffe de CSH, l'Azacitidine peut offrir une alternative thérapeutique intéressante, pour aider au maintien à domicile et à la préservation de la qualité de vie des patients.

CONCLUSION

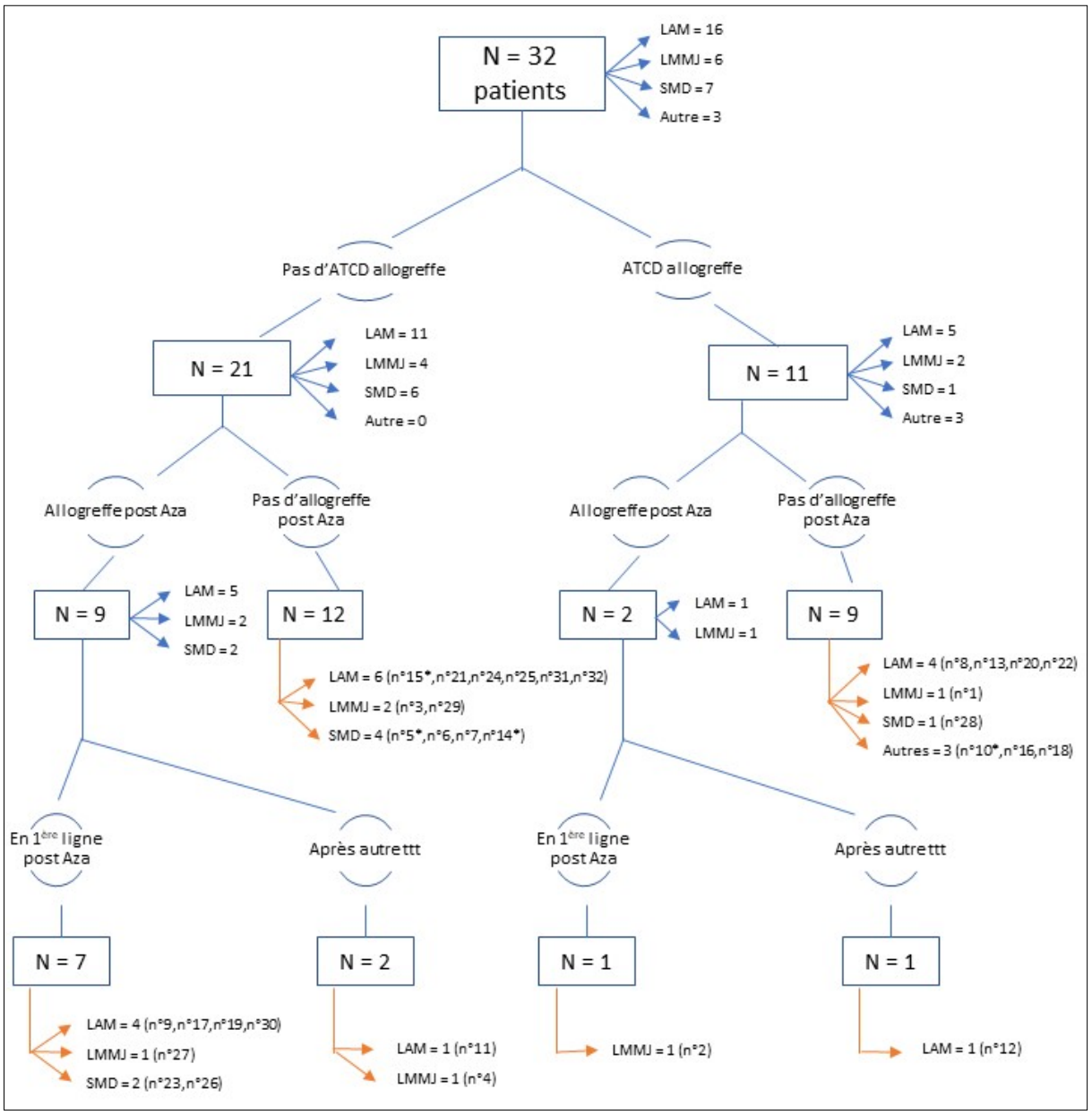
Dans cette étude rétrospective portant sur 32 patients pédiatriques traités par Azacitidine pour une hémopathie maligne, une bonne tolérance du traitement a été observée. L'efficacité globale du traitement a été limitée, avec une survie globale à 5 ans de 23%, IC95% [11 ; 48], sans différence significative de survie globale ni de survie sans événement selon la pathologie sous-jacente (LAM, LMMJ, SMD ou autre). Ces résultats peuvent probablement s'expliquer en partie par le profil des patients, déjà lourdement traités. Cependant, certains patients ont présenté une réponse intéressante à l'Azacitidine : en « bridge to transplant » dans les LAM réfractaires à 2 lignes de traitement ou au diagnostic dans les LMMJ ; en association au Sorafénib dans les LA avec mutation FLT3-ITD ; chez les patients présentant une LMMJ du groupe « méthylation forte » (mutation de PTPN11) ; ou encore en situation palliative pour les patients ne pouvant bénéficier d'une greffe de CSH. Par ailleurs, l'association de l'Azacitidine avec d'autres traitements, soit de type inhibiteur ciblé sur une anomalie (exemple de l'Azacitidine associée aux inhibiteurs de kinase type Sorafénib), soit de type inhibiteur non ciblé sur une anomalie (exemple de l'Azacitidine associée aux agents pro-apoptotiques type Venetoclax) pourrait, comme chez l'adulte, constituer une nouvelle approche thérapeutique dans le futur.

Des études cliniques prospectives portant sur un plus grand nombre de patients sont nécessaires d'une part pour confirmer ces résultats et d'autre part pour déterminer de nouvelles approches thérapeutiques. En raison de la rareté de ces pathologies, une collaboration internationale est nécessaire.

ANNEXES



Annexe 1 Survie sans événement, après initiation de l'Azacitidine, chez les patients présentant une LAM, selon l'administration ou non d'un traitement concomitant



*Annexe 2 Répartition des patients selon les traitements par allogreffe reçus (*patients traités par Aza à but palliatif)*

References

1 Royce J. American Association for the Advancement of Science is collaborating with JSTOR to. *Science* 1884; **3**: 321–322.

2 Leder P, Battey J, Lenoir G, *et al.* Translocations among antibody genes in human cancer. *Science* 1983; **222**: 765–771.

3 Koeffler HP. Molecular Mechanisms of Cancer. *Mol Mech CANCER*; : 10.

4 Plass C, Soloway PD. DNA methylation, imprinting and cancer. *Eur J Hum Genet* 2002; **10**: 6.

5 Jones PA, Laird PW. Cancer-epigenetics comes of age. *Nat Genet* 1999; **21**: 163.

6 Han M, Jia L, Lv W, Wang L, Cui W. Epigenetic Enzyme Mutations: Role in Tumorigenesis and Molecular Inhibitors. *Front Oncol* 2019; **9**.

7 Rodríguez-Paredes M, Esteller M. Cancer epigenetics reaches mainstream oncology. *Nat Med* 2011; **17**: 330–9.

8 Fernandez AF, Assenov Y, Martin-Subero JI, *et al.* A DNA methylation fingerprint of 1628 human samples. *Genome Res* 2012; **22**: 407–19.

9 Klein Hesselink EN, Zafon C, Villalmanzo N, *et al.* Increased global DNA hypomethylation in distant metastatic and dedifferentiated thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 2017; **103**: 397–406.

10 Park YJ, Claus R, Weichenhan D, Plass C. Genome-wide epigenetic modifications in cancer. In: Epigenetics and Disease. Springer, 2011: 25–49.

11 Ling E, Ringel A, Sigal-Batikoff I, *et al.* Human colorectal cancer stage-dependent global DNA hypomethylation of cancer-associated fibroblasts. *Anticancer Res* 2016; **36**: 4503–4507.

12 Cravo M, Pinto R, Fidalgo P, *et al.* Global DNA hypomethylation occurs in the early stages of intestinal type gastric carcinoma. *Gut* 1996; **39**: 434–8.

13 Greiner V. Epigénétique et méthylation de l'ADN: étude des mécanismes d'interaction du domaine SRA de UHRF1 avec l'ADN hémi-méthylé. ; : 236.

14 Baylin SB, Herman JG. DNA hypermethylation in tumorigenesis: epigenetics joins genetics. *Trends Genet* 2000; **16**: 168–174.

15 Holliday R, Pugh JE. DNA Modification Mechanisms and Gene Activity during Development. *Sci New Ser* 1975; **187**: 226–32.

16 Jones PA. Functions of DNA methylation: islands, start sites, gene bodies and beyond. *Nat Rev Genet* 2012; **13**: 484–92.

17 Jones PA, Liang G. Rethinking how DNA methylation patterns are maintained. *Nat Rev Genet* 2009; **10**: 805–11.

18 Parry L, Clarke AR. The Roles of the Methyl-CpG Binding Proteins in Cancer. *Genes Cancer* 2011; **2**: 618–30.

19 Bird A. DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes Dev* 2002; **16**: 6–21.

20 Liang G, Weisenberger DJ. DNA methylation aberrancies as a guide for surveillance and treatment of human cancers. *Epigenetics* 2017; **12**: 416–32.

21 Bhutani N, Burns DM, Blau HM. DNA Demethylation Dynamics. *Cell* 2011; **146**: 866–72.

22 Egger G, Liang G, Aparicio A, Jones PA. Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy. *Nature* 2004; **429**: 457–63.

23 Lyko F, Brown R. DNA methyltransferase inhibitors and the development of epigenetic cancer therapies. *J Natl Cancer Inst* 2005; **97**: 1498–1506.

24 Diesch J, Zwick A, Garz A-K, Palau A, Buschbeck M, Götze KS. A clinical-molecular update on azanucleoside-based therapy for the treatment of hematologic cancers. *Clin Epigenetics* 2016; **8**. DOI:10.1186/s13148-016-0237-y.

25 Jones PA. Cellular differentiation, cytidine analogs and DNA methylation. Cell. 1980; : 85–93.

26 Taylor SM, Jones PA. Mechanism of action of eukaryotic DNA methyltransferase. Use of 5-azacytosine-containing DNA. J Mol Biol. 1982; : 679–92.

27 Silverman LR. Randomized Controlled Trial of Azacitidine in Patients With the Myelodysplastic Syndrome: A Study of the Cancer and Leukemia Group B. *J Clin Oncol* 2002; **20**: 2429–40.

28 Fenaux P, Mufti GJ, Hellstrom-Lindberg E, *et al.* Efficacy of azacitidine compared with that of conventional care regimens in the treatment of higher-risk myelodysplastic syndromes: a randomised, open-label, phase III study. *Lancet Oncol* 2009; **10**: 223–32.

29 Dombret H, Seymour JF, Butrym A, *et al.* International phase 3 study of azacitidine vs conventional care regimens in older patients with newly diagnosed AML with >30% blasts. *Blood* 2015; **126**: 291–9.

30 Haute Autorité de Santé. Commission de la transparence, Azacitidine. Haute Autorité de Santé, 2017 www.has-sante.fr/portail/upload/docs/evamed/CT-15700_VIDAZA_PIC_EI_LAM_Avis3_CT15700.pdf.

31 Diesch J, Zwick A, Garz A-K, Palau A, Buschbeck M, Götze KS. A clinical-molecular update on azanucleoside-based therapy for the treatment of hematologic cancers. *Clin Epigenetics* 2016; **8**. DOI:10.1186/s13148-016-0237-y.

32 Kantarjian HM, Thomas XG, Dmoszynska A, *et al.* Multicenter, Randomized, Open-Label, Phase III Trial of Decitabine Versus Patient Choice, With Physician Advice, of Either Supportive Care or Low-Dose Cytarabine for the Treatment of Older Patients With Newly Diagnosed Acute Myeloid Leukemia. *J Clin Oncol* 2012; **30**: 2670–7.

33 Haute Autorité de Santé. Commission de la transparence, Décitabine. Haute Autorité de Santé, 2018 www.has-sante.fr/portail/upload/docs/evamed/CT-16554_DACOGEN_PIC_REEV_MCI_Avis2_CT15856&16554.pdf.

34 Clavel J, Goubin A, Auclerc MF, *et al.* Incidence of childhood leukaemia and non-Hodgkin's lymphoma in France: National Registry of Childhood Leukaemia and Lymphoma, 1990-1999. *Eur J Cancer Prev Off J Eur Cancer Prev Organ ECP* 2004; **13**: 97–103.

35 Tsukimoto I, Tawa A, Horibe K, *et al.* Risk-Stratified Therapy and the Intensive Use of Cytarabine Improves the Outcome in Childhood Acute Myeloid Leukemia: The AML99 Trial From the Japanese Childhood AML Cooperative Study Group. *J Clin Oncol* 2009; **27**: 4007–13.

36 Rubnitz JE, Inaba H, Dahl G, *et al.* Minimal residual disease-directed therapy for childhood acute myeloid leukaemia: results of the AML02 multicentre trial. *Lancet Oncol* 2010; **11**: 543–52.

37 Abrahamsson J, Forestier E, Heldrup J, *et al.* Response-Guided Induction Therapy in Pediatric Acute Myeloid Leukemia With Excellent Remission Rate. *J Clin Oncol* 2011; **29**: 310–5.

38 Gibson BES, Webb DKH, Howman AJ, *et al.* Results of a randomized trial in children with Acute Myeloid Leukaemia: Medical Research Council AML12 trial. *Br J Haematol* 2011; **155**: 366–76.

39 Creutzig U, van den Heuvel-Eibrink MM, Gibson B, *et al.* Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in children and adolescents: recommendations from an international expert panel. *Blood* 2012; **120**: 3187–205.

40 Canner J, Alonzo TA, Franklin J, *et al.* Differences in outcomes of newly diagnosed acute myeloid leukemia for adolescent/young adult and younger patients: A Report from the Children's Oncology Group. *Cancer* 2013; **119**: 4162–9.

41 Moerloose B, Reedijk A, Bock GH, *et al.* Response-guided chemotherapy for pediatric acute myeloid leukemia without hematopoietic stem cell transplantation in first complete remission: Results from protocol DB AML-01. *Pediatr Blood Cancer* 2019; **66**: e27605.

42 Zwaan CM, Kolb EA, Reinhardt D, *et al.* Collaborative Efforts Driving Progress in Pediatric Acute Myeloid Leukemia. *J Clin Oncol* 2015; **33**: 2949–62.

43 Petit A, Ducassou S, Leblanc T, *et al.* Maintenance Therapy With Interleukin-2 for Childhood AML: Results of ELAM02 Phase III Randomized Trial. *HemaSphere* 2018; : 1.

44 Creutzig U, Zimmermann M, Bourquin J-P, *et al.* Randomized trial comparing liposomal daunorubicin with idarubicin as induction for pediatric acute myeloid leukemia: results from Study AML-BFM 2004. *Blood* 2013; **122**: 37–43.

45 Pession A, Masetti R, Rizzari C, *et al.* Results of the AIEOP AML 2002/01 multicenter prospective trial for the treatment of children with acute myeloid leukemia. *Blood* 2013; **122**: 170–8.

46 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.

47 Papaemmanuil E, Gerstung M, Bullinger L, *et al.* Genomic Classification and Prognosis in Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med* 2016; **374**: 2209–21.

48 Harris NL, Jaffe ES, Diebold J, *et al.* The World Health Organization Classification of Neoplastic Diseases of the Hematopoietic and Lymphoid Tissues. *Ann Oncol* 1999; **10**: 1419–32.

49 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.

50 Luquet I, Bidet A, Cuccuini W, Lafage-Pochitaloff M, Mozziconacci M-J, Terré C. Cytogenetics in the management of acute myeloid leukemia: an update by the Groupe francophone de cytogénétique hématologique (GFCH). *Ann Biol Clin (Paris)* 20169-10; : 535–546.

51 Duployez N, Marceau-Renaut A, Villenet C, *et al.* The stem cell-associated gene expression signature allows risk stratification in pediatric acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2019; **33**: 348–57.

52 Döhner H, Estey E, Grimwade D, *et al.* Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. *Blood* 2017; **129**: 424–47.

53 Marceau-Renaut A, Duployez N, Ducourneau B, *et al.* Molecular Profiling Defines Distinct Prognostic Subgroups in Childhood AML: A Report From the French ELAM02 Study Group. *HemaSphere* 2018; **2**: e31.

54 Harrison CJ, Hills RK, Moorman AV, *et al.* Cytogenetics of Childhood Acute Myeloid Leukemia: United Kingdom Medical Research Council Treatment Trials AML 10 and 12. *J Clin Oncol* 2010; **28**: 2674–81.

55 Tierens A, Bjørklund E, Siitonen S, *et al.* Residual disease detected by flow cytometry is an independent predictor of survival in childhood acute myeloid leukaemia; results of the NOPHO-AML 2004 study. *Br J Haematol* 2016; **174**: 600–9.

56 Rubnitz JE. Current Management of Childhood Acute Myeloid Leukemia. *Pediatr Drugs* 2017; **19**: 1–10.

57 Buldini B, Rizzati F, Masetti R, *et al.* Prognostic significance of flow-cytometry evaluation of minimal residual disease in children with acute myeloid leukaemia treated according to the AIEOP-AML 2002/01 study protocol. *Br J Haematol* 2017; **177**: 116–26.

58 Hasle H. A critical review of which children with acute myeloid leukaemia need stem cell procedures. *Br J Haematol* 2014; **166**: 23–33.

59 Cooper TM, Franklin J, Gerbing RB, *et al.* AAML03P1, a pilot study of the safety of gemtuzumab ozogamicin in combination with chemotherapy for newly diagnosed childhood acute myeloid leukemia: A report from the Children's Oncology Group. *Cancer* 2012; **118**: 761–9.

60 Gamis AS, Alonzo TA, Meshinchi S, *et al.* Gemtuzumab Ozogamicin in Children and Adolescents With De Novo Acute Myeloid Leukemia Improves Event-Free Survival by Reducing Relapse Risk: Results From the Randomized Phase III Children's Oncology Group Trial AAML0531. *J Clin Oncol* 2014; **32**: 3021–32.

61 Tomizawa D, Tawa A, Watanabe T, *et al.* Appropriate dose reduction in induction therapy is essential for the treatment of infants with acute myeloid leukemia: a report from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group. *Int J Hematol* 2013; **98**: 578–88.

62 on behalf of EORTC Children Leukemia Group (CLG), Entz-Werle N, Suciu S, *et al.* Results of 58872 and 58921 trials in acute myeloblastic leukemia and relative value of chemotherapy vs allogeneic bone marrow transplantation in first complete remission: the EORTC Children Leukemia Group report. *Leukemia* 2005; **19**: 2072–81.

63 The Cancer Genome Atlas Research Network. Genomic and Epigenomic Landscapes of Adult De Novo Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med* 2013; **368**: 2059–74.

64 Newcombe AA, Gibson BES, Keeshan K. Harnessing the potential of epigenetic therapies for childhood acute myeloid leukemia. *Exp Hematol* 2018; **63**: 1–11.

65 Sakashita K, Matsuda K, Koike K. Diagnosis and treatment of juvenile myelomonocytic leukemia. *Pediatr Int* 2016; **58**: 681–90.

66 Niemeyer CM, Arico M, Basso G, *et al.* Chronic Myelomonocytic Leukemia in Childhood: A Retrospective Analysis of 110 Cases. *Blood* 1997; **89**: 3534–43.

67 Locatelli F, Uderzo C, Bonfim CS, *et al.* Hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) in children with juvenile myelomonocytic leukemia (JMML): results of the EWOG-MDS/EBMT trial. 2005; **105**: 11.

68 Dvorak CC, Loh ML. Juvenile Myelomonocytic Leukemia: Molecular Pathogenesis Informs Current Approaches to Therapy and Hematopoietic Cell Transplantation. *Front Pediatr* 2014; **2**. DOI:10.3389/fped.2014.00025.

69 Niemeyer CM, Flotho C. Juvenile myelomonocytic leukemia: who's the driver at the wheel? *Blood* 2019; **11**: 26.

70 Chang TY, Dvorak CC, Loh ML. Bedside to bench in juvenile myelomonocytic leukemia: insights into leukemogenesis from a rare pediatric leukemia. *Blood* 2014; **124**: 2487–97.

71 Caye A, Strullu M, Guidez F, *et al.* Juvenile myelomonocytic leukemia displays mutations in components of the RAS pathway and the PRC2 network. *Nat Genet* 2015; **47**: 1334–40.

72 Locatelli F, Algeri M, Merli P, Strocchio L. Novel approaches to diagnosis and treatment of Juvenile Myelomonocytic Leukemia. *Expert Rev Hematol* 2018; **11**: 129–43.

73 Locatelli F, Niemeyer CM. How I treat juvenile myelomonocytic leukemia. *Blood* 2015; **125**: 1083–90.

74 Loh ML. Recent advances in the pathogenesis and treatment of juvenile myelomonocytic leukaemia: Review. *Br J Haematol* 2011; **152**: 677–87.

75 Flotho C. Gene mutations do not operate in a vacuum: the increasing importance of epigenetics in juvenile myelomonocytic leukemia. *Epigenetics* 2019; **14**: 236–44.

76 Olk-Batz C, Poetsch AR, Nöllke P, *et al.* Aberrant DNA methylation characterizes juvenile myelomonocytic leukemia (JMML) with poor outcome. *Blood* 2011; : blood–2010.

77 Lipka DB, Witte T, Toth R, *et al.* RAS-pathway mutation patterns define epigenetic subclasses in juvenile myelomonocytic leukemia. *Nat Commun* 2017; **8**: 2126.

78 Stieglitz E, Mazor T, Olshen AB, *et al.* Genome-wide DNA methylation is predictive of outcome in juvenile myelomonocytic leukemia. *Nat Commun* 2017; **8**: 2127.

79 Niemeyer CM, Flotho C, Lipka DB, *et al.* Upfront azacitidine (AZA) in juvenile myelomonocytic leukemia (JMML): Interim analysis of the prospective AZA-JMML-001 study. *J Clin Oncol* 2019; **37**: 10031–10031.

80 Hasle H. Myelodysplastic and myeloproliferative disorders of childhood. *Hematology* 2016; **2016**: 598–604.

81 Baumann I, Führer M, Behrendt S, *et al.* Morphological differentiation of severe aplastic anaemia from hypocellular refractory cytopenia of childhood: reproducibility of histopathological diagnostic criteria: Histological differentiation of SAA and RCC. *Histopathology* 2012; **61**: 10–7.

82 Gohring G, Michalova K, Beverloo HB, *et al.* Complex karyotype newly defined: the strongest prognostic factor in advanced childhood myelodysplastic syndrome. *Blood* 2010; **116**: 3766–9.

83 Wlodarski MW, Hirabayashi S, Pastor V, *et al.* Prevalence, clinical characteristics, and prognosis of GATA2-related myelodysplastic syndromes in children and adolescents. *Blood* 2016; **127**: 1387–97.

84 Hasle H, Niemeyer CM, Chessells JM, *et al.* A pediatric approach to the WHO classification of myelodysplastic and myeloproliferative diseases. *Leukemia* 2003; **17**: 277–82.

85 Yoshimi A, Baumann I, Fuhrer M, *et al.* Immunosuppressive therapy with anti-thymocyte globulin and cyclosporine A in selected children with hypoplastic refractory cytopenia. *Haematologica* 2007; **92**: 397–400.

86 for the EWOG-MDS study group, Strahm B, Nöllke P, *et al.* Hematopoietic stem cell transplantation for advanced myelodysplastic syndrome in children: results of the EWOG-MDS 98 study. *Leukemia* 2011; **25**: 455–62.

87 Kato M, Yoshida N, Inagaki J, *et al.* Salvage allogeneic stem cell transplantation in patients with pediatric myelodysplastic syndrome and myeloproliferative neoplasms: Salvage HSCT for Pediatric MDS/MPN. *Pediatr Blood Cancer* 2014; **61**: 1860–6.

88 Vidal DO, Paixão VA, Brait M, *et al.* Aberrant methylation in pediatric myelodysplastic syndrome. *Leuk Res* 2007; **31**: 175–81.

89 Kim M, Kook H, Park HJ, *et al.* Quantitative Comparison of ***CDKN2B*** Methylation in Pediatric and Adult Myelodysplastic Syndromes. *Acta Haematol* 2013; **130**: 115–21.

90 Hasegawa D, Manabe A, Kubota T, *et al.* Methylation status of the p15 and p16 genes in paediatric myelodysplastic syndrome and juvenile myelomonocytic leukaemia. *Br J Haematol* 2005; **128**: 805–12.

91 Rodrigues EF, Santos-Rebouças CB, Gonçalves Pimentel MM, *et al.* Epigenetic alterations of *p15 INK4B* and *p16 INK4A* genes in pediatric primary myelodysplastic syndrome. *Leuk Lymphoma* 2010; **51**: 1887–94.

92 Furlan I, Batz C, Flotho C, *et al.* Intriguing response to azacitidine in a patient with juvenile myelomonocytic leukemia and monosomy 7. *Blood* 2009; **113**: 2867–2868.

93 Inoue A, Kawakami C, Takitani K, Tamai H. Azacitidine in the treatment of pediatric therapy-related myelodysplastic syndrome after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *J Pediatr Hematol Oncol* 2014; **36**: e322-324.

94 Dahl NA, Michaels ST, McMasters RL, Chandra S, O'Brien MM. Azacitidine and Sorafenib Therapy in a Pediatric Patient With Refractory Acute Myeloid Leukemia With Monosomy 7 and Somatic PTPN11 Mutation: Azacitidine and Sorafenib in AML With PTPN11. *Pediatr Blood Cancer* 2016; **63**: 551–3.

95 Polishchuk V, Khazal S, Berulava G, Roth M, Mahadeo KM. 5-Azacitidine Monotherapy Followed by Related Haploidentical Hematopoietic Stem Cell Transplantation Achieves Durable Remission in a Pediatric Patient With Acute Undifferentiated Leukemia Refractory to High-Dose Chemotherapy: 5-Azacitidine Monotherapy in AUL. *Pediatr Blood Cancer* 2016; **63**: 1111–2.

96 Glasser CL, Lee A, Eslin D, Marks L, Modak S, Glade Bender JL. Epigenetic Combination Therapy for Children With Secondary Myelodysplastic Syndrome (MDS)/Acute Myeloid Leukemia (AML) and Concurrent Solid Tumor Relapse: *J Pediatr Hematol Oncol* 2017; **39**: 560–4.

97 Ding H, Hashem H, Cabral L, *et al.* Azacitidine as a bridge to allogeneic hematopoietic cell transplantation in a pediatric patient with Fanconi anemia and acute myeloid leukemia. *Pediatr Transplant* 2017; **21**: e12870.

98 Berot A, Pluchart C. Treatment With Azacitidine in the Context of Palliative Care for a Patient With Acute Myeloid Leukemia Complicating Fanconi Anemia With Biallelic FANCD1/BRCA 2 Mutations: *J Pediatr Hematol Oncol* 2018; **40**: 247–8.

99 Uemura S, Mori T, Nagano C, *et al.* Effective response to azacitidine in a child with a second relapse of myeloid leukemia associated with Down syndrome after bone marrow transplantation. *Pediatr Blood Cancer* 2018; **65**: e27414.

100 Phillips CL, Davies SM, McMasters R, *et al.* Low dose decitabine in very high risk relapsed or refractory acute myeloid leukaemia in children and young adults. *Br J Haematol* 2013; **161**: 406–10.

101 Cseh A, Niemeyer CM, Yoshimi A, *et al.* Bridging to transplant with azacitidine in juvenile myelomonocytic leukemia: a retrospective analysis of the EWOG-MDS study group. *Blood* 2015; **125**: 2311–3.

102 Cseh AM, Niemeyer CM, Yoshimi A, *et al.* Therapy with low-dose azacitidine for MDS in children and young adults: a retrospective analysis of the EWOG-MDS study group. *Br J Haematol* 2016; **172**: 930–6.

103 Waespe N, Van Den Akker M, Klaassen RJ, *et al.* Response to treatment with azacitidine in children with advanced myelodysplastic syndrome prior to hematopoietic stem cell transplantation. *Haematologica* 2016; **101**: 1508–15.

104 Tamura A, Ishida T, Saito A, *et al.* Low-dose azacitidine maintenance therapy after allogeneic stem cell transplantation for high-risk pediatric acute myeloid leukemia. *Pediatr Blood Cancer* 2018; **65**: e27284.

105 Oshrine BR, Shyr D, Hale G, Petrovic A. Low-dose azacitidine for relapse prevention after allogeneic hematopoietic cell transplantation in children with myeloid malignancies. *Pediatr Transplant* 2019; **23**: e13423.

106 Hakami N, Look AT, Steuber PC, *et al.* Combined etoposide and 5-azacitidine in children and adolescents with refractory or relapsed acute nonlymphocytic leukemia: a Pediatric Oncology Group Study. *J Clin Oncol* 1987; **5**: 1022–5.

107 Steuber CP, Krischer J, Holbrook T, *et al.* Therapy of refractory or recurrent childhood acute myeloid leukemia using amsacrine and etoposide with or without azacitidine: a Pediatric Oncology Group randomized phase II study. *J Clin Oncol* 1996; **14**: 1521–5.

108 Gore L, Triche TJ, Farrar JE, *et al.* A multicenter, randomized study of decitabine as epigenetic priming with induction chemotherapy in children with AML. *Clin Epigenetics* 2017; **9**: 108.

109 Sun W. A phase 1 study of azacitidine combined with chemotherapy in childhood leukemia: a report from TACL consortium. *Blood* 2018; **131(10)**: 1145–8.

110 Kearns P, Zwaan CM, Reinhardt D, *et al.* Phase 1-2 safety, efficacy and pharmacokinetic study of decitabine in sequential administration with cytarabine in children with relapsed or refractory acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol* 2019; published online March 7. DOI:10.1111/bjh.15847.

111 Cheson BD, Bennett JM, Kopecky KJ, *et al.* Revised Recommendations of the International Working Group for Diagnosis, Standardization of Response Criteria, Treatment Outcomes, and Reporting Standards for Therapeutic Trials in Acute Myeloid Leukemia. *J Clin Oncol* 2003; **21**: 4642–9.

112 Niemeyer CM, Loh ML, Cseh A, *et al.* Criteria for evaluating response and outcome in clinical trials for children with juvenile myelomonocytic leukemia. *Haematologica* 2015; **100**: 17–22.

113 Cheson BD. Clinical application and proposal for modification of the International Working Group (IWG) response criteria in myelodysplasia. *Blood* 2006; **108**: 419–25.

114 Derissen EJB, Beijnen JH, Schellens JHM. Concise Drug Review: Azacitidine and Decitabine. *The Oncologist* 2013; **18**: 619–24.

115 Cseh AM, Niemeyer CM, Yoshimi A, *et al.* Therapy with low-dose azacitidine for MDS in children and young adults: a retrospective analysis of the EWOG-MDS study group. *Br J Haematol* 2016; **172**: 930–6.

116 Cseh A, Niemeyer CM, Yoshimi A, *et al.* Bridging to transplant with azacitidine in juvenile myelomonocytic leukemia: a retrospective analysis of the EWOG-MDS study group. *Blood* 2015; **125**: 2311–3.

117 Waespe N, Van Den Akker M, Klaassen RJ, *et al.* Response to treatment with azacitidine in children with advanced myelodysplastic syndrome prior to hematopoietic stem cell transplantation. *Haematologica* 2016; **101**: 1508–15.

118 Sander A, Zimmermann M, Dworzak M, *et al.* Consequent and intensified relapse therapy improved survival in pediatric AML: results of relapse treatment in 379 patients of three consecutive AML-BFM trials. *Leukemia* 2010; **24**: 1422–8.

119 Nakayama H, Tabuchi K, Tawa A, *et al.* Outcome of children with relapsed acute myeloid leukemia following initial therapy under the AML99 protocol. *Int J Hematol* 2014; **100**: 171–9.

120 Kaspers G. How I treat paediatric relapsed acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol* 2014; **166**: 636–45.

121 Okamoto Y, Kudo K, Tabuchi K, *et al.* Hematopoietic stem-cell transplantation in children with refractory acute myeloid leukemia. *Bone Marrow Transplant* 2019; published online Feb 4. DOI:10.1038/s41409-019-0461-0.

122 Karlsson L, Forestier E, Hasle H, *et al.* Outcome after intensive reinduction therapy and allogeneic stem cell transplant in paediatric relapsed acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol* 2017; **178**: 592–602.

123 Kaspers GJL, Zimmermann M, Reinhardt D, *et al.* Improved Outcome in Pediatric Relapsed Acute Myeloid Leukemia: Results of a Randomized Trial on Liposomal Daunorubicin by the International BFM Study Group. *J Clin Oncol* 2013; **31**: 599–607.

124 Gorman MF, Ji L, Ko RH, *et al.* Outcome for children treated for relapsed or refractory acute myelogenous leukemia (rAML): A therapeutic advances in childhood leukemia (TACL) consortium study. *Pediatr Blood Cancer* 2010; **55**: 421–9.

125 Rubnitz JE, Razzouk BI, Lensing S, Pounds S, Pui C-H, Ribeiro RC. Prognostic factors and outcome of recurrence in childhood acute myeloid leukemia. *Cancer* 2007; **109**: 157–63.

126 Bejanyan N, Weisdorf DJ, Logan BR, *et al.* Survival of Patients with Acute Myeloid Leukemia Relapsing after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation: A Center for

International Blood and Marrow Transplant Research Study. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015; **21**: 454–9.

127 Seval G, Ozcan M. Treatment of Acute Myeloid Leukemia in Adolescent and Young Adult Patients. *J Clin Med* 2015; **4**: 441–59.

128 Ofran Y, Rowe JM. Acute Myeloid Leukemia in Adolescents and Young Adults: Challenging Aspects. *Acta Haematol* 2014; **132**: 292–7.

129 Yoshida N, Yagasaki H, Xu Y, *et al.* Correlation of Clinical Features With the Mutational Status of GM-CSF Signaling Pathway-Related Genes in Juvenile Myelomonocytic Leukemia. *Pediatr Res* 2009; **65**: 334–40.

130 Shimizu H, Saitoh T, Machida S, *et al.* Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for adult patients with mixed phenotype acute leukemia: results of a matched-pair analysis. *Eur J Haematol* 2015; **95**: 455–60.

131 Lee HG, Baek HJ, Kim HS, Park SM, Hwang TJ, Kook H. Biphenotypic acute leukemia or acute leukemia of ambiguous lineage in childhood: clinical characteristics and outcome. *Blood Res* 2019; **54**: 63.

132 Saygin C, Uzunaslan D, Ozguroglu M, Senocak M, Tuzuner N. Dendritic cell sarcoma: A pooled analysis including 462 cases with presentation of our case series. *Crit Rev Oncol Hematol* 2013; **88**: 253–71.

133 Silverman LR, Fenaux P, Mufti GJ, *et al.* Continued azacitidine therapy beyond time of first response improves quality of response in patients with higher-risk myelodysplastic syndromes: Continued Azacitidine in MDS. *Cancer* 2011; **117**: 2697–702.

134 Madanat Y, Sekeres MA. Optimizing the use of hypomethylating agents in myelodysplastic syndromes: Selecting the candidate, predicting the response, and enhancing the activity. *Semin Hematol* 2017; **54**: 147–53.

135 On behalf of the Groupe Francophone des Myelodysplasies (GFM), Itzykson R, Kosmider O, *et al.* Impact of TET2 mutations on response rate to azacitidine in myelodysplastic syndromes and low blast count acute myeloid leukemias. *Leukemia* 2011; **25**: 1147–52.

136 Bejar R, Lord A, Stevenson K, *et al.* TET2 mutations predict response to hypomethylating agents in myelodysplastic syndrome patients. *Blood* 2014; **124**: 2705–12.

137 Traina F, Visconte V, Elson P, *et al.* Impact of molecular mutations on treatment response to DNMT inhibitors in myelodysplasia and related neoplasms. *Leukemia* 2013; **28**: 78.

138 Zampini M, Tregnago C, Bisio V, *et al.* Epigenetic heterogeneity affects the risk of relapse in children with t(8;21)RUNX1-RUNX1T1-rearranged AML. *Leukemia* 2018; **32**: 1124–34.

139 Ravandi F, Alattar ML, Grunwald MR, *et al.* Phase 2 study of azacytidine plus sorafenib in patients with acute myeloid leukemia and FLT-3 internal tandem duplication mutation. *Blood* 2013; **121**: 4655–62.

140 Rautenberg C, Nachtkamp K, Dienst A, *et al.* Sorafenib and azacitidine as salvage therapy for relapse of FLT3-ITD mutated AML after allo-SCT. *Eur J Haematol* 2017; **98**: 348–54.

141 Sid S, Rey J, Charbonnier A, *et al.* Treatment of Post-transplant Relapse of FLT3-ITD Mutated AML Using 5-Azacytidine and Sorafenib Bitherapy. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2017; **17**: 241–2.

142 Tsao T, Shi Y, Kornblau S, *et al.* Concomitant inhibition of DNA methyltransferase and BCL-2 protein function synergistically induce mitochondrial apoptosis in acute myelogenous leukemia cells. *Ann Hematol* 2012; **91**: 1861–70.

143 DiNardo CD, Pratz KW, Letai A, *et al.* Safety and preliminary efficacy of venetoclax with decitabine or azacitidine in elderly patients with previously untreated acute myeloid leukaemia: a non-randomised, open-label, phase 1b study. *Lancet Oncol* 2018; **19**: 216–28.

RESUME/ ABSTRACT

Titre : Place des agents hypométhylants dans les hémopathies malignes de l'enfant : étude rétrospective de l'administration d'Azacitidine dans trois centres d'hématologie d'Île-de-France

Objectif : Il existe peu de données sur l'intérêt des agents hypométhylants dans les hémopathies malignes de l'enfant. Nous avons étudié l'indication, l'efficacité et la tolérance de l'Azacitidine (Aza) dans une cohorte d'enfants et jeunes adultes.

Méthodes : Les données de patients (âge ≤ 25 ans) traités par Aza dans 3 centres d'hématologie, entre 2009 et 2019, ont été recueillies rétrospectivement.

Résultats : 32 patients (âge médian = 11,7 ans), ayant reçu 35 cycles d'Aza, ont été inclus. Les pathologies comprenaient : 16 leucémies aiguës myéloïdes (LAM), 6 leucémies myélomonocytaires juvéniles (LMMJ), 7 syndromes myélodysplasiques (SMD), 2 leucémies aiguës biphénotypiques et 1 sarcome. Les 137 cures d'Aza administrées ont été bien tolérées. 23/35 traitements se sont soldés par un échec. 24/32 patients sont décédés et la survie globale à 5 ans était de 23% IC95% [11 ; 48], sans différence selon la pathologie (p = 0,85). 4 patients avec une LAM réfractaire d'emblée ont été greffés et étaient vivants en rémission à 29,5 mois de recul médian. 3/6 LA traitées par Sorafénib et Aza, et 2/3 LMMJ avec mutation de PTPN11 ont présenté une réponse. 1 SMD en traitement palliatif a présenté une maladie stable prolongée.

Conclusion : La tolérance de l'Aza a été globalement bonne mais son efficacité limitée, probablement en partie à cause du profil des patients déjà lourdement traités. Des études prospectives internationales sont nécessaires pour confirmer certains résultats et identifier les patients pédiatriques qui pourraient bénéficier des agents hypométhylants, en particulier en combinaison avec d'autres agents comme les inhibiteurs de kinase ou les agents proapoptotiques.

Mots clés : Azacitidine, pédiatrie, LAM, LMMJ, SMD

Title : Hypomethylating agents in pediatric hematologic malignancies: a retrospective study on Azacitidine administration, in three hematology centers of the Île-de-France region.

Purpose: Data on the interest of hypomethylating agents in pediatric hematologic malignancies are missing. Administration of Azacitidine (Aza), regarding indication, efficacy and toxicity, in a cohort of children and young adults, has been studied.

Methods: We retrospectively collected data of patients aged under 25 years old, treated with Aza in 3 university hospitals, between 2009 and 2019.

Results: 32 patients (median age = 11.7 y), treated with 35 courses of Aza, have been included. Diagnosis were: 16 acute myeloid leukemias (AML), 6 juvenile myelomonocytic leukemias (JMML), 7 myelodysplastic syndromes (MDS), 2 mixed-type acute leukemias (AL), and 1 sarcoma. 137 cycles have been administrated and were well tolerated. At the end of course 23/35 treatments with Aza had failed. 24/32 patients died, and overall survival at 5 years was 23%, IC95% [11 ;48]. No difference on overall survival according to diagnosis has been observed (p=0,85). Four patients with refractory AML achieved remission prior to bone marrow transplant and were alive in complete remission (median follow-up = 29.5 months). 3/6 AL treated with Sorafenib and Aza, and 2/3 JMML with PTPN11 mutation have presented a response. 1 MDS presented an extended stable disease after palliative treatment with Aza.

Conclusion: Aza was well tolerated, but overall outcome was poor, probably due to the fact that most of the patients have been heavily pretreated. Further international prospective investigations are needed in order to confirm some of the results, and better define pediatric patients who might benefit from hypomethylating agents, in particular in combination with kinase inhibitors or proapoptotic agents.

Keywords: Azacitidine, childhood, AML, JMML, MDS