



HAL
open science

Faisabilité du drug testing ex vivo au diagnostic et à la rechute des leucémies aiguës myéloïdes pédiatriques

Pauline Tessier

► **To cite this version:**

Pauline Tessier. Faisabilité du drug testing ex vivo au diagnostic et à la rechute des leucémies aiguës myéloïdes pédiatriques. Médecine humaine et pathologie. 2024. dumas-04798390

HAL Id: dumas-04798390

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04798390v1>

Submitted on 22 Nov 2024

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.

ANNEE 2024

**THESE POUR LE
DOCTORAT EN MEDECINE**

(Diplôme d'état)

Par **TESSIER Pauline**

NEE LE 20/05/1995 A PARIS (18)

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 31 OCTOBRE 2024

**FAISABILITE DU DRUG TESTING EX VIVO AU DIAGNOSTIC ET A LA
RECHUTE DES LEUCEMIES AIGUES MYELOIDES PEDIATRIQUES**

- **PRESIDENTE DU JURY :** Pr Pascale SCHNEIDER

- **DIRECTEURS DE THESE :** Pr Arnaud PETIT
Dr Nimrod BUCHBINDER

- **MEMBRES DU JURY :** Pr Fabrice JARDIN
Dr Meyling CHEOK

ANNEE UNIVERSITAIRE 2023 - 2024

U.F.R. SANTÉ DE ROUEN

DOYEN : **Professeur Benoît VEBER**

ASSESEURS : **Professeur Loïc FAVENNEC**
Professeur Agnès LIARD
Professeur Guillaume SAVOYE

I - MEDECINE

PROFESSEURS DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS

Mme Najate ACHAMRAH	HCN Nutrition
Mr Frédéric ANSELME	HCN Cardiologie
Mme Gisèle APTER	Havre Pédiopsychiatrie
Mme Isabelle AUQUIT AUCKBUR	HCN Chirurgie plastique
Mr Jean-Marc BASTE	HCN Chirurgie Thoracique
Mr Fabrice BAUER	HCN Cardiologie
Mme Soumeya BEKRI	HCN Biochimie et biologie moléculaire
Mr Ygal BENHAMOU	HCN Médecine interne
Mr Jacques BENICHOU	HCN Bio statistiques et informatique médicale
Mr Emmanuel BESNIER	HCN Anesthésiologie - Réanimation
Mr Olivier BOYER	UFR Immunologie
Mme Valérie BRIDOUX HUYBRECHTS	HCN Chirurgie Digestive
Mme Sophie CANDON	HCN Immunologie
Mr François CARON	HCN Maladies infectieuses et tropicales
Mr Philippe CHASSAGNE	HCN Médecine interne (gériatrie)
Mr Thomas CLAVIER	HCN Anesthésie-Réanimation

Mr Florian CLATOT	CB	Cancérologie – Radiothérapie
Mr Moïse COEFFIER	HCN	Nutrition
Mr Vincent COMPERE	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
Mr Jean-Nicolas CORNU	HCN	Urologie
Mr Antoine CUVELIER	HB	Pneumologie
Mr Jean-Nicolas DACHER	HCN	Radiologie et imagerie médicale
Mr Stéfan DARMONI	HCN	Informatique médicale et techniques de communication
Mr Pierre DECHELOTTE	HCN	Nutrition
Mme Sophie DENEUVE	HCN	ORL
Mr Stéphane DERREY	HCN	Neurochirurgie
Mr Frédéric DI FIORE	CHB	Cancérologie
Mr Fabien DOGUET (<i>disponibilité</i>)	HCN	Chirurgie Cardio Vasculaire
Mr Franck DUJARDIN	HCN	Chirurgie orthopédique - Traumatologique
Mr Fabrice DUPARC	HCN	Anatomie - Chirurgie orthopédique et traumatologique
Mr Eric DURAND	HCN	Cardiologie
Mme Hélène ELTCHANINOFF	HCN	Cardiologie
Mr Manuel ETIENNE	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
Mr Jean François GEHANNO	HCN	Médecine et santé au travail
Mr Emmanuel GERARDIN	HCN	Imagerie médicale
Mme Priscille GERARDIN	HCN	Pédopsychiatrie
M. Guillaume GOURCEROL	HCN	Physiologie
Mr Dominique GUERROT	HCN	Néphrologie
Mme Julie GUEUDRY	HCN	Ophtalmologie
Mr Olivier GUILLIN	HCN	Psychiatrie Adultes
Mr Florian GUISIER	HCN	Pneumologie
Mr Claude HOUDAYER	HCN	Génétique
Mr Vivien HEBERT	HCN	Dermatologie
Mr Fabrice JARDIN	CHB	Hématologie
Mr Luc-Marie JOLY	HCN	Médecine d'urgence
Mr Pascal JOLY	HCN	Dermato – Vénéréologie
Mme Bouchra LAMIA	Havre	Pneumologie
Mr Hervé LEFEBVRE	HB	Endocrinologie et maladies métaboliques
Mr Thierry LEQUERRE	HCN	Rhumatologie

Mme Anne-Marie LEROI	HCN	Physiologie
Mr Hervé LEVESQUE	HCN	Médecine interne
Mme Agnès LIARD-ZMUDA	HCN	Chirurgie Infantile
Mr Pierre Yves LITZLER	HCN	Chirurgie cardiaque
M. David MALTETE	HCN	Neurologie
M. Florent MARGUET	HCN	Histologie
Mr Christophe MARGUET	HCN	Pédiatrie
Mme Isabelle MARIE	HCN	Médecine interne
Mr Jean-Paul MARIE	HCN	Oto-rhino-laryngologie
Mr Stéphane MARRET	HCN	Pédiatrie
Mme Véronique MERLE (<i>disponibilité</i>)	HCN	Epidémiologie
Mr Pierre MICHEL	HCN	Hépto-gastro-entérologie
M. Benoît MISSET (<i>détachement</i>)	HCN	Réanimation Médicale
Mr Marc MURAINÉ	HCN	Ophthalmologie
Mr Gaël NICOLAS	UFR	Génétique
Mr Mourad OULD SLIMANE	HCN	Chirurgie Orthopédique
Mr Christian PFISTER	HCN	Urologie
Mr Jean-Christophe PLANTIER	HCN	Bactériologie - Virologie
Mr Didier PLISSONNIER	HCN	Chirurgie vasculaire
Mr Gaëtan PREVOST	HCN	Endocrinologie
Mr Jean-Christophe RICHARD (<i>détachement</i>)	HCN	Réanimation médicale - Médecine d'urgence
Mr Vincent RICHARD	UFR	Pharmacologie
Mme Nathalie RIVES	HCN	Biologie du développement et de la reproduction
Mr Frédéric ROCA	HCN	Médecine Gériatrique
Mr Horace ROMAN (<i>détachement</i>)	HCN	Gynécologie - Obstétrique
Mr Jean-Christophe SABOURIN	HCN	Anatomie – Pathologie
Mr Mathieu SALAUN	HCN	Pneumologie
Mr Guillaume SAVOYE	HCN	Hépto-gastro-entérologie
Mme Céline SAVOYE-COLLET	HCN	Imagerie médicale
Mme Pascale SCHNEIDER	HCN	Pédiatrie
Mr Lilian SCHWARZ	HCN	Chirurgie Viscérale et Digestive
Mme Fabienne TAMION	HCN	Réanimation médicale
Mr Luc THIBERVILLE	HCN	Pneumologie

Mr Sébastien THUREAU	CB	Radiothérapie
M. Gilles TOURNEL	HCN	Médecine Légale
Mr Olivier TROST	HCN	Anatomie -Chirurgie Maxillo-Faciale
Mr Jean-Jacques TUECH	HCN	Chirurgie digestive
Mr Benoît VEBER	HCN	Anesthésiologie - Réanimation chirurgicale
Mr Pierre VERA	CHB	Biophysique et traitement de l'image
Mr Eric VERIN	Les Herbiers	Médecine Physique et de Réadaptation
Mr Eric VERSPYCK	HCN	Gynécologie obstétrique
Mr Olivier VITTECOQ	HCN	Rhumatologie
Mr David WALLON	HCN	Neurologie
Mme Marie-Laure WELTER	HCN	Physiologie

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS

Mme Elodie ALESSANDRI-GRADT	HCN	Virologie
Mr Kévin ALEXANDRE	HCN	Maladies Infectieuses et Tropicales
Mme Noëlle BARBIER-FREBOURG	HCN	Bactériologie – Virologie
Mme Carole BRASSE LAGNEL	HCN	Biochimie
Mr Gérard BUCHONNET	HCN	Hématologie
Mme Mireille CASTANET	HCN	Pédiatrie
Mr Damien COSTA	HCN	Parasitologie
Mme Ivana DABAJ	HCN	Pédiatrie
Mme Charlotte DESPREZ	HCN	Physiologie
Mr Pierre DECAZES	CB	Médecine Nucléaire
Mr Maxime FONTANILLES	GHH	Oncologie Médicale
M. Vianney GILARD (<i>disponibilité</i>)	HCN	Neurochirurgie
Mr Serge JACQUOT	UFR	Immunologie
Mr Joël LADNER	HCN	Epidémiologie, économie de la santé
Mr Jean-Baptiste LATOUCHE	UFR	Biologie cellulaire
Mme Chloé MELCHIOR	HCN	Hépto-gastro-entérologie
M. Sébastien MIRANDA	HCN	Médecine Vasculaire
Mr Thomas MOUREZ (<i>détachement</i>)	HCN	Virologie
Mme Muriel QUILLARD	HCN	Biochimie et biologie moléculaire

Mme Laëtitia ROLLIN	HCN Médecine du Travail
Mme Maud ROTHARMEL	HCN Psychiatrie Adultes
Mme Mélanie ROUSSEL	HCN Médecine d'Urgences
Mme Pascale SAUGIER-VEBER	HCN Génétique
M. Abdellah TEBANI	HCN Biochimie et Biologie Moléculaire
Mme Anne-Claire TOBENAS-DUJARDIN	HCN Anatomie
Mr Julien WILS	HCN Pharmacologie

PROFESSEUR AGREGÉ OU CERTIFIÉ

Mme Noémie MARIE	UFR Communication
Mr Thierry WABLE	UFR Communication
Mme Mélanie AUVRAY-HAMEL	UFR Anglais
Mme Cécile POTTIER-LE GUELLEC	UFR Anglais

II – PHARMACIE

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

Mr Jérémy BELLIEN (PU-PH)	Pharmacologie
Mr Thierry BESSON	Chimie Thérapeutique
Mr Jean COSTENTIN (Professeur émérite)	Pharmacologie
Mme Isabelle DUBUS	Biochimie
Mr Abdelhakim EL OMRI	Pharmacognosie
Mr François ESTOUR	Chimie Organique
Mr Loïc FAVENNEC (PU-PH)	Parasitologie
Mr Jean Pierre GOULLE (Professeur émérite)	Toxicologie
Mme Christelle MONTEIL	Toxicologie
Mme Martine PESTEL-CARON (PU-PH)	Microbiologie
Mme Malika SKIBA	Pharmacie galénique
Mr Rémi VARIN (PU-PH)	Pharmacie clinique
Mr Jean-Marie VAUGEOIS	Pharmacologie
Mr Philippe VERITE	Chimie analytique

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

Mme Margueritta AL ZALLOUHA	Toxicologie
Mme Cécile BARBOT	Chimie Générale et Minérale
Mr Paul BILLOIR (MCU-PH)	Hématologie Biologique
Mr Frédéric BOUNOURE	Pharmacie Galénique
Mr Thomas CASTANHEIRO MATIAS	Chimie Organique
Mr Abdeslam CHAGRAOUI	Physiologie
Mme Camille CHARBONNIER (MCU-PH)	Statistiques
Mme Elizabeth CHOSSON	Botanique
Mme Marie Catherine CONCE-CHEMTOB	Législation pharmaceutique et économie de la santé
Mr Romain COPPEE	Bio-Informatique
Mme Cécile CORBIERE	Biochimie
Mme Sandrine DAHYOT (MCU-PH)	Bactériologie
Mme Isabelle DUBUC	Pharmacologie
Mr Thomas DUFLOT (MCU-PH)	Pharmacologie
Mr Gilles GARGALA (MCU-PH)	Parasitologie
Mr Henri GONDÉ (MCU-PH)	Pharmacie
Mme Nejla EL GHARBI-HAMZA	Chimie analytique
Mr Chervin HASSEL	Virologie
Mme Maryline LECOINTRE	Physiologie
Mme Hong LU	Biologie
Mme Marine MALLETER	Biologie Cellulaire
M. Jérémie MARTINET (MCU-PH)	Immunologie
Mr Valentin PLATEL	Pharmacologie
M. Romy RAZAKANDRAINIBÉ	Parasitologie
Mme Tiphaine ROGEZ-FLORENT	Chimie analytique
Mr Mohamed SKIBA	Pharmacie galénique

PROFESSEURS ASSOCIES

Mme Caroline BERTOUX	Pharmacie officinale
M. Charles CALTOT	DEUST Pharmacie

Mme Cécile GUERARD-DETUNCQ	Pharmacie officinale
Mme Christine HAIMET-LEROY	DEUST Pharmacie
Mme Lucile LOUIN	DEUST Officine
Mme Stéphanie LAMOUREUX	DEUST Pharmacie
M. Damien SALAUZE	Pharmacie industrielle

PAU-PH

M. Pierre BOHN	Radiopharmacie
M. Mikaël DAOUPHARS	Pharmacie

PROFESSEUR CERTIFIE

Mme Mathilde GUERIN	Anglais
----------------------------	---------

ASSISTANTS HOSPITALO-UNIVERSITAIRES

M. Eric BARAT	Pharmacie
Mme Marine CAVELIER	Pharmacie
M. Guillaume FEUGRAY	Biochimie Générale
M. Romain LEGUILLON	Pharmacie

LISTE DES RESPONSABLES DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES

Mme Cécile BARBOT	Chimie Générale et minérale
Mr Thierry BESSON	Chimie thérapeutique
Mr Abdeslam CHAGRAOUI	Physiologie
Mme Elisabeth CHOSSON	Botanique
Mme Marie-Catherine CONCE-CHEMTOB	Législation et économie de la santé
Mme Isabelle DUBUS	Biochimie
Mr Abdelhakim EL OMRI	Pharmacognosie
Mr François ESTOUR	Chimie organique
Mr Loïc FAVENNEC	Parasitologie
Mme Christelle MONTEIL	Toxicologie

Mme Martine PESTEL-CARON	Microbiologie
Mr Mohamed SKIBA	Pharmacie galénique
Mr Rémi VARIN	Pharmacie clinique
M. Jean-Marie VAUGEOIS	Pharmacologie
Mr Philippe VERITE	Chimie analytique

III – ODONTOLOGIE

PROFESSEURS DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS

Mme Rénata **KOZYRAKI**

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS

Mme Anne-Charlotte **BAS**

MAST

Mme Isabelle **FONTANILLES**

Mr Romain **JACQ**

Mr Benjamin **SOMMAIRE**

IV – MEDECINE GENERALE

PROFESSEUR MEDECINE GENERALE

Mr Matthieu **SCHUERS** (PU-MG) UFR Médecine générale

PROFESSEURS ASSOCIES A MI-TEMPS – MEDECINS GENERALISTE

Mr Pascal **BOULET** UFR Médecine générale

Mr Emmanuel **HAZARD** UFR Médecine Générale

Mr Emmanuel LEFEBVRE	UFR Médecine Générale
Mme Lucille PELLERIN	UFR Médecine Générale
Mme Yveline SEVRIN	UFR Médecine générale

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE A MI-TEMPS – MEDECINS GENERALISTES

Mme Blandine BILLET	UFR Médecine Générale
Mr Julien BOUDIER	UFR Médecine Générale
Mme Laëtitia BOURDON	UFR Médecine Générale
Mme Elsa FAGOT-GRIFFIN	UFR Médecine Générale
Mme Ségolène GUILLEMETTE	UFR Médecine Générale
Mr Frédéric RENOU	UFR Médecine Générale
Mme Charlotte SIEFRIDT	UFR Médecine Générale

ENSEIGNANTS MONO-APPARTENANTS

PROFESSEURS

Mr Sahil ADRIOUCH (med)	Biochimie et biologie moléculaire (Unité Inserm 905)
Mr Paul MULDER (phar)	Sciences du Médicament
Mme Su RUAN (med)	Génie Informatique

MAITRES DE CONFERENCES

Mr Jonathan BRETON (med)	Nutrition
Mme Gaëlle BOUGEARD-DENOYELLE (med)	Biochimie et biologie moléculaire (UMR 1079)
Mme Carine CLEREN (med)	Neurosciences (Néovasc)
M. Sylvain FRAINEAU (med)	Physiologie (Inserm U 1096)
Mme Pascaline GAILDRAT (med)	Génétique moléculaire humaine (UMR 1079)
Mme Rachel LETELLIER (med)	Physiologie
Mr Loïc MARTIN	Sciences Rééducation et Réadaptation

Mr Antoine OUVRARD-PASCAUD (med)	Physiologie (Unité Inserm 1076)
Mr Frédéric PASQUET	Sciences du langage, orthophonie
Mme Anne-Sophie PEZZINO	Orthophonie
Mme Christine RONDANINO (med)	Physiologie de la reproduction
Mr Youssan Var TAN	Immunologie
Mme Isabelle TOURNIER (med)	Biochimie (UMR 1079)

PAU

Mme Léopoldine DEHEINZELIN	Orthophonie
Mme Séverine ROBERT	Orthophonie

DIRECTEUR ADMINISTRATIF : M. Jean-Sébastien VALET

HCN - Hôpital Charles Nicolle

HB - Hôpital de BOIS GUILLAUME

CB - Centre Henri Becquerel

CHS - Centre Hospitalier Spécialisé du Rouvray

CRMPR - Centre Régional de Médecine Physique et de Réadaptation *SJ – Saint Julien Rouen*

Par délibération en date du 3 mars 1967, la faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbations.

TABLE DES MATIERES

<u>I. Introduction</u>	16
1. Epidémiologie	16
2. Leucémogénèse	18
3. Première ligne thérapeutique	23
3.1. Facteurs pronostiques.....	23
3.1.1. Cytogénétique.....	23
3.1.2. Biologie moléculaire.....	25
3.1.3. Groupes de risque.....	26
3.1.4. Réponse thérapeutique et maladie résiduelle.....	27
3.2. Traitement de 1 ^{ère} ligne.....	29
4. Rechute	31
4.1. Résultats récents et facteurs pronostiques.....	31
4.2. Traitement de 2 ^{ème} ligne.....	33
4.3. Nouvelles approches thérapeutiques.....	34
5. Drug testing	40
5.1. Contexte.....	40
5.2. Principe général et limites.....	41
5.3. Publications dans les LAM.....	42
<u>II. Objectifs et Méthodes</u>	44
1. Objectifs	44
2. Méthodes	45
2.1. Sélection des patients.....	46
2.2. Technique du drug testing ex vivo.....	47
2.3. Recueil des données.....	49
2.4. Critères de jugement principal et secondaires.....	49
2.5. Analyses des données en sous-groupes.....	50
2.5.1. Faisabilité du drug testing ex vivo au diagnostic et à la rechute.....	50
2.5.2. Répétition du drug testing ex vivo au cours du suivi.....	51
2.5.3. Communication des résultats et discussion RCP du drug testing ex vivo.....	51

<u>III. Résultats</u>	52
1. Faisabilité du drug testing ex vivo.....	52
1.1. Pour toutes les LAM pédiatriques.....	52
1.2. Pour les LAM pédiatriques nouvellement diagnostiquées.....	54
1.3. Pour les LAM pédiatriques réfractaires ou en rechute.....	55
2. Comparaison de la faisabilité du drug testing ex vivo au diagnostic et en cas de rechute ou de maladie réfractaire.....	59
3. Répétition du drug testing ex vivo au cours du suivi des LAM pédiatriques.....	61
4. Communication et discussion des résultats du drug testing ex vivo.....	63
<u>IV. Discussion</u>	66
1. Discussion globale.....	66
2. Limites de l'étude.....	67
3. Perspectives.....	67
4. Conclusion.....	68
<u>V. Références bibliographiques</u>	69

INTRODUCTION

1. Epidémiologie

Les cancers pédiatriques sont rares. Ils concernent environ 1 enfant sur 440 avant l'âge de 15 ans. En 2023, 1843 nouveaux cas de cancer chez les moins de 15 ans ont été recensés par le Registre National des Cancers de l'Enfant (RNCE), dont 28% de leucémies aigües. Avec environ 500 diagnostics par an, la leucémie aigüe est ainsi le cancer pédiatrique le plus fréquent dans notre pays, devant les tumeurs du système nerveux central et les lymphomes.

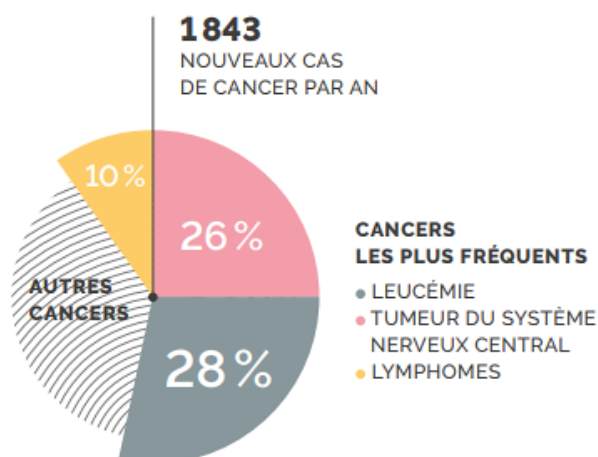


Figure 1 : Répartition des différents cancers pédiatriques en France chez les enfants de 0 à 15 ans. (1)

Il existe deux grands types de leucémies aigües : les leucémies aigües lymphoblastiques et les leucémies aigües myéloblastiques. Contrairement à ce qui est observé en population adulte, seulement 15 à 20% des leucémies aigües pédiatriques sont de type myéloïde (LAM). L'incidence annuelle des LAM chez les enfants de moins de 15 ans est de 65 à 85 nouveaux cas. L'âge médian au diagnostic est de 6 ans avec un pic d'incidence chez le nourrisson. Les LAM sont aussi fréquentes chez les filles que chez les garçons.

	< 1 an	1-4 ans	5-9 ans	10-14 ans
Nouveaux cas par an	N = 10 TI = 14.6	N = 22 TI = 7.5	N = 20 TI = 5	N = 22 TI = 5.5

Tableau 1 : Nouveaux cas annuels de LAM pédiatriques par tranche d'âge en France métropolitaine entre 2014 et 2020. (Données issues du Registre National des Cancers de l'Enfant).

N (nombre de cas annuel moyen), TI (taux d'incidence annuel spécifique en cas par million d'enfants).

La très grande majorité des LAM pédiatriques survient de novo. Seulement 5 % à 10% sont secondaires à des hémopathies familiales ou à des anomalies génétiques constitutionnelles prédisposant aux LAM telles que la trisomie 21, l'anémie de Fanconi, les téloméropathies, le syndrome de Schwachman-Diamond, le syndrome de Bloom, le syndrome de Li-Fraumeni, la neurofibromatose de type 1 ou encore les mutations du gène GATA2, etc. (2)

La survie globale (OS) à 5 ans s'est progressivement améliorée depuis 50 ans. L'OS est ainsi passée de 60% dans l'essai français LAME89/91 à 73% dans l'essai ELAM02.(3) Ces progrès sont attribuables à l'optimisation des protocoles thérapeutiques, à l'intégration de nouvelles techniques de biologie moléculaire permettant une meilleure stratification des patients, à l'introduction de nouvelles molécules anticancéreuses, à une meilleure gestion de l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques et à l'optimisation des soins de support. (4) Cependant, peu de progrès ont eu lieu depuis les années 2010 en raison d'innovations peu nombreuses ou peu accessibles en pédiatrie. De plus, la survie sans événement (EFS) ne s'est pas améliorée entre les essais LAME89/91 et ELAM02.

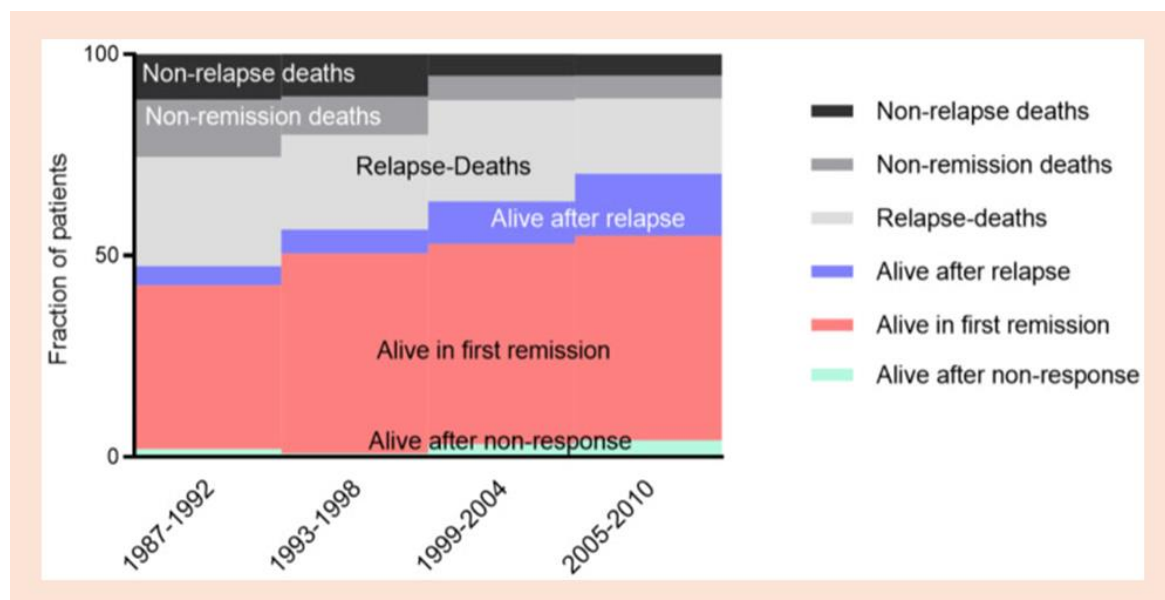


Figure 2 : Amélioration des résultats des LAM pédiatriques entre 1987 et 2010. (5)

Augmentation continue de la survie en première rémission (rouge), après une non-réponse initiale (vert) et après rechute (bleu). Parallèlement, la mortalité liée au traitement (noir) et les décès sans rémission (gris) ont diminué de manière significative.

Taux de survie à 5 ans	< 1 an	1-4 ans	5-9 ans	10-14 ans
	66.1 [58,9-72,4]	66.9 [61,9-71,3]	80.8 [75,6-85,1]	67.6 [62,4-72,3]

Tableau 2 : Estimation du taux de survie à 5 ans des LAM pédiatriques par tranche d'âge en France métropolitaine, entre 2000 et 2016. (Données issues du Registre National des Cancers de l'Enfant)

2. Leucémogénèse

Les leucémies aigues myéloïdes correspondent à un ensemble hétérogène d'hémopathies malignes clonales caractérisées par un blocage de différenciation, une prolifération incontrôlée et l'acquisition d'une capacité d'auto renouvellement des progéniteurs myéloïdes. Ces anomalies aboutissent à l'accumulation de blastes immatures dans la moelle osseuse et dans le sang périphérique. L'aspect morphologique des blastes diffère en fonction de leur stade de différenciation, et est à l'origine de la classification FAB établie en 1976.

	Nom	Aspect cytologique
LAM 0	Indifférenciée	Blastes indifférenciés, MPO < 3%, pas de maturation granuleuse, phénotype myéloïde
LAM 1	Myéloblastique sans différenciation	Blastes d'aspect variable avec ou sans corps d'Auer, maturation granuleuse < 10%
LAM 2	Myéloblastique avec différenciation	Blastes granuleux et/ou avec corps d'Auer, maturation granuleuse > 10%
LAM 3	Promyélocytaire	Promyélocytes malins, présence de corps d'Auer en fagots
LAM 4	Myélomonocytaire	Blastes > 20%, maturation granuleuse > 20%, lignée monocytaire > 20% ou monocytose sanguine > 5 G/L
LAM 4 Eo	Myélomonocytaire avec éosinophilie	Blastes > 20%, maturation granuleuse > 20%, lignée monocytaire > 20% + éosinophiles anormaux
LAM 5a	Monocytaire sans différenciation	Blastes monocytaires > 80%
LAM 5b	Monocytaire avec différenciation	Blastes monocytaires > 80% incluant une maturation monocytaire > 20%
LAM 6	Erythroblastique	Blastes myéloïdes > 20% et lignée érythroblastique > 50%
LAM 7	Mégacaryoblastique	Blastes mégacaryocytaire > 20%

Tableau 3 : Classification FAB des LAM. (6)

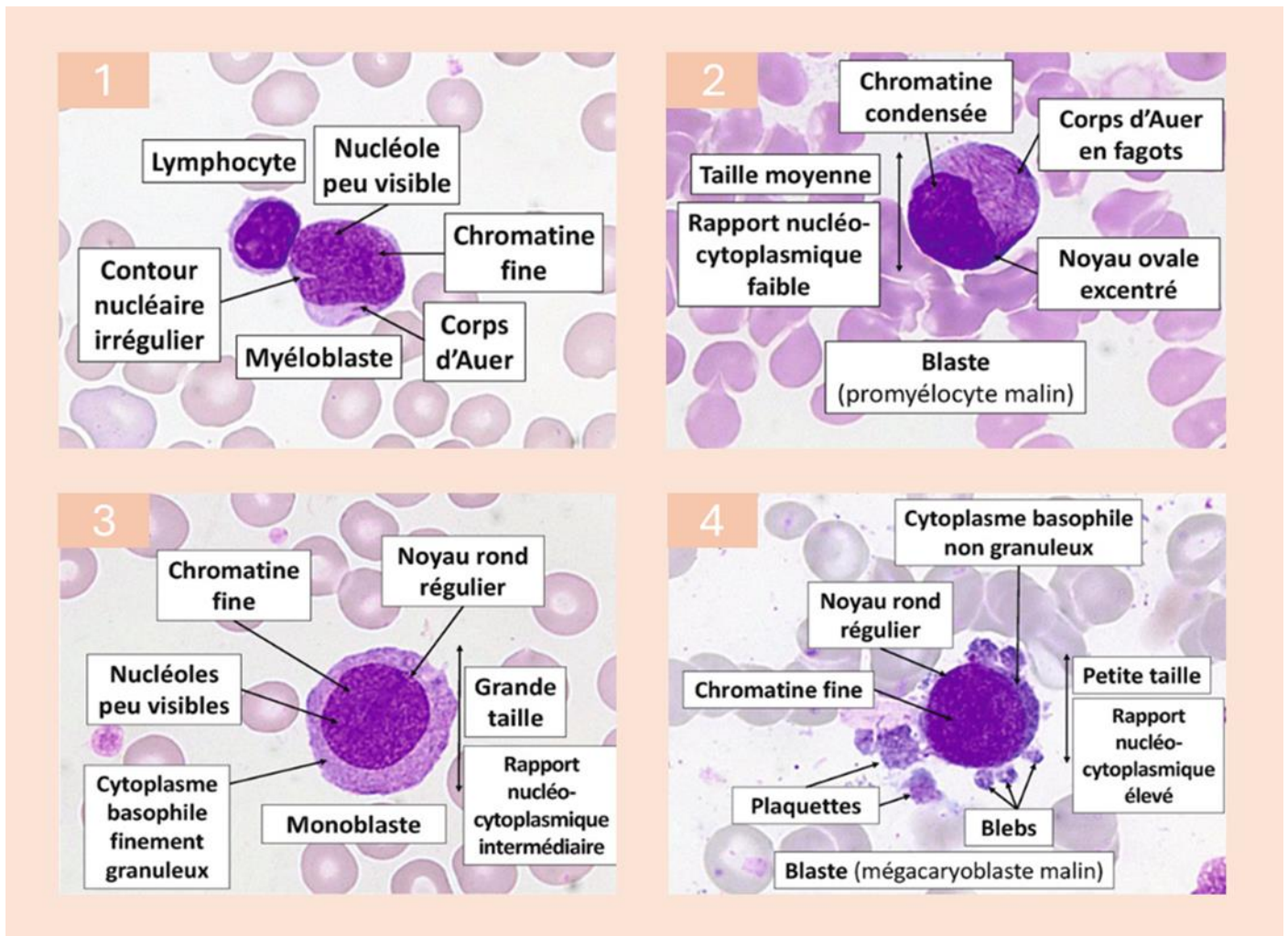


Figure 3 : Aspect cytologique d'une LAM 1 (1), LAM 3 (2), LAM 5 (3) et LAM 7 (4) selon la classification FAB. (7)

Au-delà du stade de différenciation des blastes, des classifications prenant en compte les anomalies cytogénétiques et moléculaires des LAM sont régulièrement actualisées par l'OMS. La dernière version date de 2022 et est présentée dans le **Tableau 4**.

<p>LAM AVEC ANOMALIES CYTOGENETIQUES RECURRENTES</p>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ LAM avec <i>RUNX1::RUNX1T1</i> ▪ LAM avec fusion <i>CBFB::MYH11</i> ▪ LA promyélocytaire avec fusion <i>PML::RARA</i> ▪ LAM avec réarrangement de <i>KMT2A</i> ▪ LAM avec fusion <i>DEK::NUP214</i> ▪ LAM avec réarrangement de <i>MECOM</i> ▪ LAM avec fusion <i>RBM15::MRTFA</i> ▪ LAM avec fusion <i>BCR::ABL1</i> ▪ LAM avec réarrangement de <i>NUP98</i> ▪ LAM avec mutation <i>NPM1</i> ▪ LAM avec mutation bi allélique <i>CEBPA</i> ▪ LAM avec anomalies de type myélodysplasie ▪ Mutations somatiques : <i>ASXL1, BCOR, EZH2, SF3B1, SRSF2, STAG2, U2AF1</i> et/ou <i>ZRSR2</i> ▪ Anomalies cytogénétiques : caryotype complexe (> 3 anomalies), del(5q) ou perte de 5q due à une translocation déséquilibrée, -7/del(7q) ou perte de 7q due à une translocation déséquilibrée, del(11q), del(12p) ou perte de 12p due à une translocation déséquilibrée, -13/del(13q), del(17p) ou perte de 17p due à une translocation déséquilibrée, i(17q), idic(X)(q13) ▪ LAM avec autre altération génétique définie
<p>LAM DEFINIES SELON LE NIVEAU DE DIFFERENCIATION</p>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ LAM avec différenciation minimale ▪ LAM sans maturation ▪ LAM avec maturation ▪ LA myélomonocytaire ▪ LA monoblastique / monocytaire ▪ LA érythroïde ▪ LA mégacaryoblastique ▪ LAM à composante basophile
<p>SARCOME GRANULOCYTAIRE</p>	

Tableau 4 : Classification OMS 2022 des LAM. (8)

La leucémogénèse correspond à l'ensemble des mécanismes responsables de la transformation d'une cellule hématopoïétique normale en cellule leucémique. Elle se déroule souvent de manière progressive, par le biais d'une accumulation d'altérations génétiques et épigénétiques dans des cellules souches hématopoïétiques préleucémiques avant l'émergence de cellules souches leucémiques et le développement de la LAM. (9) Le modèle « two-hit » de la leucémogénèse repose sur la coopération de 2 types d'altérations génétiques. Les aberrations génétiques de type I impliquent des gènes comme *FLT3, KIT, N-RAS, K-RAS* et *PTPN11*. Elles sont responsables d'une augmentation de la prolifération et/ou de la survie des cellules

leucémiques. Les aberrations de type II altèrent la différenciation des cellules ou leur permettent d'acquérir une capacité d'auto-renouvellement. Les aberrations génétiques de type II les plus fréquentes dans les LAM pédiatriques correspondent à la $t(8;21)(q22;q22)$, l' $inv(16)(p13.1q22)$, la $t(15;17)(q22;q21)$ et les réarrangements de *KMT2A* (11q23). Ces aberrations représentent à elles seules environ la moitié des cas de LAM pédiatriques. (9)

La coopération entre les altérations de type I et II ne semble pas complètement aléatoire. En effet, certaines associations sont plus fréquentes. On peut notamment citer l'association entre les mutations de la voie RAS et les réarrangements de *KMT2A*, l'association entre les mutations de *KIT* et le Core Binding Factor ($t(8;21)$ et l' $inv(16)$) et enfin l'association entre les mutations de *FLT3-ITD* et la $t(15;17)$ (9)

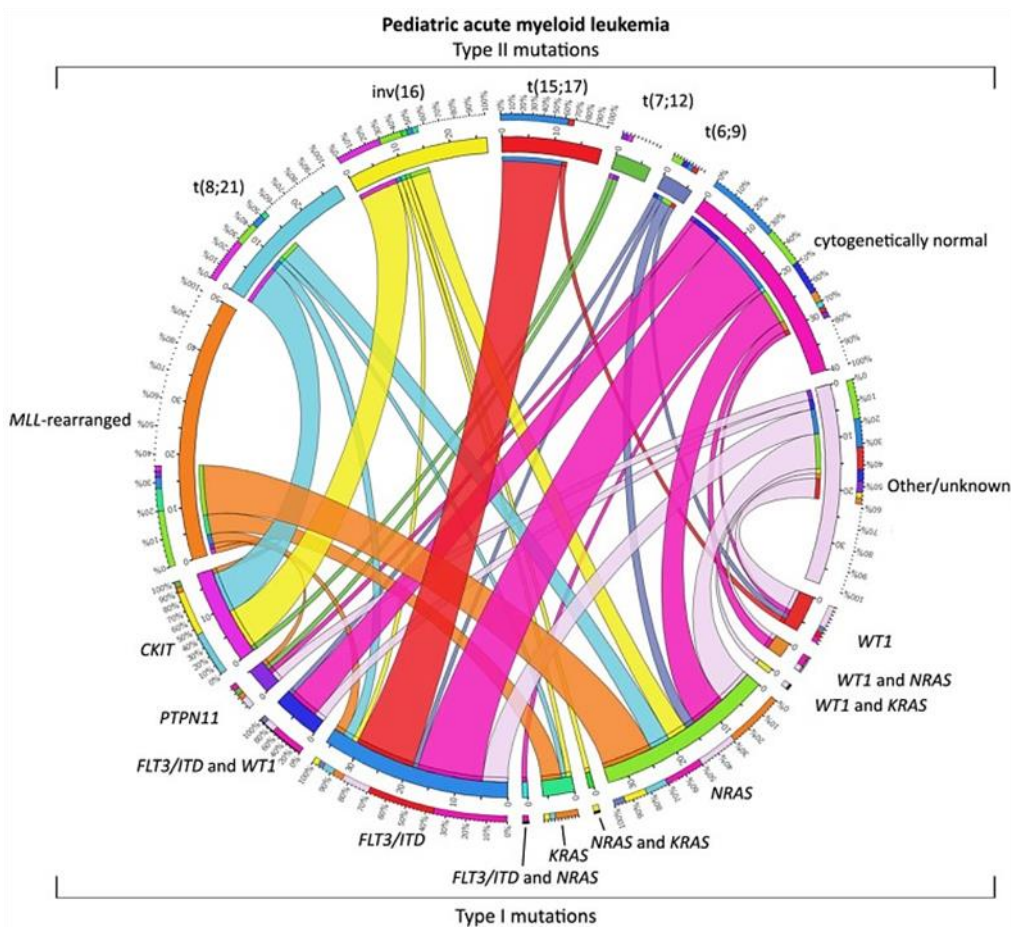


Figure 4 : Distribution des aberrations de type I et II et leur coopération dans les LAM pédiatriques de novo. (10) La longueur de l'arc correspond à la fréquence de la mutation de type II et la largeur du ruban au pourcentage de patients présentant une mutation de type I spécifique ou une combinaison de mutations de type I.

Seulement 20 à 25% des LAM pédiatriques ont un caryotype normal. Dans ce sous-groupe, les aberrations de type II correspondent principalement aux mutations de *NPM1* et *CEBPA*. On peut également rencontrer certaines translocations cryptiques, telles que la $t(5;11)(q35;p15.5)$ et son gène de fusion *NUP98::NSD1*.

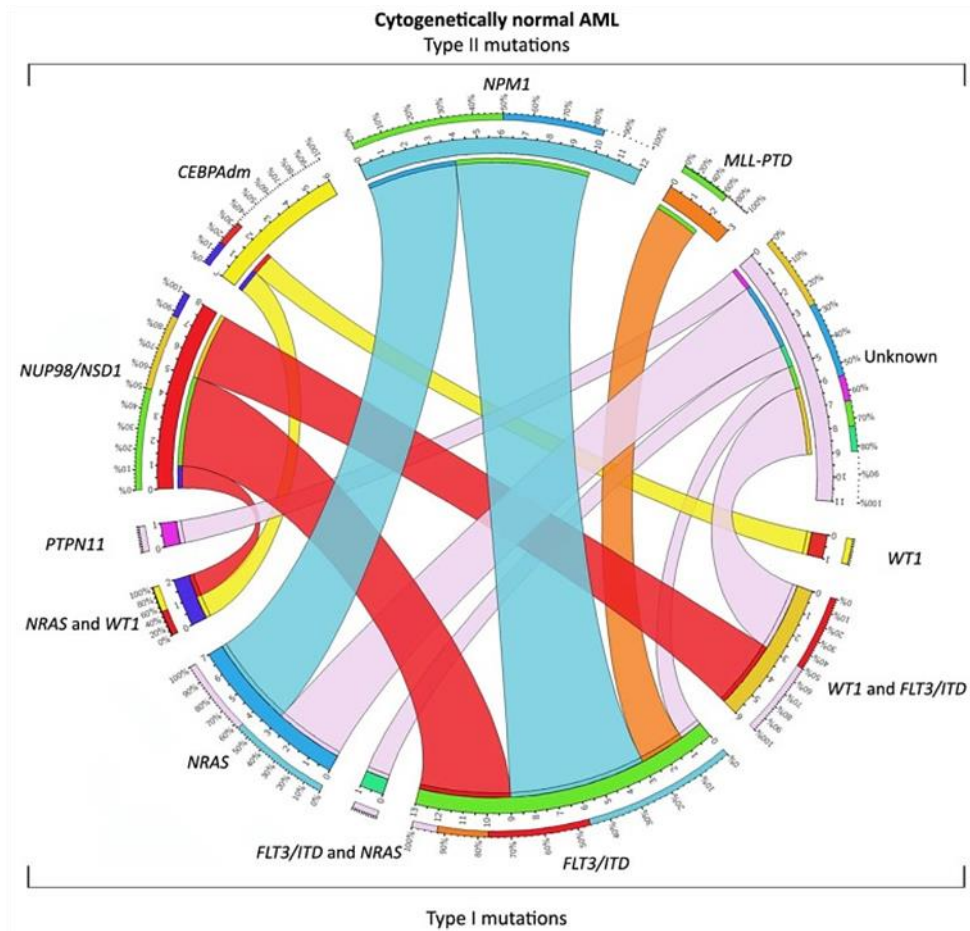


Figure 5 : Distribution des aberrations de type I et II et leur coopération dans les LAM pédiatriques sans anomalie cytogénétique. (10)

La longueur de l'arc correspond à la fréquence de la mutation de type II et la largeur du ruban au pourcentage de patients présentant une mutation de type I spécifique ou une combinaison de mutations de type I.

Certaines aberrations observées dans les LAM ne correspondent ni à des aberrations de type I ni à des aberrations de type II. Elles concernent des gènes modificateurs épigénétiques impliqués dans la méthylation de l'ADN et la modification des histones, tels que *EZH2*, *ASXL1*, *TET2*, *IDH1*, *IDH2* et *DNMT3A*. Ces gènes sont rarement mutés chez les patients pédiatriques, mais le sont fréquemment chez les patients adultes. (11) Ces mutations sont responsables d'un blocage de maturation et de la prolifération des cellules immatures.

Au total, les LAM se caractérisent par un clone leucémique majoritaire composé de plusieurs mutations, mais également par des sous-clones minoritaires présentant des mutations additionnelles. Ces sous-clones peuvent émerger à la rechute sous la pression thérapeutique. Le profil génétique d'un même patient peut alors se retrouver complètement modifié, ce qui correspond à l'évolution clonale.

3. Première ligne thérapeutique

Comme nous l'avons évoqué, de nombreuses altérations génétiques peuvent être responsables du développement d'une LAM. Ces anomalies génétiques doivent impérativement être identifiées dès le diagnostic car elles confèrent un pronostic plus ou moins favorable à la maladie. Leur détection permet d'identifier les patients les plus à risque de mauvaise réponse thérapeutique et/ou de rechute, qui nécessitent une intensification thérapeutique.

3.1. Facteurs pronostiques

3.1.1. Cytogénétique

L'analyse des anomalies cytogénétiques, indispensable pour définir le pronostic des LAM, se compose de plusieurs techniques complémentaires.

En premier lieu, le caryotype conventionnel, réalisé à partir d'un prélèvement sanguin ou préférentiellement médullaire, étudie les chromosomes en métaphase après culture cellulaire de 16h et 40h. Il permet la détection des anomalies de nombre, appelées aneuploïdies, et de structure telles que les délétions et les translocations. Cette technique a l'avantage d'être pangénomique et de mettre en évidence des anomalies à la fois équilibrées et déséquilibrées. En revanche, sa résolution est limitée, de l'ordre de 5 à 10 Mb. L'analyse cytogénétique est donc complétée par des techniques plus précises.

La FISH (Fluorescence In Situ Hybridization) (12) analyse des régions chromosomiques précises au moyen de sondes spécifiques. Sa résolution est de l'ordre de 150 à 200 Kb. Les sondes correspondent à des séquences d'ADN marquées par un fluorochrome. Les translocations et réarrangements de gènes sont ainsi mis en évidence. La FISH est réalisée si nécessaire en complément du caryotype en fonction de la fréquence de l'anomalie recherchée, de la corrélation avec l'aspect morphologique au caryotype et de l'existence de formes cryptiques non visibles au caryotype. Dans tous les cas, il est obligatoire de rechercher des réarrangements de *KMT2A*, *NUP98* et *ETV6* qui peuvent être cryptiques. En effet, la translocation cryptique t(5;11)(q35;p15.5) impliquant les gènes *NSD1* et *NUP98* est retrouvée dans 16 % des LAM pédiatriques à caryotype « normal ». De plus, le gène *NUP98* peut être remanié avec d'autres partenaires. La translocation cryptique, t(7;12)(q36;p13) impliquant les gènes *HLXB9* et *ETV6* doit particulièrement être recherchée chez les enfants de moins de 18 mois. Enfin la recherche de réarrangement de *GLIS2* avec notamment l'inversion cryptique du chromosome 16, impliquant également le gène *CBFA2T3* (ou *ETO2*), est à effectuer en présence d'une leucémie aigue mégacaryoblastique (LAM7 de la classification FAB), en raison de son mauvais pronostic. (12)

L'analyse chromosomique par Puce à ADN (ACPA) explore l'intégralité du génome avec une résolution nettement supérieure à celle du caryotype conventionnel (30 à 100 Kb). Elle permet la détection de remaniements déséquilibrés correspondant à des pertes ou gains de copies, aussi appelées CNV pour « copy number variation ». Deux types de puces existent actuellement. D'une part, la CGH-array (Comparative Genomic Hybridization) consiste à co-hybridiser la même quantité d'ADN d'un patient et d'un témoin sur une lame de verre sur laquelle sont déposées des séquences d'ADN (sondes), dont la position sur le génome sont connues. L'ADN du patient et du témoin sont marqués par un fluorochrome différent : vert pour le patient, rouge pour le témoin. Après hybridation, les signaux générés par les deux fluorochromes sont numérisés et leur intensité respective est comparée. En l'absence de CNV, le signal est jaune. En revanche, le signal est vert en cas de gain de copie et rouge en cas de perte. D'autre part, la SNP array (Single Nucleotide Polymorphisms) utilise une puce composée de millions d'oligonucléotides courts, suffisamment spécifiques pour discriminer des séquences différant d'un seul nucléotide. Elles ne nécessitent pas d'ADN de référence. L'ADN du patient est hybridé sur la puce et l'intensité du signal émis par le fluorochrome est analysée. Pour un locus donné, des oligonucléotides sont présents pour les 2 allèles du SNP, ce qui permet la détection des pertes d'hétérozygotie (LOH).

Enfin, la cartographie optique du génome (COG) est une technologie récente de reconstruction à haute résolution du génome à partir de molécules d'ADN marquées par une enzyme. Son principe est de cartographier les sites de liaison d'une enzyme sur l'ADN, ce qui permet de marquer spécifiquement chaque région du génome et de l'identifier de manière unique. Cette technique détecte aussi bien les anomalies de nombre que de structure, des plus simples aux plus complexes, y compris les réarrangements équilibrés. La COG pourrait à l'avenir remplacer en une seule analyse l'ensemble des techniques actuellement utilisées pour la caractérisation cytogénétique des LAM.

Certaines anomalies cytogénétiques sont associées à des sous-types de LAM. La translocation $t(8;21)(q22;q22)$ est ainsi principalement retrouvée dans les LAM 2 alors que l' $inv(16)(p13q22)$ ou $t(16;16)(p13;q22)$ est une aberration récurrente dans les LAM 4 avec éosinophilie. Ces 2 anomalies cytogénétiques constituent le groupe Core Binding Factor (CBF), de pronostic favorable. Les réarrangements impliquant le gène *KMT2A* situé en 11q23.3, sont associés dans 73% des cas à des LAM 4 ou 5 mais peuvent également être retrouvés dans les sous-types M0 (3%), M1 (6%) et M7 (3%). (13) Par ailleurs, la translocation $t(15;17)$ est pathognomonique des LAM 3.

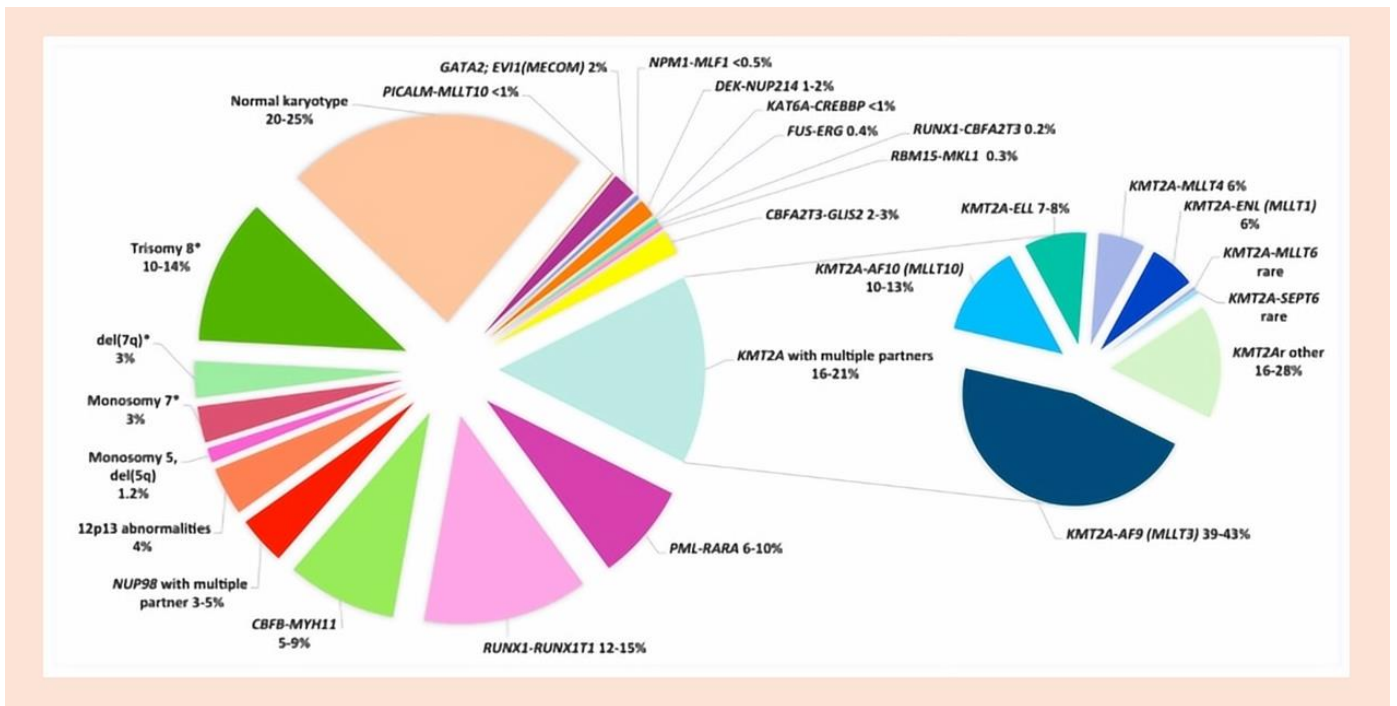


Figure 6 : Fréquence des anomalies cytogénétiques dans les LAM pédiatriques. (13)

3.1.2. Biologie moléculaire

Les techniques de biologie moléculaire sont devenues essentielles dans la prise en charge des leucémies aiguës à la fois au diagnostic et au cours du suivi. Etant donné leur sensibilité importante, elles permettent de préciser l'évaluation diagnostique et pronostique des patients.

Les transcrits de fusion peuvent être recherchés par plusieurs méthodes. Tout d'abord, le RNAseq correspond à un séquençage haut débit explorant l'ensemble des ARN issus de la transcription du génome. La première étape consiste à extraire l'ARN du prélèvement médullaire du patient. L'ARN est ensuite converti en ADN complémentaire par reverse transcription. L'ADNc ainsi obtenu, est alors fragmenté. Une réaction de PCR permet ensuite d'amplifier les fragments pour permettre un séquençage de l'ensemble du transcriptome.

Une autre méthode, développée au Centre Henri Becquerel à Rouen par Philippe Ruminy, permet de rechercher des transcrits de fusion déjà décrits. Il s'agit de la RT-MLPA (Reverse transcription-Multiplex ligation-dependent Probe Amplification), variante de la RT-PCR multiplexe standard. Cette méthode utilise des sondes de MLPA constituées de 2 oligonucléotides différents conçus pour s'hybrider sur des séquences cibles. Après une étape de ligation enzymatique, les 2 oligonucléotides sont joints et forment une sonde unique. Une réaction de PCR permet alors d'amplifier uniquement les oligonucléotides joints. Les produits de PCR font alors l'objet d'une migration par électrophorèse afin d'identifier la présence d'une amplification. Les échantillons positifs sont ensuite séquencés pour déterminer le réarrangement amplifié.

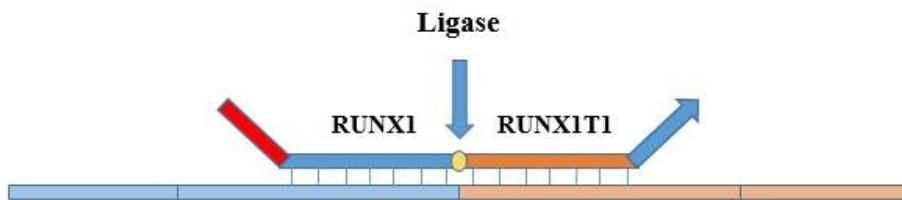


Figure 7 : schéma de RT-MLPA.

Ligation de 2 oligonucléotides hybridés au sein d'un transcrit de fusion *RUNX1::RUNX1T1*.

Le séquençage nouvelle génération (NGS), réalisé à partir d'ADN, est aujourd'hui effectué pour tous les diagnostics de leucémie aigüe. Il détecte les mutations présentes au sein d'un panel de gènes d'intérêt, impliqués dans la physiopathologie des LAM. Son importante sensibilité lui permet de déceler des clones minoritaires pouvant être responsables des rechutes. Cet outil a permis de mettre en évidence des différences majeures entre les profils mutationnels des patients adultes et pédiatriques. A titre d'exemple, les mutations de *DNMT3A*, *TET2*, *TP53*, *EZH2*, *ASXL1*, *IDH1* et *IDH2*, très fréquentes chez les adultes, sont rares chez les enfants. A l'inverse, les mutations *NRAS*, *KRAS*, *KIT*, *WT1*, *MYC*, *CBL*, *GATA2*, *SETD2*, *PTPN11* et *FLT3* sont plus fréquentes chez les enfants. De plus, son impact est également thérapeutique. Il permet d'identifier des anomalies pour lesquelles une thérapie ciblée est disponible (*FLT3*, *IDH1*, *IDH2*, etc.). En l'absence de marqueur de maladie résiduelle pouvant être suivi par PCR quantitative, le NGS pourra être réitéré au cours du suivi.

<i>ASXL1</i>	<i>CBL</i>	<i>EZH2</i>	<i>IDH1</i>	<i>MLL</i>	<i>NRAS</i>	<i>RUNX1</i>	<i>TET2</i>
<i>BCOR</i>	<i>CEBPA</i>	<i>FLT3</i>	<i>IDH2</i>	<i>MPL</i>	<i>PHF6</i>	<i>SETBP1</i>	<i>TP53</i>
<i>BCORL1</i>	<i>CSF3R</i>	<i>FGFR1</i>	<i>JAK2</i>	<i>MYD88</i>	<i>PPM1D</i>	<i>SF3B1</i>	<i>UBA1</i>
<i>BRAF</i>	<i>DDX41</i>	<i>GATA2</i>	<i>KIT</i>	<i>NF1</i>	<i>PRPF8</i>	<i>SRSF2</i>	<i>U2AF1</i>
<i>CALR</i>	<i>DNMT3A</i>	<i>GNB1</i>	<i>KRAS</i>	<i>NPM1</i>	<i>PTPN11</i>	<i>STAG2</i>	<i>WT1</i>

Tableau 5 : 40 gènes étudiés au sein du panel myéloïde.

3.1.3. Groupes pronostiques

Les analyses cytogénétiques et moléculaires aboutissent classiquement à la répartition des patients dans 3 groupes de risque distincts : favorable, intermédiaire et défavorable (cf **Tableau 5**).

On notera que l'importance pronostique des mutations *FLT3-TKD*, *RAS*, *KIT*, ainsi que d'autres anomalies fréquentes comme la trisomie 8 et l'hyperdiploïdie, est actuellement discutée. Il semblerait que leur influence sur le pronostic dépende des anomalies associées. (9)

FAVORABLE	<ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>PML::RARA</i> t(15;17)(q24.1;q21.2) ▪ <i>CBFB::MYH11</i> inv(16)(p13.1;q22) ou t(16;16)(p13.1;q22) ▪ <i>RUNX1::RUNX1T1</i> t(8;21)(q22;q22) ▪ Mutation de <i>NPM1</i> sans <i>FLT3-ITD</i> ▪ Double mutation de <i>CEBPA</i> sans <i>FLT3-ITD</i>
INTERMEDIAIRE	<ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>MLL::MLLT3</i> t(9;11)(p22;q23) ▪ <i>MLL::MLLT1</i> t(11;19)(q23;p13.1) ▪ Autres réarrangements <i>MLL</i> non classés dans le groupe défavorable ▪ Autres anomalies non classées dans les groupes de risque favorable et défavorable
DEFAVORABLE	<ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>MECOM (EVII)</i> t(3;3)(q21;q26.2) or inv(3)(q21;q26.2) ▪ Monosomie 5, del5q ▪ Monosomie 7 ▪ Anomalies du 12p ▪ <i>DEK::NUP214</i> t(6;9)(p22;q34) ▪ <i>BCR::ABL1</i> t(9,22)(q34 ;q11) ▪ <i>MLL::MLLT4</i> t(6;11)(q27;q23) ▪ <i>MLL::MLLT10</i> t(10;11)(p12;q23) ▪ <i>MLL::AFF1</i> t(4;11)(q21;q23) ▪ <i>NUP98::NSD1</i> t(5;11)(q35;p15.5) ▪ <i>MNX1::ETV6</i> t(7;12)(q36;p13) ▪ <i>CBFA2T3::GLIS2</i> inv(16)(p13.3;q24.3) ▪ <i>FLT3-ITD</i> sans <i>NPM1</i>, <i>CEBPA</i> ou <i>CBF</i> ▪ Caryotype complexe ▪ Toutes fusions de <i>NUP98</i>

Tableau 6 : Groupes de risque des LAM pédiatriques selon les anomalies cytogénétiques et moléculaires présentes au diagnostic. (4,9)

3.1.4. Réponse thérapeutique et maladie résiduelle

L'objectif du traitement est d'induire une rémission complète chez les patients après la 1^{ère} cure ou au plus tard après la 2^{ème} cure de chimiothérapie. Elle est évaluée par la réalisation d'un nouveau myélogramme. La rémission complète est établie en présence d'une moelle osseuse de richesse normale avec moins de 5% de blastes et d'une récupération hématologique complète (PNN > 0.1 G/L et plaquettes > 100 G/L sans transfusion). A l'inverse, on parle de maladie réfractaire s'il persiste plus de 20% de blastes médullaires.

Le suivi de la maladie résiduelle (MRD), réalisé aux différentes étapes de la prise en charge, est basé sur la détection sensible et spécifique des marqueurs moléculaires et immunophénotypiques caractérisant le clone leucémique. Ce suivi permet de détecter, dans un premier temps, les patients en mauvaise réponse thérapeutique nécessitant une intensification de traitement. Par la suite, il détecte précocement les rechutes et permet d'anticiper au mieux les traitements de rattrapage.

L'immunophénotypage par cytométrie en flux (CMF) consiste à rechercher à l'aide d'anticorps monoclonaux marqués par un fluorochrome, des antigènes de différenciation membranaires ou intra cytoplasmiques, appelés CD (Cluster Différenciation). Pour suivre la maladie résiduelle en CMF, il existe 2 stratégies complémentaires. La première consiste à définir, au moment du diagnostic, un immunophénotype associé à la leucémie (LAIP) en mettant à profit 4 types d'anomalies pour différencier les blastes normaux et leucémiques : l'expression concomitante d'antigènes de maturité et d'immaturité, la co-expression de marqueurs myéloïdes et de marqueurs non myéloïdes dits aberrants et enfin la surexpression ou le défaut d'expression de certains antigènes. (14) Lors du suivi, la CMF quantifie un pourcentage de blastes porteurs du LAIP identifié au diagnostic, rapporté au nombre de cellules mononuclées analysées. Le seuil discriminant dans les LAM a été établi à 10^{-3} . En d'autres termes, la MRD est considérée comme positive si au moins une cellule sur 1000 est porteuse du LAIP identifié. La seconde stratégie dite DfN (Different from normal cells) ne nécessite pas de connaître l'immunophénotype du diagnostic. Elle repose sur la mise en évidence de cellules présentant des caractéristiques les différenciant de l'hématopoïèse normale. Cette stratégie permet donc de détecter l'apparition de nouveaux marqueurs sur les blastes au cours de la maladie. L'utilisation grandissante de l'immunothérapie favorise en effet les shifts phénotypiques, ce qui peut rendre difficile le suivi par LAIP. (15)

La biologie moléculaire est un outil plus précis pour suivre la MRD, avec un seuil de détection à 10^{-6} . Les marqueurs de choix sont les transcrits de fusion identifiés au diagnostic et les mutations récurrentes impliquant au moins 2 nucléotides telles que les mutations de *NPM1*. En revanche, la surexpression de gènes tel que *WT1* et les mutations ponctuelles comme celles de *IDH1* et *IDH2* sont respectivement moins spécifiques et sensibles. La quantification des transcrits de fusion se fait par PCR à partir d'ARN. (14)

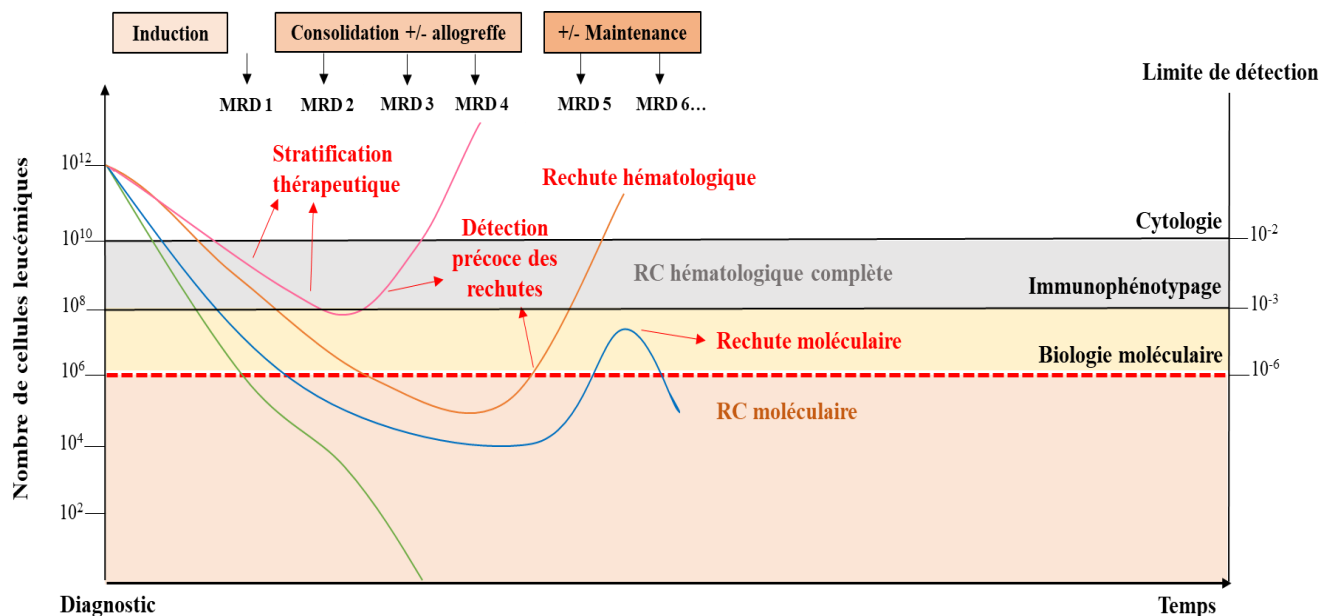


Figure 8 : schéma de suivi de MRD en biologie moléculaire dans le cadre d'une LAM. (15)

3.2. Traitement de 1^{ère} ligne

A l'exception des LAM promyélocytaire (LAM 3) qui sont traitées à part des autres sous-types de LAM, le traitement de référence actuel en France repose sur le protocole de l'essai randomisé européen de phase III MyeChild01, dont les inclusions se sont terminées en juin 2022. L'objectif de cette étude était de déterminer la dose recommandée du Gemtuzumab-ozogamicine, un anticorps monoclonal anti-CD33, en association à une chimiothérapie d'induction et de comparer des stratégies d'induction, de consolidation et de conditionnement pour une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques. La cure n°1 du protocole consiste en l'administration de Cytarabine pendant 10 jours, de Mitoxantrone pendant 4 jours et d'une ou 3 doses de Gemtuzumab-ozogamicine (GO). A l'issue de cette première cure, les patients sont répartis dans le groupe non HR (non-high risk) en cas de cytogénétique favorable ou intermédiaire et de rémission complète avec ou sans récupération hématologique complète. A l'inverse, les patients réfractaires ou ayant une cytogénétique défavorable sont assignés au groupe HR (high risk) et bénéficient d'une intensification de traitement avec indication d'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH). La 2^{ème} cure est constituée de Cytarabine et de Mitoxantrone pour le groupe non HR ; de Fludarabine, Cytarabine et Idarubicine pour le groupe HR. Les cures 3 et 4 consistent en l'administration de Cytarabine haute dose pour le groupe non HR, alors que les patients HR reçoivent si possible une 3^{ème} cure par Fludarabine et Cytarabine avant l'allogreffe de CSH.

Le traitement neuroméningé, constitué d'injections intrathécales de chimiothérapie, est indiqué en cas d'infiltration blastique du LCR ou à titre prophylactique.

L'allogreffe de CSH est indiquée en 1^{ère} intention pour les patients classés dans le groupe défavorable au diagnostic, ainsi que pour les patients en mauvaise réponse thérapeutique. Elle concerne donc environ 20/25%

des patients en 1^{ère} ligne. La survie globale des patients avec cytogénétique défavorable recevant une allogreffe de CSH hématopoïétique en première rémission (RC1) s'est améliorée de manière significative entre les essais français randomisés de phase III LAME89/91 et ELAM02. En effet, la survie globale à 5 ans de ces patients est passée de 50% dans l'essai LAME89/91 à 80,9% dans ELAM02 ($p=0,026$). Ces progrès peuvent s'expliquer par les nouveautés du protocole ELAM02 : traitement pré-greffe comprenant de la Cytarabine, conditionnement par Busulfan administré en IV, arrêt du Méthotrexate post-greffe et recours aux dons de sang de cordon et aux donneurs HLA-identiques non apparentés. (16)

L'allogreffe de CSH consiste à remplacer l'hématopoïèse défectueuse du malade par une hématopoïèse saine. Son intérêt réside également dans l'interaction du système immunitaire du greffon avec l'environnement du receveur. Les lymphocytes T matures du donneur vont ainsi reconnaître et éliminer les cellules leucémiques du receveur. C'est ce que l'on appelle l'effet greffon contre leucémie ou GVL. Plusieurs types de donneurs sont possibles. Les donneurs HLA-identiques, issus de la fratrie sont à privilégier. Les donneurs non apparentés HLA-identiques (10/10) sont choisis en 2^{ème} intention. Enfin des donneurs dits alternatifs sont également possibles en dernière intention : les donneurs 9/10, les donneurs haplo identiques intrafamiliaux (5 à 8/10) et les greffes à partir de sang de cordon. Le don de cellules souches hématopoïétiques à partir d'un membre mineur de la fratrie, est réalisé par prélèvement de moelle osseuse sous anesthésie générale. Le prélèvement de cellules souches périphériques après stimulation par facteur de croissance n'est réalisé qu'en cas de contre-indication formelle au prélèvement de moelle osseuse. L'allogreffe de CSH est précédée d'un conditionnement qui prépare l'organisme du malade à recevoir le greffon. Plusieurs types de conditionnements existent actuellement. Certains myéloablatifs, d'autres d'intensité réduite. Le conditionnement repose sur 2 principes fondamentaux : la myelosuppression qui permet de détruire la moelle dysfonctionnelle du receveur et l'immunosuppression qui est indispensable pour empêcher le système immunitaire du receveur de rejeter le greffon.

Contrairement aux leucémies aiguës lymphoblastiques, la stratégie thérapeutique actuelle des LAM ne comporte pas de traitement d'entretien. Plusieurs essais randomisés de phase III dont ELAM02 n'ont en effet pas prouvé de bénéfice en termes de survie globale et de survie sans rechute. Dans cet essai, les patients de risque standard étaient randomisés avec ou sans traitement d'entretien par IL-2 après la 4^{ème} cure de chimiothérapie. La survie sans rechute à 4 ans était de 62% dans le groupe sans IL-2 et de 66% dans le groupe avec IL2 ($p=0.74$). La survie globale à 4 ans était quant à elle de 88% dans le groupe sans IL-2 et de 85% dans le groupe avec IL-2 ($p=0.49$). (3)

4. Rechute

4.1. Résultats récents et facteurs pronostiques

Grâce aux protocoles thérapeutiques actuels, la rémission complète est obtenue chez plus de 80% des enfants. Malgré tout, les rechutes restent fréquentes et concernant 30 à 40% des patients.

Au cours des 20 dernières années, les groupes de travail COG (Children's Oncology group) et BFM (Berlin-Frankfurt-Münster) ont démontré une amélioration de la survie des patients pédiatriques en 1^{ère} rechute, malgré l'absence d'introduction de nouveaux agents anticancéreux. Cette amélioration a été attribuée à l'optimisation des soins de support et à l'utilisation accrue de l'allogreffe de CSH, notamment grâce aux donneurs haploidentiques. Parmi la cohorte du COG, la survie globale à 5 ans des enfants en 1^{ère} rechute est ainsi passée de 29 % entre 2007 et 2009 à 40 % entre 2013 et 2017. Les études BFM ont également fait état d'une amélioration de la survie globale à 5 ans, qui est passée de 39 % entre 2009 et 2013 à 49 % entre 2013 et 2017. (17)

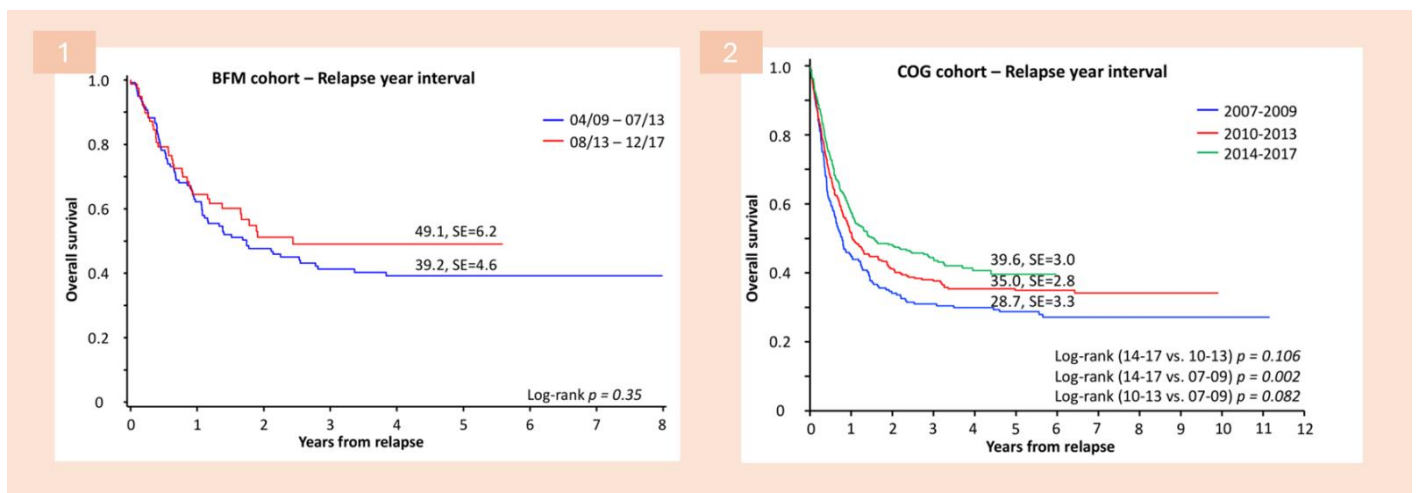


Figure 9 : Survie globale à 5 ans lors de la 1^{ère} rechute. (17) **(1)** Survie globale à 5 ans de la 1^{ère} rechute entre 2009-2013 vs 2013-2017 dans la cohorte BFM. **(2)** Survie globale à 5 ans de la 1^{ère} rechute entre 2007-2009 vs 2010-2013 vs 2014-2017 dans la cohorte COG.

La stratification du risque au moment du diagnostic initial de la LAM est un facteur influençant le pronostic de la rechute. En effet, dans l'essai de phase III COG AAML1031, les patients en rechute avec caractéristiques cytogénétiques et moléculaires défavorables au diagnostic avaient une survie globale à 5 ans de 15 % contre 44 % pour les patients initialement à faible risque. (17)

La réponse au traitement lors du diagnostic initial de la LAM est également un facteur prédictif de survie des patients en rechute. Dans la cohorte BFM, les patients classés comme non-répondeurs à l'induction avaient

une survie globale à 5 ans de 0% contre 45% pour ceux qui avaient répondu au traitement initial (P=0,031). Dans la cohorte COG, les patients avec MRD détectable en fin d'induction avaient une survie globale à 5 ans de 24 % contre 41 % (P<0,001) pour les patients avec MRD indétectable. (17)

Les rechutes précoces, survenant moins de 12 mois après la rémission complète initiale, sont depuis plusieurs décennies associées à un mauvais pronostic. En effet, dans l'essai français LAME89/91, la survie globale à 5 ans était de 24% en cas de rechute précoce contre 54% en cas de rechute tardive (p=0,001). (18) Plus récemment, dans les études BFM, la survie globale à 5 ans était de 29 % pour les patients en rechute précoce contre 55 % pour les patients en rechute tardive. Les études COG ont également rapporté une survie globale à 5 ans de 25 % chez les patients en rechute précoce et 51 % chez les patients en rechute tardive (P<0,001). (17)

Contrairement aux résultats obtenus en 1^{ère} rechute, la survie des patients pédiatriques après une deuxième rechute ne s'est pas améliorée ces dernières années. La survie globale à 5 ans est stable, autour de 15%. (19)

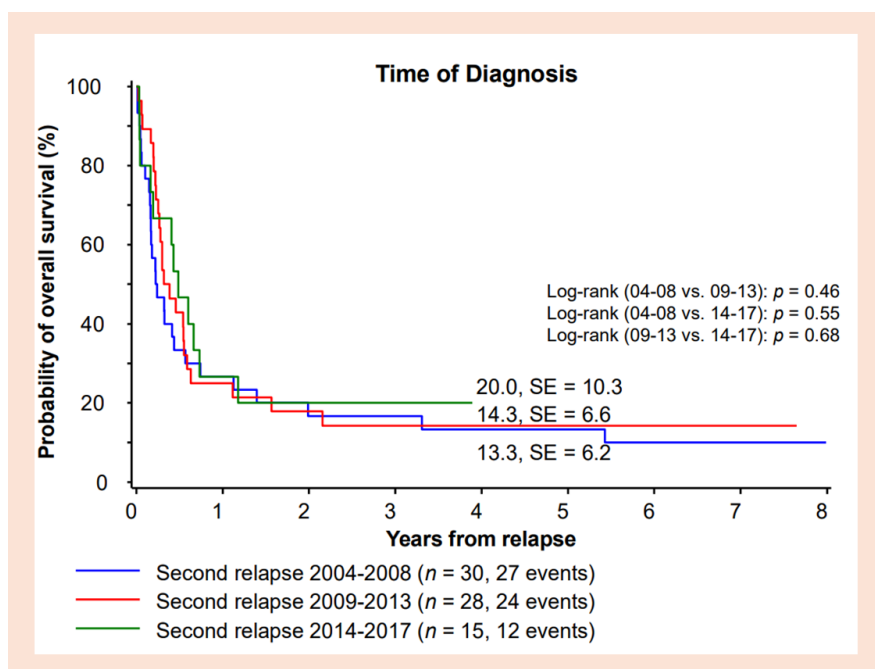


Figure 10 : Survie globale à 5 ans lors de la 2^{ème} rechute dans la cohorte BFM. (19)

Survie globale à 5 ans de la 2^{ème} rechute entre 2004-2008 vs 2009-2013 vs 2014-2017.

Dans la cohorte BFM, les régimes de réinduction intensive n'ont pas amélioré les résultats, ce qui souligne la nécessité d'étudier l'efficacité de nouveaux agents anticancéreux en 2^{ème} rechute. En revanche, le recours à une allogreffe de CSH, en cas d'obtention d'une rémission complète, améliore la survie (31 % de survie globale à 5 ans). (19)

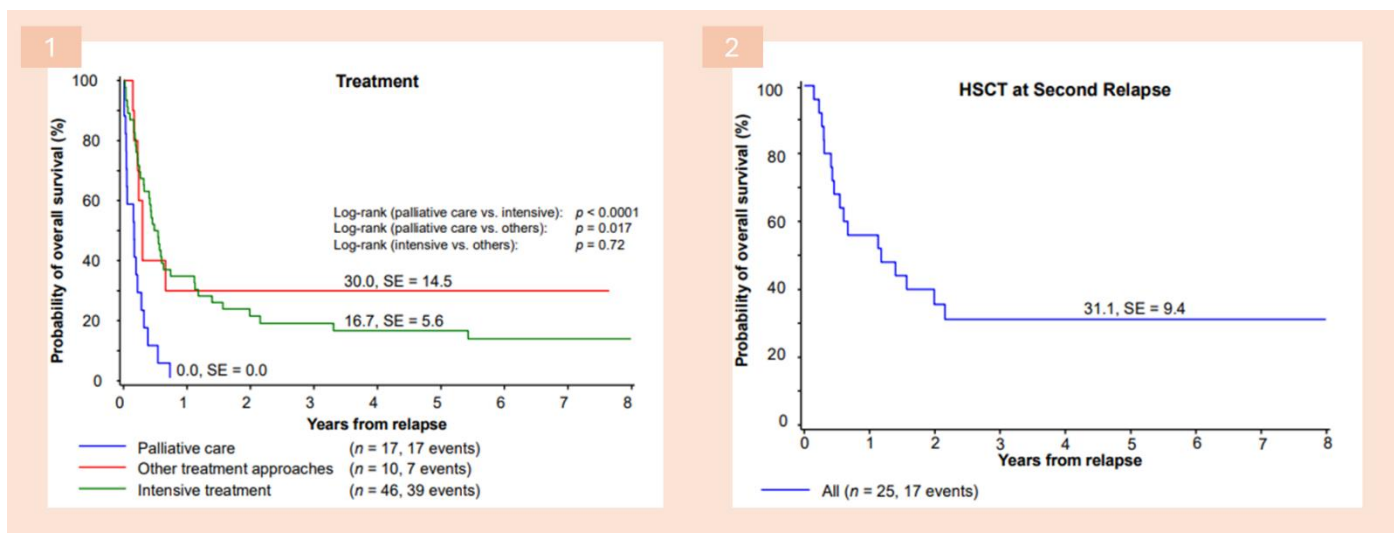


Figure 11 : Survie globale à 5 ans après 2^{ème} rechute dans la cohorte BFM. (19)

- (1) Survie globale à 5 ans de la 2^{ème} rechute en fonction du traitement : palliatif vs intensif ; palliatif vs autre approche thérapeutique ; intensif vs autre approche thérapeutique.
- (2) Survie globale à 5 ans de la 2^{ème} rechute en cas d'allogreffe de CSH.

Le délai avant la rechute reste également un facteur pronostique lors de la deuxième rechute avec une survie globale à 5 ans de 2 % pour les rechutes précoces et de 33 % pour les rechutes tardives. Les altérations génétiques de haut risque, en particulier la mutation *FLT3-ITD*, sont également associées à de plus mauvais résultats. (19)

4.2. Traitement de 2^{ème} ligne

Différents protocoles de ré induction ont fait l'objet de publications ces dernières années. Le régime FLA (Fludarabine, Aracytine) est le plus fréquemment utilisé en première rechute, associé ou non à une anthracycline. L'ajout d'Idarubicine est en effet conditionné par la fonction cardiaque du patient et par sa dose cumulée d'anthracycline qui ne doit pas excéder 450 mg/m² d'équivalent de Doxorubicine. D'autre part, le groupe BFM a comparé l'efficacité du régime FLAG (G-CSF) avec ou sans préparation liposomale de Daunorubicine. Dans cet essai, la survie globale à 5 ans des patients CBF était significativement meilleure dans le groupe FLAG-Daunoxome avec une survie de 82% contre 58% dans le groupe FLAG (p=0,04). (20)

Plus récemment, des études suggèrent une amélioration du taux de rémission complète avec l'ajout de Gemtuzumab-ozogamicine (21), raison pour laquelle son utilisation est actuellement recommandée en association avec le régime standard FLA (22). Cependant, il n'est pas impossible que le risque de maladie veino-occlusive (MVO) soit majoré chez les patients ayant déjà reçu du GO en 1^{ère} ligne thérapeutique. Son utilisation est donc à discuter à la rechute, notamment pour les patients initialement traités selon le protocole MyeChild01. Par ailleurs, l'utilisation d'un inhibiteur de *FLT3* est également indiquée en cas de mutation *FLT3*.

Ce traitement de 2^{ème} ligne est généralement composé de 2 cures. L'objectif du traitement est d'induire une rémission complète chez le patient afin de proposer une allogreffe de CSH dans les plus brefs délais.

4.3. Nouvelles approches thérapeutiques

4.3.1. CPX-351

Le CPX-351 (Vyxeos®) est une formulation liposomale innovante composée de Cytarabine et de Daunorubicine à un ratio molaire fixe de 5:1. Son utilisation a été approuvée dans un premier temps par la FDA pour le traitement des patients adultes nouvellement diagnostiqués avec une LAM secondaire à un traitement (LAM-t) ou avec anomalies associées aux myélodysplasies. Cette approbation, basée sur une étude de phase III (23) démontrant son efficacité en comparaison au traitement d'induction standard, a ensuite été étendu aux enfants de plus de 1 an après la réalisation de 2 études pédiatriques (AAML1421 (24) et CPX-MA-1201 ; NCT01943682) démontrant sa sécurité. Son schéma d'administration diffère du schéma d'induction classique. Il consiste en une perfusion intraveineuse de 90 min à J1, J3 et J5 de l'induction. Cette nouvelle formulation optimise la délivrance et l'activité des deux chimiothérapies. Le ratio synergique 5:1 permet en effet une action prolongée au-delà de 24h, une accumulation dans la moelle osseuse et une toxicité plus spécifique pour les cellules leucémiques. (25,26)

4.3.2. Inhibiteurs de FLT3

Les mutations de *FLT3* sont particulièrement fréquentes dans les LAM pédiatriques, et leur prévalence augmente avec l'âge. Le gène *FLT3* code pour un récepteur tyrosine kinase transmembranaire de type III qui joue un rôle dans la prolifération et la différenciation des cellules hématopoïétiques. Les récepteurs tyrosine kinase, une fois activés par un ligand spécifique, régulent l'hématopoïèse par la phosphorylation de cibles en aval telles que STAT5 et par l'activation de voies oncogéniques critiques, telles que Ras/Raf/MAPK et PI3K/Akt/mTOR. Les mutations de *FLT3* entraînent une activation constante de la tyrosine kinase, provoquant une prolifération cellulaire incontrôlée. Les deux principaux types de mutations de *FLT3* correspondent aux mutations de duplication en tandem interne dans le domaine juxtamembranaire (*FLT3-ITD*) et aux mutations

ponctuelles dans le domaine de la tyrosine kinase (*FLT3-TKD*). Comme nous l'avons vu plus tôt, les mutations de *FLT3-ITD* sont associées à un mauvais pronostic. A l'inverse, les mutations de *FLT3-TKD* n'ont pas d'impact pronostique. Deux générations d'inhibiteurs de FLT3 ont été développées. La 2nde génération est plus spécifique et présente moins d'effets « off target » que la première. (27) Certains inhibiteurs de *FLT3* ciblent spécifiquement la mutation *FLT3-ITD*, d'autres agissent également sur la mutation *FLT3-TKD*. À ce jour, trois inhibiteurs de FLT3 ont été approuvés pour le traitement de la LAM chez l'adulte : la Midostaurine et le Quizartinib en association à une chimiothérapie pour les patients nouvellement diagnostiqués et le Gilteritinib en monothérapie pour les patients réfractaires ou en rechute.

Molécule	MIDOSTAURINE	SORAFENIB	GILTERITINIB	QUIZARTINIB
Génération	1 ^{ère}	1 ^{ère}	2 ^{ème}	2 ^{ème}
Cible	FLT3-ITD + FLT3-TKD	FLT3-ITD	FLT3-ITD + FLT3-TKD	FLT3-ITD
Utilisation approuvée par la FDA	Associé à une chimiothérapie chez les patients nouvellement diagnostiqués	Non	En monothérapie chez les patients en rechute ou réfractaires	Associé à une chimiothérapie chez les patients nouvellement diagnostiqués
Principales toxicités	Cytopénies sévères, nausées/vomissements	Fatigue, HTA, diarrhée, rash cutané, syndrome pieds-mains	Diarrhée, pancréatite, neuropathies périphériques, céphalées	Cytopénies sévères, allongement du QT, nausées

Tableau 7 : Récapitulatif des principaux inhibiteurs de FLT3 actuellement disponibles. (28)

Aucun médicament n'est pour le moment autorisé pour les LAM pédiatriques, mais des études sont en cours. La Midostaurine fait ainsi l'objet d'une étude de phase II (NCT03591510) en association avec une chimiothérapie standard chez des patients pédiatriques nouvellement diagnostiqués. L'étude de phase III AAML1831 (NCT04293562) menée par le COG, étudie également l'efficacité d'un traitement de 1^{ère} ligne par Gilteritinib associé à une chimiothérapie en comparaison au régime standard de chimiothérapie (NCT04293562). Enfin, le Quizartinib est actuellement testé dans un essai de phase I/II (NCT03793478) chez des patients pédiatriques en rechute. (29)

Le Sorafenib, autre inhibiteur de FLT3 de première génération approuvé par la FDA dans le traitement de cancers solides (carcinome hépatocellulaire, carcinome rénal et cancer de la thyroïde) a été évalué dans l'essai AAML1031 du COG, en association avec une chimiothérapie standard. Comparé à un groupe témoin non randomisé n'ayant pas reçu de Sorafenib, la cohorte traitée par Sorafenib a connu des améliorations significatives en termes d'EFS (55,9% vs 31,9% ; P = .001) avec un risque de rechute plus faible (17,6% vs

44.1% ; P = .012). En raison de l'absence de randomisation, une analyse multivariée tenant compte de la transplantation de CSH et des mutations concomitantes favorables a été effectuée et a confirmé le bénéfice du Sorafenib. Cette étude a également testé le Sorafenib en tant que traitement d'entretien. Malheureusement, seulement 38% des patients ont reçu au moins un cycle de traitement de maintenance (4 mois) et 25% ont reçu tout le traitement. Les autres patients n'avaient pas les critères ou sont sorti du protocole avant le début du traitement d'entretien. (30) D'autres études sont donc nécessaires pour évaluer l'efficacité d'une maintenance par Sorafenib.

4.3.3. Inhibiteurs de BCL2

La protéine BCL2 contrôle l'activation de la voie intrinsèque du processus apoptotique. Sa surexpression favorise la survie des cellules leucémiques et est associée à une résistance accrue à la chimiothérapie. Le Venetoclax, inhibiteur sélectif de BCL2, a démontré son efficacité dans des essais cliniques en population adulte, en association avec l'Azacitidine. (31) Cette association possède ainsi l'AMM pour le traitement des patients adultes atteints de LAM nouvellement diagnostiquées et inéligibles à une chimiothérapie intensive.

Des données solides concernant sa sécurité d'utilisation en association à une chimiothérapie intensive (Cytarabine +/- Idarubicine) chez des patients pédiatriques réfractaires ou en rechute, ont été fournies par un essai de phase I (32), qui a inclus 38 patients. Des réponses globales ont été observées chez 24 (69%) des 35 patients évaluable après le cycle 1. Parmi les 20 patients traités à la dose recommandée de 360 mg/m² pour la phase 2, 14 (70%, 95% CI 46-88) ont présenté une réponse complète avec ou sans récupération hématologique complète, et 2 (10%) ont présenté une réponse partielle.

Dans une étude rétrospective (33), les résultats de 27 patients pédiatriques avec LAM réfractaire ou en rechute traités par l'association Azacitidine/Venetoclax avec ou sans GO ont été rapportés. Sur les 25 patients atteints de LAM qui ont terminé le cycle 1, 12 (48%) ont obtenu une rémission complète avec MRD indétectable. Huit de ces patients sont restés en rémission complète avec MRD indétectable après d'autres cycles. Par ailleurs, les patients traité par GO en plus de l'association Azacitidine/Venetoclax (n=9) ont eu un taux de rémission complète similaire (4/9, 44%) à ceux traités sans GO.

4.3.4. Inhibiteurs de IDH1 et IDH2

Les protéines IDH1 et IDH2 ont pour rôle principal de protéger les cellules du stress oxydatif. Elles sont fréquemment mutées chez les patients adultes mais rarement chez les enfants. Leurs mutations ne concerneraient que 5 % des cas de LAM pédiatriques. Elles induisent la formation d'un oncométabolite appelé 2-HG qui perturbe le remodelage épigénétique, la réparation de l'ADN et le processus de différenciation(9). L'Ivosidenib possède l'AMM, en association avec l'Azacitidine, pour le traitement des patients adultes atteints

de LAM nouvellement diagnostiquées avec mutation de *IDH1*, non éligibles à une chimiothérapie intensive. Cette molécule n'a pas encore fait l'objet d'étude clinique pédiatrique.

4.3.5. Modificateurs épigénétiques

De nombreuses mutations modifiant l'épigénétique interviennent dans la leucémogénèse. Parmi les gènes impliqués, on peut notamment citer *IDH1*, *IDH2*, *TET2* et *DNMT3A*. Ces mutations particulièrement fréquentes dans les LAM de l'adulte, le sont beaucoup moins dans les LAM pédiatriques. Les 2 mécanismes d'inhibition épigénétique les plus fréquemment rencontrés dans les LAM correspondent à l'hyperméthylation de l'ADN et la désacétylation des histones.

Les agents hypométhylants, Azacitidine et Décitabine, bloquent la méthylation de l'ADN ce qui entraîne un arrêt de la prolifération des cellules leucémiques et la poursuite de la différenciation. L'Azacitidine possède l'AMM en association avec le Venetoclax pour le traitement des patients adultes atteints de LAM nouvellement diagnostiquées et inéligibles à une chimiothérapie intensive. Concernant l'utilisation pédiatrique, la sécurité de cette association a été démontrée par une analyse rétrospective monocentrique incluant des patients atteints de LAM ou de syndromes myélodysplasiques. (34)

Les inhibiteurs des histones-désacétylases (HDAC) ciblent une famille d'enzymes qui catalysent les modifications d'acétylation des histones. L'équilibre de l'acétylation des histones est assuré par les histone-acétyltransférases (HAT) et les histone-désacétylases (HDAC) qui jouent un rôle important dans la transcription des gènes. Bien que les gènes codant pour les HDAC ne soient pas mutés dans les LAM, des protéines de fusion oncogènes présentes de manière récurrente dans les LAM, telles que *PML::RARA*, *PLZF::RARA* et *RUNX1::RUNXIT1*, ont la capacité de recruter des HDAC sur des promoteurs de gènes spécifiques, ce qui entraîne un silençage génétique et favorise la leucémogénèse par l'arrêt de la différenciation(9,27). Les inhibiteurs des HDAC permettent ainsi la reprise d'une différenciation, un arrêt du cycle cellulaire et une apoptose des cellules tumorales. 2 inhibiteurs des HDAC ont été évalués dans les LAM pédiatriques. Une étude de phase I (35) a démontré la sécurité du Panobinostat dans la prise en charge des LAM pédiatriques en rechute. Le Vorinostat a quant à lui été testé en monothérapie dans le traitement des rechutes de tumeurs solides, lymphomes et leucémies pédiatriques dans une étude de phase I/II. (36) Malheureusement, aucune preuve de bénéfice clinique n'a pu être démontrée.

4.3.6. Inhibiteurs de ménine

KMT2A est un gène situé sur le bras long du chromosome 11. Il code pour un facteur de transcription impliqué dans le développement embryonnaire et l'hématopoïèse. Il régule des gènes clés tels que *HOXA* et *HOXB*, *MEIS1*, *PBX3*, *MEF2C* et *CDK6*. (37)

Les réarrangements de *KMT2A* concernent 15 à 20% des LAM pédiatriques mais sont encore plus fréquents chez les patients de moins de 2 ans, représentant 47 à 55% des cas. (13) Ces réarrangements se rencontrent également dans la leucémie aigüe lymphoblastique (LAL) et dans la leucémie aigüe à phénotype mixte (MPAL). *KMT2A* possède plus de 80 partenaires potentiels de fusion. La plupart des réarrangements sont associés à un mauvais pronostic avec des taux de rechute importants et une résistance médicamenteuse.

La ménine est un cofacteur intracellulaire qui régule l'expression des gènes en interagissant avec divers facteurs de transcription et régulateurs de la chromatine. Son site de liaison à *KMT2A* est conservé dans toutes les protéines de fusion et constitue un cofacteur essentiel pour la liaison aux promoteurs des gènes *HOX*. Les leucémies *KMT2A* réarrangées se caractérisent par la surexpression aberrante des gènes *HOX* et de leur cofacteur *MEIS1*, entraînant un blocage de la différenciation hématopoïétique et une transformation leucémique. (38) De plus, dans la LAM avec mutation de *NPM1*, *KMT2A* régule l'expression oncogénique de *HOXA*, *MEIS1* et *FLT3*, stimulant ainsi la prolifération des cellules progénitrices myéloïdes. (37) D'autres génotypes de leucémie ont récemment été identifiées comme sensibles à l'inhibition de ménine tels que les LAM avec réarrangements *NUP98* de pronostic défavorable.

Les inhibiteurs de ménine, comme le Revuménib ou le Ziftoménib perturbent l'interaction ménine-*KMT2A*, ce qui entraîne l'inhibition du programme de transcription leucémogène aberrant. Dans un essai de phase I, le Revuménib a été administré en monothérapie à 68 patients adultes et pédiatriques en rechute ou réfractaires atteints de LAM ou LAL avec réarrangements de *KMT2A* ou mutations de *NPM1*. Dix-huit patients (30%) ont obtenu une rémission complète avec ou sans récupération hématologique, avec un délai médian de 1,9 mois. La MRD étaient indétectable chez 14 d'entre eux. (39) D'autres essais cliniques testant les inhibiteurs de ménine à la fois en monothérapie et en association avec d'autres classes médicamenteuses sont également en cours. (37)

4.3.7. Immunothérapie

L'immunothérapie consiste à stimuler le système immunitaire du patient afin d'obtenir une action antitumorale. L'étape primordiale est d'identifier une cible moléculaire hautement exprimée par les cellules tumorales et absente de la surface des cellules normales. Actuellement, plusieurs types d'immunothérapies sont utilisées dans les LAM.

Les anticorps monoclonaux conjugués (ADC) font partie des immunothérapies les plus efficaces dans la prise en charge des LAM pédiatriques. Les anticorps sont couplés à un agent cytotoxique via une liaison clivable. L'anticorps monoclonal se lie à l'antigène présent à la surface cellulaire tumorale, entraînant une internalisation de l'ADC dans la cellule. La liaison entre l'antigène monoclonal et l'agent cytotoxique est alors clivée par une réaction enzymatique ou par hydrolyse, ce qui a pour conséquence la libération de la molécule cytotoxique. L'effet antitumoral est ainsi amélioré et se focalise exclusivement sur les cellules tumorales en

réduisant les effets secondaires. (27) Le Gemtuzumab ozogamicine (Mylotarg®) est un ADC dirigé contre le CD33. Cet antigène de surface est exprimé par les cellules tumorales chez plus de 80% des patients atteints de LAM. Le GO possède l'AMM dans les LAM nouvellement diagnostiquées CD33+ chez les patients de plus de 15 ans, à l'exception des LAM avec mutation de *FLT3* et les LAM promyélocyaires. Son efficacité est actuellement évaluée dans des études pédiatriques internationales de phase III dont le protocole Myechild01 (NCT02724163).

Plusieurs ADC dirigés contre le CD123 sont également en cours d'étude. Cet antigène de surface est exprimé par les cellules leucémiques dans plus de 90% des cas alors que son expression est faible voire absente des cellules hématopoïétiques normales. De plus, il est un excellent marqueur de MRD du fait de la stabilité de son expression au cours de la maladie. (9) A titre d'exemple, l'IMGN632, anticorps humanisé anti-CD123 lié à un agent alkylant, est actuellement testé dans une étude de phase I/II par le COG (NCT05320380) chez des patients atteints de LAL ou LAM réfractaires ou en rechute.

Le STRO-002 est un ADC ciblant le récepteur de folate- α (FOLR1), cible connue dans le cancer de l'ovaire, également exprimée dans les cellules leucémiques avec transcrite de fusion *CBFG2AT3::GLIS2*. Cette protéine de fusion, uniquement rencontrée chez les patients pédiatriques, résulte de la translocation cryptique *inv(16)(p13.3q24.3)*, responsable de la majorité des leucémies aiguës mégacaryoblastiques non associées au syndrome de Down. Les patients présentant cette fusion sont réfractaires au traitement conventionnel et rechutent fréquemment après allogreffe de CSH. Les taux de survie à 5 ans se situent entre 15 et 30 %. Le STRO-002 a récemment fait l'objet d'une étude de phase I qui a démontré son activité anti-leucémique et sa bonne tolérance à la fois en monothérapie et en association avec d'autres classes médicamenteuses. Parmi les 16 patients réfractaires ou en rechute inclus, 7 ont obtenu une rémission complète dont 6 avec MRD indétectable (3 patients en monothérapie et 4 patients en association). (40)

Les anticorps bispécifiques (BiTEs, BiKEs, DARTs) constituent une nouvelle approche thérapeutique. Ils agissent en facilitant l'interaction entre cellules effectrices de l'immunité et cellules tumorales. Ils possèdent 2 domaines distincts de reconnaissance d'antigène : l'un reconnaît spécifiquement un antigène présent à la surface de la cellule tumorale, l'autre reconnaît une glycoprotéine présente à la surface des lymphocytes T (CD3) pour les BiTEs ou des cellules natural killer (CD16) pour les BiKEs. L'activation des cellules cytotoxiques entraîne ainsi la lyse des cellules tumorales. Plusieurs anticorps bispécifiques font actuellement l'objet d'études dans les LAM en rechute ou réfractaires. On peut notamment citer l'AMG 330 (CD33-CD3) et le Flotetuzumab (CD123-CD3). (41)

Les inhibiteurs de checkpoint ciblant PD-1 (Nivolumab et Pembrolizumab) constituent également une piste thérapeutique intéressante. En effet, il a été démontré que l'administration d'Azacitidine augmentait l'expression de PD-1 à la surface des cellules tumorales. (42) C'est dans ce contexte qu'une étude de phase

I/II (NCT03825367) testant l'association Nivolumab-Azacitidine est en cours chez des patients pédiatriques atteint de LAM réfractaires ou en rechute.

Enfin, la thérapie cellulaire par CAR-T cells qui constitue aujourd'hui l'une des approches thérapeutiques les plus prometteuses pour les patients atteints de LAL B en rechute ou réfractaire, demeure un défi dans les LAM. En effet, bien que de nombreux antigènes cibles aient été testés, tels que CD33, CD123, CD38, FLT3 et CLL1, aucune cible idéale n'a pour le moment été trouvée.

5. Drug testing

5.1. Contexte

L'essor de la biologie moléculaire avec le séquençage nouvelle génération (NGS) a permis une meilleure compréhension des mécanismes de la leucémogénèse par l'identification de nombreuses altérations génétiques somatiques, révélant ainsi l'hétérogénéité moléculaire des LAM. Comme nous l'avons vu précédemment, certaines altérations génétiques récurrentes sont liées à des cibles médicamenteuses accessibles. Ainsi, des thérapies ciblées sont proposées aux patients réfractaires ou en rechute, mais peuvent parfois s'avérer inefficaces pour contrôler la maladie. Dans certains cas, les mutations identifiées au NGS sont uniquement présentes au sein de clones minoritaires. Dans d'autres cas, la thérapie ciblée n'est efficace que temporairement avant l'acquisition d'une résistance thérapeutique par la tumeur.

Dans un objectif de stratégie thérapeutique personnalisée pour ces patients en rechute ou réfractaires, il s'avère donc primordial de mieux définir l'utilité potentielle des médicaments anticancéreux disponibles. Plusieurs modèles expérimentaux tels que le drug testing ex vivo permettent d'étudier la sensibilité des cellules leucémiques à ces nouveaux agents anticancéreux.

Le concept de test de sensibilité aux médicaments n'est pas nouveau. En effet, ces tests guident depuis longtemps le choix des traitements antibiotiques ou antifongiques. L'intérêt de l'utilisation de ces tests en cancérologie est grandissant du fait des progrès technologiques, de l'optimisation des protocoles de culture cellulaire et de l'émergence de nouvelles thérapies ciblées. Bien que ces tests puissent théoriquement être réalisés pour tout type de cancers, la coexistence de différents types cellulaires et leur accessibilité rend leur application difficile dans le cadre de tumeurs solides. Au contraire, les cellules blastiques sont en général facilement accessibles en grande quantité dans la moelle osseuse ou le sang périphérique des patients atteints de LAM. (43)

5.2. Principe général et limites

Malgré la multitude de protocoles utilisables pour la réalisation d'un drug testing ex vivo, son principe général repose sur 3 étapes fondamentales :

- L'isolement des cellules leucémiques,
- La mise en culture au contact des médicaments anticancéreux,
- L'évaluation de la viabilité cellulaire après exposition médicamenteuse.

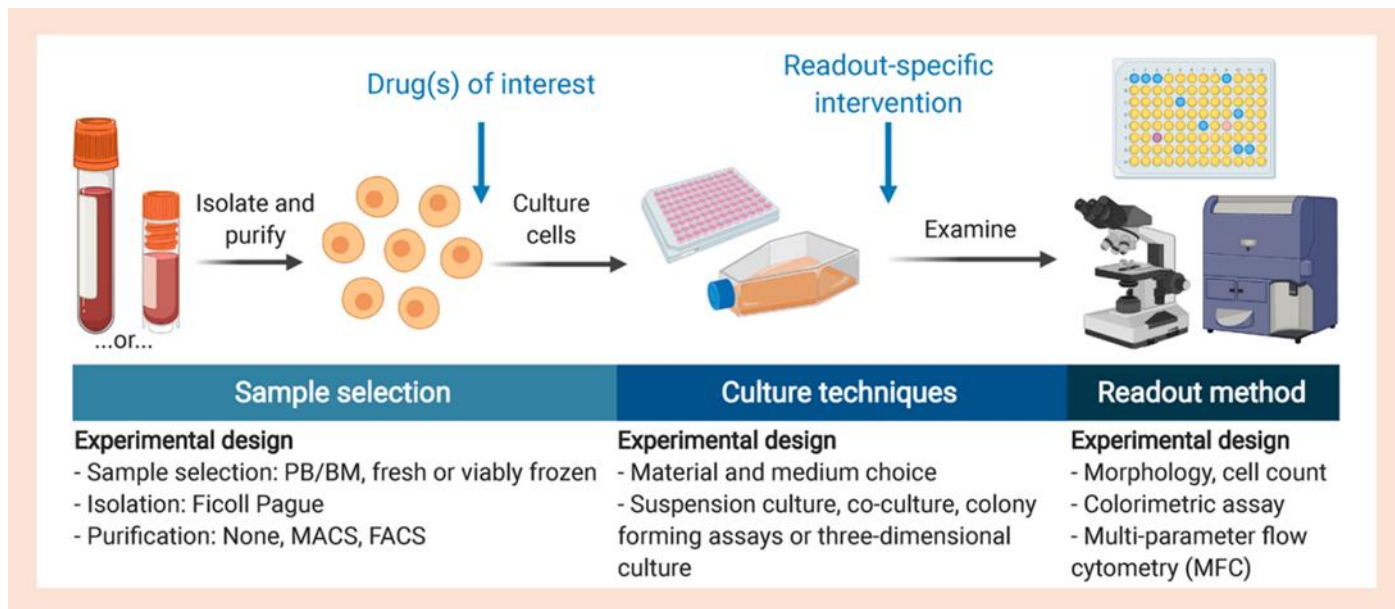


Figure 12 : Principe général du drug testing ex vivo. (44)

Chacune de ces étapes comporte des pièges à connaître. Un biais de sélection des cellules leucémiques peut survenir lors de la phase d'isolement. Ainsi, on peut par exemple sélectionner un sous clone moléculaire au détriment du clone majoritaire. Par ailleurs, un enrichissement insuffisant ou la présence de lymphocytes en excès peuvent faire échouer la technique. Il est ainsi recommandé d'effectuer un tri cellulaire pour extraire les lymphocytes de l'échantillon biologique avant mise en culture. Pendant la phase de culture cellulaire, l'interaction entre le milieu de culture et le médicament peut avoir un impact sur son action. Enfin, l'évaluation de la viabilité cellulaire peut être rendue difficile par la présence de cellules stromales en cas de lecture métabolique. (44)

5.3. Publications dans les LAM

A ce jour, très peu d'études ont été publiées concernant l'utilisation du drug testing ex vivo pour guider le choix thérapeutique des LAM réfractaires ou en rechute.

On retrouve notamment une étude publiée en 2018 dans *Leukemia research* (45), dans laquelle 12 patients âgés de 21 à 81 ans, en rechute ou réfractaires de leur LAM, ont été inclus. Un drug testing ex vivo a été réalisé pour tous les patients à partir d'échantillons de leur moelle osseuse ou de leur sang périphérique. Les blastes isolés puis purifiés ont été testés avec un panel de 215 drogues et la viabilité cellulaire a été évaluée à 72h de la mise en culture. 4 patients/12 ont été sélectionnés pour recevoir une thérapie guidée par les résultats de leur drug testing ; les 8 autres ont été traités selon le choix de leur médecin. Trois des quatre patients traités selon les résultats du drug testing ont répondu au traitement : un patient a obtenu une rémission complète et a pu bénéficier d'une allogreffe de CSH ; les 2 autres ont eu une diminution temporaire de leur blastose circulante. A l'inverse, dans le groupe non traité selon les résultats du drug testing, tous les patients ont progressé sous traitement.

On peut également citer une étude prospective publiée en 2020 dans *Blood Cancer Journal* (43), dont l'objectif était d'étudier la faisabilité de la mise en place d'une stratégie thérapeutique personnalisée guidée par les résultats du NGS et du drug testing ex vivo. 55 patients adultes âgés de 24 à 81 ans ont été inclus dans cette étude. Une stratégie thérapeutique personnalisée a pu être définie chez 47 patients, dont 6 basées sur le drug testing seul et 36 basées sur les 2 techniques. Parmi les 8 patients dont la stratégie thérapeutique n'a pas pu être établie, 7 patients avaient des échantillons biologiques trop pauvres en cellules et 1 patient n'avait ni mutation exploitable au NGS ni aucune sensibilité aux drogues testées. En moyenne, 3 à 4 molécules potentiellement actives ont été sélectionnées par patient sur un panel de 78 drogues testées. Les classes thérapeutiques les plus fréquemment sensibles étaient les inhibiteurs de kinase (52 fois), les chimiothérapies (36 fois), les modificateurs épigénétiques (32 fois) et les agents ciblant l'apoptose (25 fois). Le temps médian entre prélèvement et analyse du drug testing était de 6 jours. Au total, 17 patients ont été traités selon la stratégie thérapeutique personnalisée (STP) proposée, dont 9 basées sur le drug testing seul, 5 basées sur le drug testing et le NGS et 3 basées uniquement sur le NGS (groupe STP). 12 patients ont reçu un traitement non recommandé et 19 n'ont pas été traités (groupe non STP). Dans le groupe STP, 4 patients ont été mis en rémission complète, un patient a répondu de manière partielle et 5 patients ont eu une diminution de leurs blastes circulants. A l'inverse, il n'y a eu qu'une seule réponse partielle parmi les patients traités dans le groupe non STP.

Le drug testing ex vivo a également été étudié dans le cadre de LAM nouvellement diagnostiquées. En effet, dans une étude américaine publiée en 2022 dans *Cancers*, l'objectif était de démontrer cette fois-ci une corrélation entre résultats du drug testing ex vivo et réponse clinique chez des patients pédiatriques. Parmi les 31 patients inclus, 24 ont reçu un traitement d'induction standard par ADE (Cytarabine, Daunorubicine, Etoposide) dans le cadre d'une LAM de novo. Des prélèvements médullaires ou sanguins ont été collectés pour 22 patients/24 et la sensibilité ex vivo à l'ADE a été déterminée pour 13 de ces patients. Dans cette cohorte, une corrélation a été observée entre sensibilité ex vivo à l'ADE et maladie résiduelle en fin d'induction, avec un $r = 0,63$. Ainsi, les 10 patients avec $MRD \leq 1\%$ avaient une sensibilité ex vivo plus

importante à l'ADE comparativement aux 3 patients avec MRD > 1%. De plus, une corrélation entre la sensibilité ex vivo à l'ADE et la survie sans rechute à un an a également été observée avec $r = 0,70$ et un AUROC = 0,94. ((46)

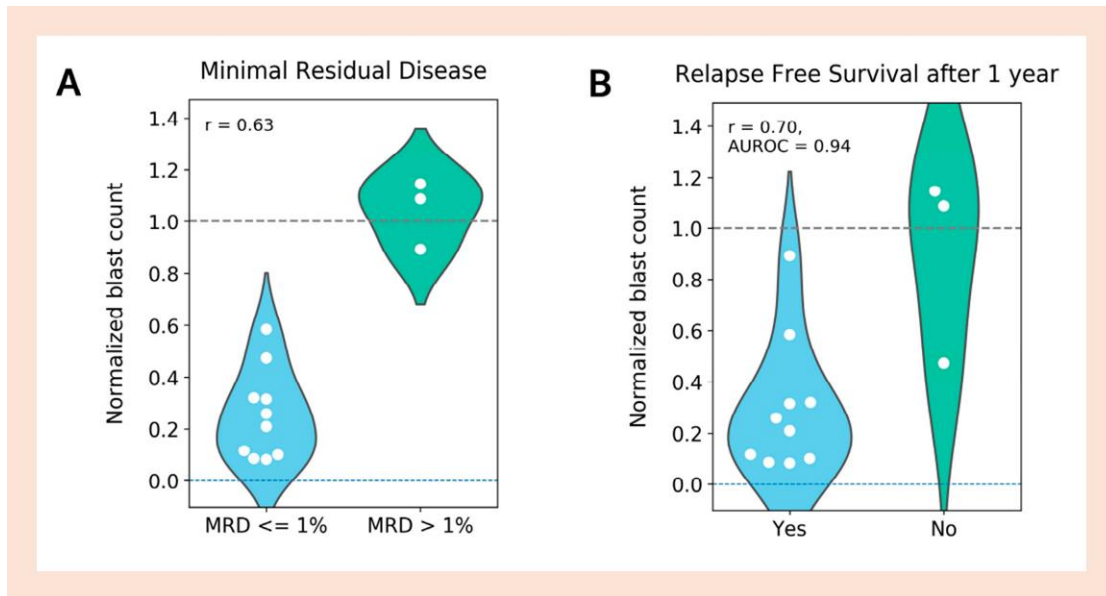


Figure 13 : Diagrammes en violon pour mesurer la corrélation entre le nombre normalisé de blastes ex vivo et (A) la maladie résiduelle et (B) la rechute à un an. (46)

La ligne inférieure en pointillés à 0,0 indique qu'il ne reste plus de blastes ex vivo après le traitement par le médicament. La ligne en pointillés supérieure à 1,0 indique que le nombre de blastes est comparable à celui du contrôle DMSO.

OBJECTIFS ET METHODES

1. Objectifs

Comme nous l'avons évoqué dans l'introduction, le drug testing ex vivo semble être un outil prometteur pour orienter le choix thérapeutique des LAM réfractaires ou en rechute, en complément d'autres techniques telles que le NGS. Bien qu'il soit actuellement réservé à la recherche, ce type de test pourrait être, à l'avenir, intégré dans la pratique clinique. L'objectif de ce travail était d'explorer sa faisabilité dans le cadre des LAM pédiatriques, tant au moment du diagnostic qu'en cas de rechute ou de maladie réfractaire.

2. Méthodes

2.1. Sélection des patients

Afin d'atteindre l'objectif fixé, les patients étaient inclus dans CONECT-AML, un projet de recherche collaboratif, ancillaire de l'étude de phase III MyeChild01. Ce projet, coordonné depuis l'hôpital Trousseau par le Pr Arnaud Petit (chef de Service d'Hématologie et d'Oncologie Pédiatrique), a vu le jour en 2016. L'objectif de ce projet était d'améliorer le pronostic des patients pédiatriques atteints de LAM et de diminuer les conséquences à long terme de leur prise en charge. Ce projet s'est articulé autour de 5 groupes de travail, avec un total de 12 équipes de recherche. La mission de l'une de ces équipes consistait à développer des modèles expérimentaux tels que le PDX et le drug testing ex vivo pour faciliter l'étude des cellules leucémiques et ainsi permettre l'identification de biomarqueurs prédictifs de la réponse thérapeutique. Cette équipe de recherche, dirigée par le Dr Meyling Cheok, était basée à l'institut ONCOLille.

L'inclusion dans CONECT-AML était proposée à tous les patients pédiatriques français atteints de LAM de novo, secondaire ou en rechute, y compris aux patients non inclus dans l'étude MyeChild01, à l'exception des LAM3. La période d'inclusion dans CONECT-AML s'est étalée de mars 2018 à juillet 2023. Le consentement éclairé et signé des parents était recueilli pour tous les patients inclus. Les prélèvements biologiques réalisés au moment du diagnostic dans les 28 centres investigateurs locaux étaient envoyés dans l'un des 2 laboratoires référents MyeChild01 (Lille et Trousseau) pour analyses immunophénotypiques et moléculaires. Les échantillons non utilisés à des fins diagnostiques étaient ensuite répartis dans les 12 équipes de recherche. Pour la réalisation d'un drug testing, il était recommandé de prélever 1 à 2 tubes EDTA supplémentaires de moelle osseuse et 1 tube EDTA supplémentaire de sang. Les échantillons biologiques étaient stockés puis transportés à température ambiante, et accompagnés si possible d'une fiche décrivant le contexte clinique.

Pour évaluer la faisabilité du drug testing ex vivo à la fois au diagnostic et à la rechute, nous avons inclus dans cette étude tous les participants au projet CONECT-AML.

2.2. Technique du drug testing ex vivo

La technique du drug testing ex vivo mise au point par l'équipe de recherche nécessite en premier lieu une étape d'isolement des cellules leucémiques selon un principe reposant sur un gradient de densité entre les cellules et le séparateur (Ficoll). Après centrifugation, les cellules mononucléées se rassemblent en un anneau opaque surnageant au-dessus du séparateur. Celui-ci est ensuite prélevé délicatement.

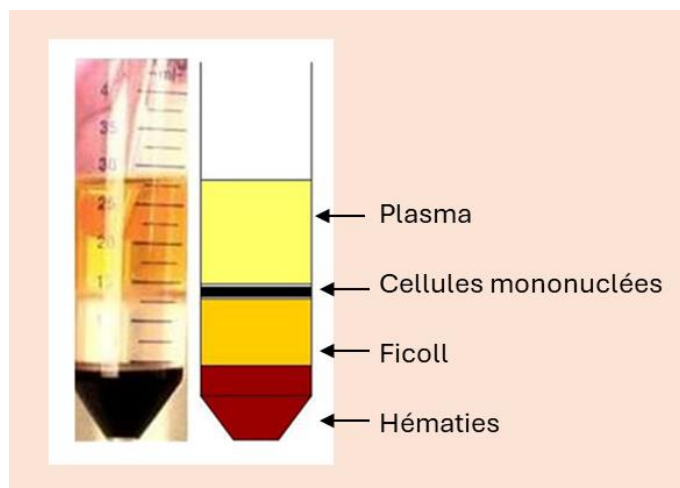


Figure 14 : Isolement des cellules mononucléées par Ficoll.

Après centrifugation, l'obtention d'un culot rouge indique la présence d'hématies en excès qui peuvent altérer le résultat final. Dans ce cas, du tampon de lyse est ajouté et une nouvelle centrifugation a lieu afin de séparer les hématies des cellules mononucléées. En cas de lymphocytose > 20% dans l'échantillon biologique, un tri cellulaire est réalisé afin d'extraire du culot les lymphocytes. Des billes marquées par des anticorps anti CD3 et anti CD19 sont ajoutées au culot. En effet, ces anticorps ont la capacité de se fixer aux antigènes de surface portés respectivement par les lymphocytes T et B. Après exposition à un champ magnétique (aimant), les billes ayant capturé les lymphocytes sont extraites du culot.

Après ces différentes étapes, un compte cellulaire automatisé par fluorescence est effectué. L'automate permet alors de distinguer les cellules vivantes des cellules mortes afin de définir un pourcentage de viabilité cellulaire initial. Un prélèvement est considéré de bonne qualité en cas de viabilité cellulaire supérieure ou égale à 95%. A noter que la viabilité cellulaire est directement impactée par le délai entre prélèvement et manipulation de l'échantillon biologique. La quantité de cellules détermine ensuite le nombre de drogues pouvant être testées par échantillon, en sachant que chaque molécule nécessite environ 2 millions de cellules.

L'équipe de recherche a opté pour un panel de 26 drogues à tester. Certaines molécules font partie du traitement historique des LAM : anthracyclines, antimétabolites. D'autres font partie des classes thérapeutiques émergentes : agents hypométhylants, inhibiteurs de tyrosine kinase, inhibiteurs HDAC ou encore immunothérapie.

INHIBITEURS DE LA TOPOISOMERASE II	<ul style="list-style-type: none"> ▪ MITOXANTRONE ▪ IDARUBICINE ▪ DAUNORUBICINE ▪ AMSACRINE ▪ ETOPOSIDE
ANTIMETABOLITES	<ul style="list-style-type: none"> ▪ CYTARABINE ▪ FLUDARABINE ▪ CLOFARABINE ▪ ELACYTARABINE
AGENTS HYPOMETHYLANTS	<ul style="list-style-type: none"> ▪ AZACITIDINE ▪ DECITABINE
INHIBITEURS HDAC	<ul style="list-style-type: none"> ▪ VORINOSTAT ▪ PANOBINOSTAT
INHIBITEUR CYCLINE KINASE	<ul style="list-style-type: none"> ▪ FLAVOPIRIDOL
INHIBITEURS TYROSINE KINASE	<ul style="list-style-type: none"> ▪ MIDOSTAURINE ▪ PONATINIB ▪ SORAFENIB ▪ DESATINIB ▪ RUXOLITINIB ▪ GILTERITINIB ▪ QUINTARZINIB ▪ TRAMETINIB
AGENTS CIBLANT L' APOPTOSE	<ul style="list-style-type: none"> ▪ VENETOCLAX ▪ NAVITOCCLAX ▪ EPRENETAPOPT ▪ IDASANUTLIN
AUTRES	<ul style="list-style-type: none"> ▪ GEMTUZUMAB OZOGAMICINE ▪ CPX-351

Tableau 8 : Panel des 26 molécules testées.

En cas de matériel limité, le choix des drogues à tester repose sur le contexte clinique. Certaines drogues sont testées en priorité pour le diagnostic, d'autres pour la rechute. Les molécules choisies sont ensuite

réparties sur une plaque 96 puits à 8 concentrations différentes, obtenues par dilution en série. La dilution est réalisée avec du milieu de culture. Les cellules leucémiques sont secondairement ajoutées dans les puits. Certains puits sont volontairement dépourvus de drogues pour témoigner de la bonne réalisation de la technique. Les témoins positifs contiennent à la fois du milieu de culture et des cellules. Les témoins négatifs contiennent uniquement du milieu de culture pour les molécules incolores et uniquement la dilution des drogues pour les molécules colorées (exemples : Idarubicine, Mitoxantrone).

La plaque est ensuite placée dans une étuve à 37°C, 5% de CO₂ et 95% d'humidité pour permettre une incubation de 4 jours. L'Azacitidine a la particularité de devoir être renouvelée tous les jours dans les puits. A l'issue de l'incubation, on ajoute dans les puits du MTT ou sel de tétrazolium. Ce dernier permet alors une évaluation rapide de la viabilité cellulaire. En effet, ce sel contient un anneau de tétrazolium qui est réduit en formazan en présence de la succinate déshydrogénase mitochondriale, une enzyme de la chaîne respiratoire des mitochondries. Cela forme alors un précipité de couleur violette dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de mitochondries, et donc de cellules vivantes présentes. Après une incubation de trois heures avec le MTT, la plaque est ensuite analysée par l'automate SpectraMax qui quantifie l'absorbance de chaque puit par spectrophotométrie avec une longueur d'onde de 570 nm. Les valeurs d'absorbance des différents puits sont ensuite comparées aux témoins positifs dépourvus de drogues. Le pourcentage de prolifération des cellules est défini par la formule suivante :

$$\% \text{ cell viability} = (Abs \text{ treatment} - Abs \text{ blank}) / (Abs \text{ control} - Abs \text{ blank}) \times 100\% \text{ (Abs = absorbance)}$$

La viabilité cellulaire est définie à 8 concentrations médicamenteuses différentes afin d'obtenir une courbe de réponse en fonction de la concentration (cf **Figure 15**). Les courbes de réponse sont créées à l'aide du logiciel GraphPad Prism. Le bas de la courbe (Bottom) correspond à la viabilité cellulaire à la concentration médicamenteuse maximale testée ex vivo. Cela permet de définir l'IC 50 ou concentration inhibitrice médiane qui correspond à la concentration induisant 50 % de l'inhibition maximale du médicament ex vivo. Enfin l'aire sous la courbe (AUC) est également calculée. Les valeurs de ces 3 paramètres sont ensuite comparées à celles d'une cohorte de patients (cf **Figure 16**). Un score de 1 à 5 permet ensuite de classer les molécules de très sensible à très résistant :

- 1 : < 25e percentile (très sensible)
- 2 : 25 - 33e percentile (sensible)
- 3 : 33 - 66e percentile (intermédiaire)
- 4 : 66 - 75e percentile (résistant)
- 5 : > 75e percentile (très résistant)

Les résultats sont rendus indépendamment pour chacun des 3 paramètres étudiés.

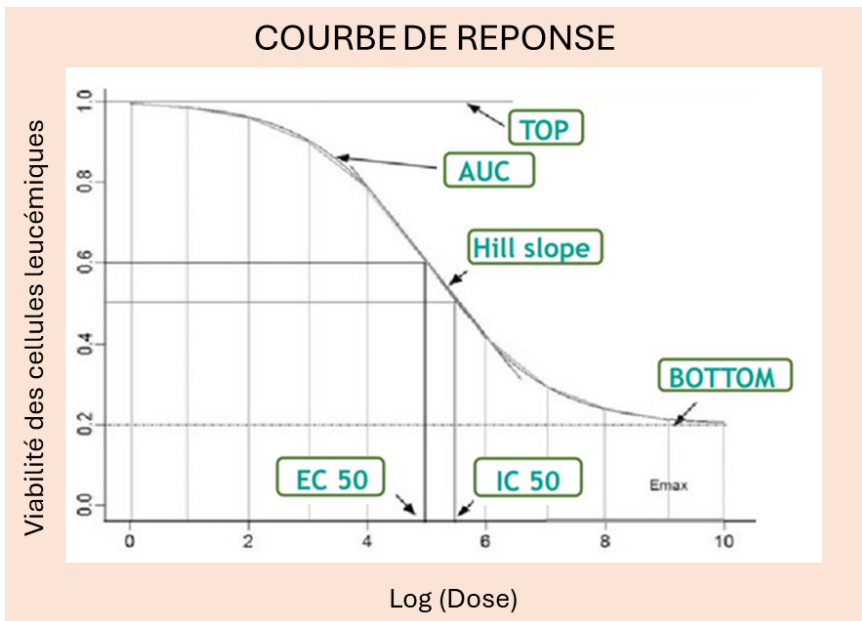


Figure 15 : Courbe de réponse médicamenteuse.

AUC = aire sous la courbe ; IC50 = concentration inhibitrice médiane ; EC50 = concentration efficace médiane ; BOTTOM = viabilité cellulaire à la concentration maximale testée ; TOP = viabilité cellulaire avant exposition médicamenteuse ; Hill slope = pente.

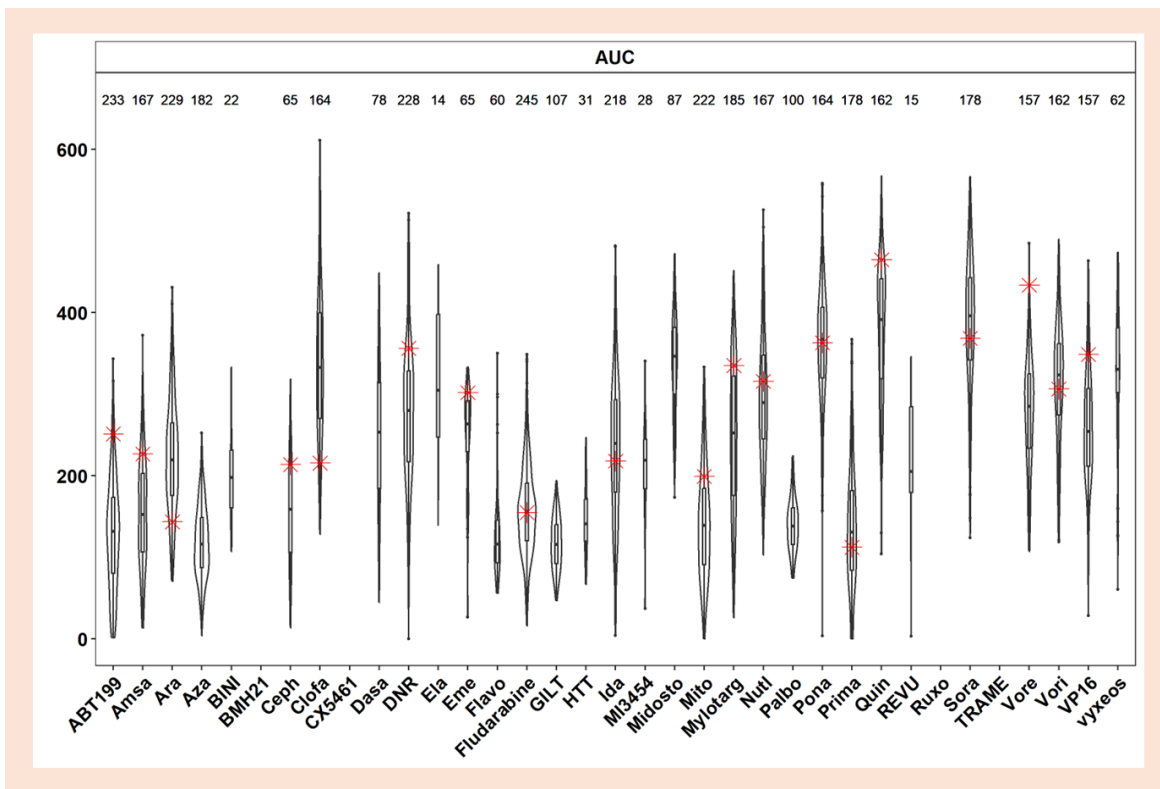


Figure 16 : Exemple de résultat de drug testing.

Chaque plot correspond à l'étendue des valeurs d'AUC (aire sous la courbe) obtenues au sein de la cohorte comparative pour une molécule testée. L'astérisque rouge correspond au patient étudié. Plus l'astérisque rouge se situe à l'extrémité inférieure du plot, plus le patient est sensible à la molécule testée. Au contraire, plus l'astérisque rouge se situe à l'extrémité supérieure du plot, plus le patient est résistant à la molécule testée.

2.3. Recueil des données

La collecte des données clinico-biologiques des patients inclus dans CONECT-AML a été possible grâce à la collaboration du Pr Arnaud Petit et de Maxime Ferreboeuf, attaché de recherche clinique. Ce dernier m'a donné accès à la liste complète des patients ayant participé au projet. J'ai ainsi pu recueillir les informations suivantes : âge, sexe, date de diagnostic, caractéristiques cytologiques, cytogénétiques et moléculaires, groupe de risque, traitement, date des dernières nouvelles. La consultation des fiches de réunion de concertation pluridisciplinaire (RCP) des patients CONECT-AML m'a également permis d'obtenir des données complémentaires : réponse thérapeutique post cure, MRD, indication et date des allogreffes de cellules souches hématopoïétiques, date et traitement des rechutes, discussion du drug testing ex vivo.

Pour mieux comprendre les spécificités techniques du drug testing ex vivo, le Dr Meyling Cheok m'a convié à l'institut ONCOLille en mai 2024. Djohana Laurent, ingénieur en biologie, m'a expliqué en détail la technique du drug testing, de la réception des échantillons biologiques aux rendus des résultats. Le Dr Meyling Cheok m'a ensuite transmis la liste exhaustive des patients CONECT-AML pour lesquels un ou plusieurs échantillons biologiques ont été adressés à son équipe pour la réalisation d'un drug testing. J'ai recueilli la date de prélèvement et de réception des échantillons biologiques, leur provenance, leur nature (moelle et/ou sang), leur concentration en blastes et en lymphocytes, la quantité et la viabilité initiale des cellules, le nombre et la nature des molécules testées, le statut de la maladie au moment de la réception de l'échantillon et enfin les résultats du drug testing ex vivo.

2.4. Critères de jugements principal et secondaires

Afin d'évaluer la faisabilité du drug testing dans le cadre des LAM pédiatriques, nous avons défini comme critère de jugement principal, le taux de succès du drug testing chez les patients inclus dans CONECT-AML, à la fois au diagnostic et à la rechute. Nous avons considéré comme succès l'obtention d'un profil de sensibilité/résistance pour minimum deux molécules testées. Nous avons ensuite établi des critères de jugement secondaires : nombre de molécules testées par patient, nombre de drug testing réalisés par patient au cours du suivi, proportion de résultats rendus par l'équipe de recherche et proportion de drug testing discutés en RCP de rechute.

2.5. Analyse des données en sous-groupes

2.5.1. Faisabilité du drug testing ex vivo au diagnostic et à la rechute

Pour l'étude de la faisabilité du drug testing au diagnostic, nous avons défini le groupe « inclus au diagnostic » en excluant de l'analyse les patients inclus à l'occasion d'une rechute. Nous avons ensuite séparé la cohorte en 3 sous-groupes distincts :

- Sous-groupe « échantillon biologique qualifié »,
- Sous-groupe « échantillon biologique adressé, non qualifié »,
- Sous-groupe « échantillon biologique non adressé ».

Afin de vérifier la représentativité des patients du sous-groupe « échantillon biologique qualifié » par rapport à l'ensemble des LAM de novo incluses dans CONECT-AML, nous avons comparé les caractéristiques des patients grâce à un test de distribution du Khi-deux. Au sein du sous-groupe « échantillon biologique qualifié », nous avons extrait les échecs de technique afin d'identifier les différentes causes possibles. Parmi les succès de technique, nous avons déterminé le nombre médian de molécules testées. Nous avons ensuite comparé la composition et le délai d'acheminement des échantillons biologiques au sein des sous-groupes « échantillon biologique qualifié » et « échantillon biologique adressé, non qualifié » afin d'identifier les causes les plus fréquentes de non-réalisation de la technique.

Pour l'étude de la faisabilité du drug testing en cas de maladie réfractaire ou de rechute, nous avons défini le groupe « rechute ou maladie réfractaire » en retirant de la cohorte globale les patients non concernés :

- Rémission complète prolongée en 1^{ère} ligne,
- Décès en 1^{ère} ligne,
- Données manquantes après la 1^{ère} ligne,
- Inclusions à tort dans CONECT-AML.

A noter que pour cette analyse en sous-groupe, les échantillons biologiques reçus en 2^{ème} rechute par rapport à l'inclusion dans CONECT ont été exclus. Nous avons ensuite procédé de manière identique à l'analyse de faisabilité du drug testing au diagnostic. Enfin, nous avons comparé la proportion d'échantillons biologiques adressés et qualifiés au sein des 2 groupes « inclus au diagnostic » et « rechute ou maladie réfractaire », ainsi que le nombre de molécules testées à l'aide d'un test d'homogénéité du Khi-deux. Nous avons ensuite représenté, à l'aide d'un diagramme en violon, la distribution du nombre de molécules testées au sein des 2 groupes.

2.5.2. Répétition du drug testing ex vivo au cours du suivi

Pour évaluer la faisabilité de la répétition du drug testing au cours du suivi, nous avons défini le groupe « ≥ 2 lignes thérapeutiques dans CONECT », en excluant les patients suivants :

- Rémission prolongée après ligne thérapeutique d'inclusion,
- Décès après ligne thérapeutique d'inclusion,
- Données manquantes après ligne thérapeutique d'inclusion,
- Inclusions à tort dans CONECT-AML.

Les patients sélectionnés ont ensuite été répartis dans 3 sous-groupes distincts :

- Sous-groupe « ≥ 2 échantillons qualifiés »,
- Sous-groupe « ≥ 2 échantillons adressés mais < 2 qualifiés »,
- Sous-groupe « < 2 échantillons adressés ».

Au sein du sous-groupe « ≥ 2 échantillons qualifiés », nous avons sélectionné les patients ayant eu minimum 2 succès de technique. Parmi ces patients, nous avons conservé ceux pour lesquels un drug testing avait été réalisé au diagnostic puis à la rechute/maladie réfractaire afin de comparer l'évolution du profil de résistance entre les 2 techniques.

2.5.3. Communication des résultats et discussion RCP du drug testing ex vivo

Pour l'analyse de la communication et de la discussion des résultats du drug testing, nous avons défini le groupe « rechute ou maladie réfractaire + drug testing réalisé ». Nous avons ensuite séparé les patients en fonction des données issues des fiches RCP :

- Sous-groupe « drug testing discuté »,
- Sous-groupe « drug testing non discuté »,
- Sous-groupe « fiche RCP indisponible ».

Au sein des sous-groupes « drug testing non discuté » et « fiche RCP indisponible », nous avons répertorié les résultats communiqués à l'investigateur principal par l'équipe de recherche.

Enfin, à l'aide des fiches RCP, nous avons pu identifier les molécules les plus fréquemment choisies pour traiter la première rechute. Nous avons ensuite décrit la distribution de sensibilité/résistance des patients vis-à-vis de ces molécules lors du drug testing de rechute.

RESULTATS

1. Faisabilité du drug testing ex vivo

a. Pour toutes les LAM pédiatriques

Au total, 395 patients ont été inclus dans CONECT-AML entre mars 2018 et juillet 2023, dont 245 patients (62%) inclus dans le protocole MyeChild01. Parmi ces participants, 365 (92,4%) étaient nouvellement diagnostiqués et 30 (7,6%) étaient en rechute ou maladie réfractaire au moment de leur inclusion.

Entre avril 2018 et août 2024, 338 échantillons de 278 patients différents ont été adressés pour drug testing (DT). Les échantillons comprenaient de la moelle osseuse et du sang pour 173 demandes, uniquement de la moelle osseuse pour 122 demandes, et uniquement du sang pour 43 demandes. Le nombre médian de cellules par échantillon biologique était de 47,7 millions (IIQ = 130,4 [143-12,6]), la viabilité cellulaire médiane était de 97,9% (IQQ = 3 [99-95,3]) et le délai d'acheminement médian était de 2 jours (IIQ = 2 [3-1]).

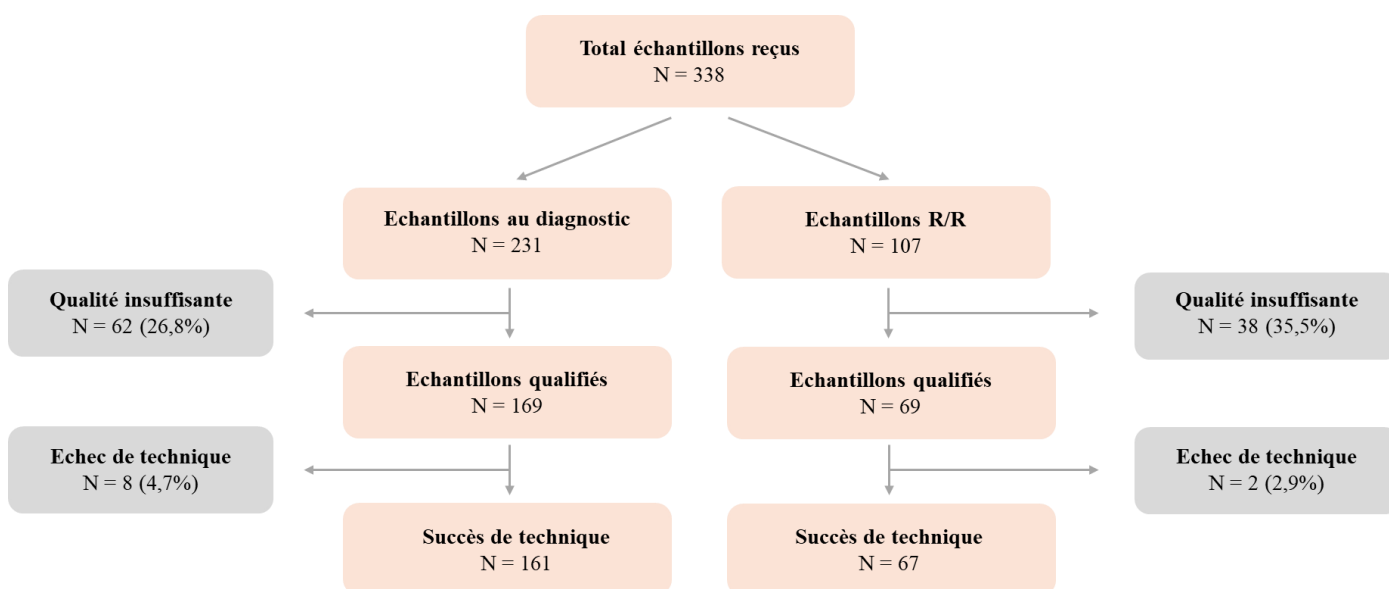


Figure 17 : Flow chart des échantillons biologiques adressés pour drug testing ex vivo.

Cent échantillons pour 96 patients (62 prélevés au diagnostic initial et 38 prélevés ultérieurement) ont été exclus d'emblée pour absence de satisfaction aux critères qualité pré-test. Les principales causes d'exclusion étaient : un nombre insuffisant de cellules (< 10 millions de cellules, n = 75), une viabilité cellulaire insuffisante (< 95%, n = 23) et une proportion trop importante de lymphocytes (> 50%, n = 23). Une minorité de tests n'a pas été réalisée pour d'autres raisons : prélèvement adressé au mauvais laboratoire (n=3), mauvais conditionnement (n=1), personnel de laboratoire indisponible pour réaliser la technique (n=2), hémodilution

du prélèvement (n=1), manque d'information concernant la formule sanguine et le myélogramme (n=1), patient en cours de radiothérapie (n=1). Concernant les 23 échantillons biologiques avec viabilité cellulaire insuffisante, le délai médian d'acheminement au laboratoire de recherche était de 3 jours (IIQ = 2,5 [4,5-2]).

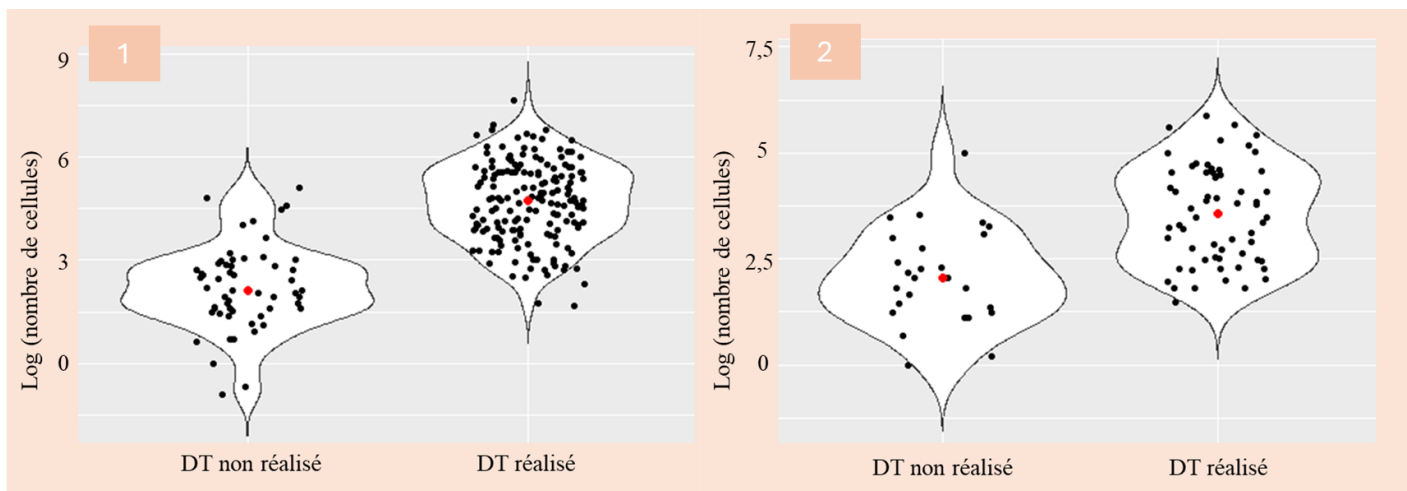


Figure 18 : Diagrammes en violon de la répartition des échantillons adressés en fonction de la richesse cellulaire.

(1) Echantillons du diagnostic.

(2) Echantillons à la rechute/maladie réfractaire.

DT = drug testing

Parmi ces demandes, 238 (70,4%) drug testing ont été réalisés chez 207 patients, soit 52,4% des patients inclus dans CONECT-AML : 169 (71%) au diagnostic, 64 (26,9%) à la 1^{ère} rechute, 4 (1,7%) à la 2^{nde} rechute et 1 dans le cadre d'une 2^{nde} LAM sur greffon. La technique a été un succès dans 95,4% des cas, avec un nombre médian de molécules testées de 18 (IIQ = 14 [20-6]). Seulement 10 techniques (4,6%) ont échoué dont 7 en raison d'un signal trop faible, 2 en raison de témoins négatifs contaminés et une en raison d'une impossibilité de lecture secondaire à la fermeture du laboratoire dans le contexte de pandémie de Covid19.

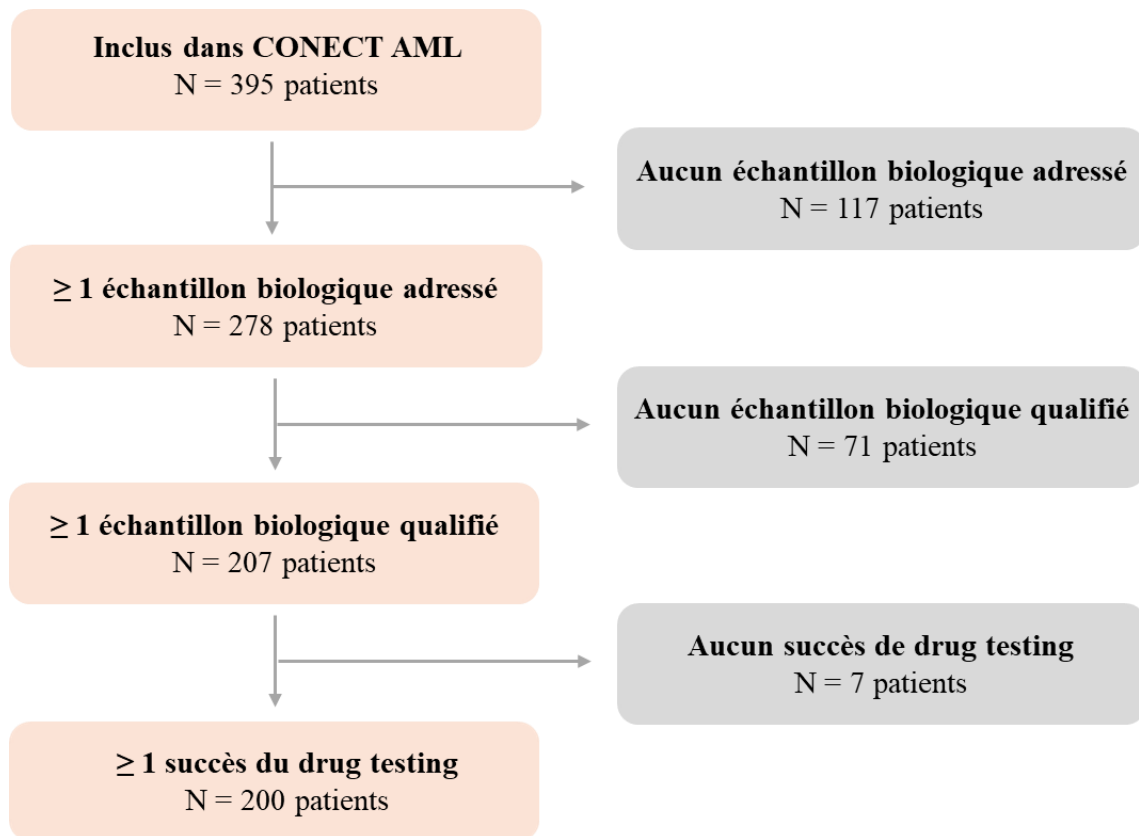


Figure 19 : Flow chart de faisabilité du drug testing ex vivo au sein du projet CONECT-AML.

b. Pour les LAM pédiatriques nouvellement diagnostiqués

Parmi les 365 patients inclus au diagnostic, 231 (63,3%) ont eu un échantillon biologique adressé au laboratoire pour drug testing avant de débiter leur traitement. Au total, 169 échantillons (73,2%) ont été qualifiés pour l'analyse, avec un taux de succès de 95,3%.

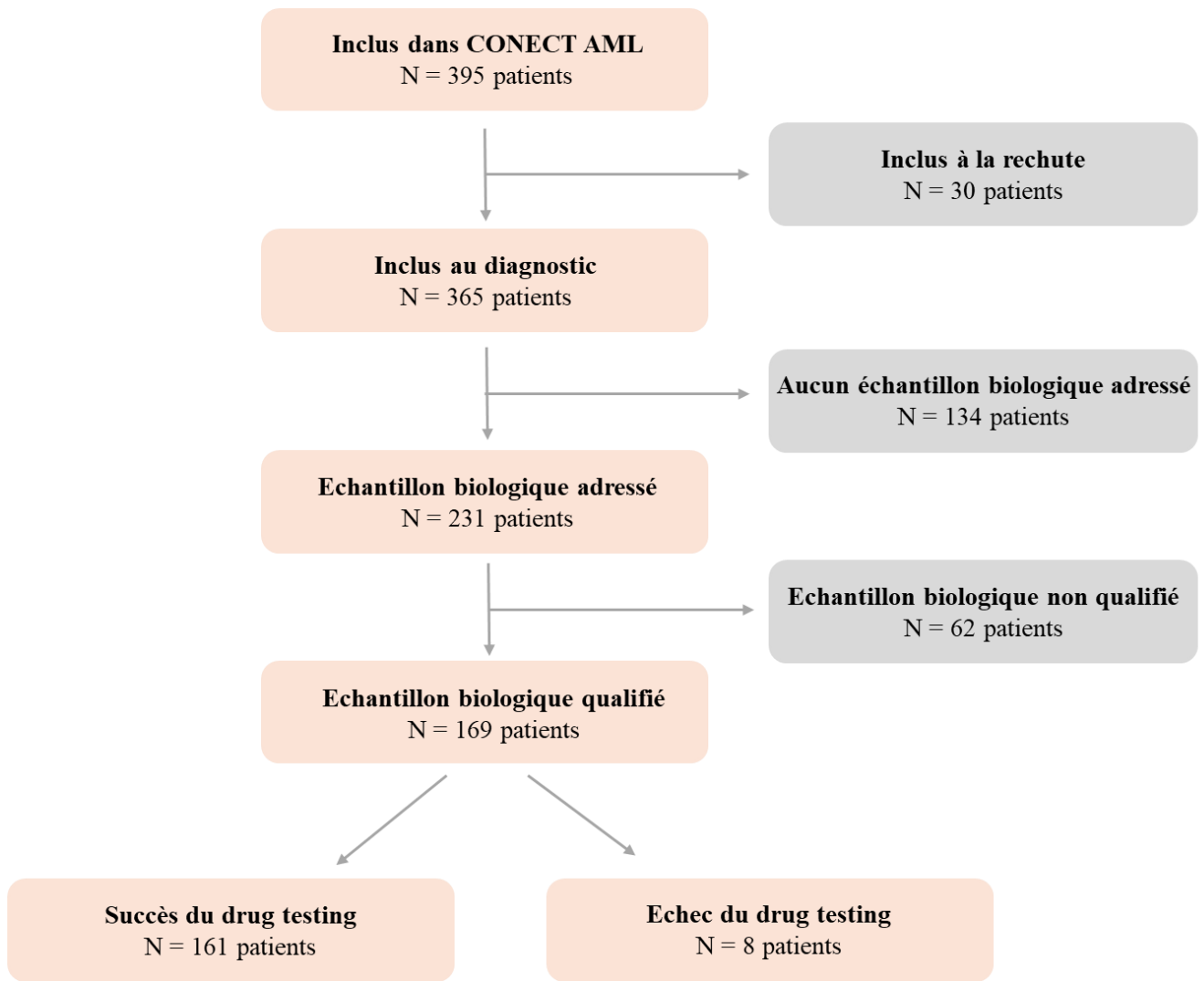


Figure 20 : Flow chart de faisabilité du drug testing ex vivo au diagnostic.

Les caractéristiques des patients inclus dans CONECT-AML au diagnostic ainsi que ceux du sous-groupe « DT réalisé au diagnostic » sont détaillées dans le **Tableau 9**.

	Sous-groupe DT réalisé au diagnostic N = 169 patients	Groupe inclus dans CONECT au diagnostic N = 365 patients	p-value
Genre			
Garçons	89 (52,7%)	190 (52%)	p = 0,8631
Age médian au diagnostic			
	10 ans [0-17]	8 ans [0-17]	
Classification FAB			
LAM 1	30 (17,7%)	50 (13,7%)	p = 0,1256
LAM 2	36 (21,3%)	74 (20,3%)	p = 0,7461
LAM 4	37 (21,9%)	67 (18,4%)	p = 0,2412
LAM 5	43 (25,4%)	78 (21,4%)	p = 0,1999
LAM 7	4 (2,4%)	35 (9,6%)	p = 0,0014
Autre FAB ou hors FAB*			
	19 (11,2%)	61 (16,7%)	p = 0,0572
Cytogénétique			
RUNX1-RUNX1T1	22 (13%)	47 (12,9%)	p = 0,9636
Inv(16) CBFβ-MYH11	20 (11,8%)	39 (10,7%)	p = 0,6333
Réarrangements MLL	38 (22,5%)	74 (20,3%)	p = 0,48
Réarrangements NUP98	6 (3,5%)	12 (3,3%)	p = 0,8555
Cytogénétique normale	36 (21,3%)	61 (16,7%)	p = 0,1087
Caryotype anormal non stratifiant	28 (16,6%)	82 (22,5%)	p = 0,0648
Biologie moléculaire			
NPM1 muté	14 (8,3%)	30 (8,2%)	p = 0,9682
FLT3 ITD muté	16 (9,5%)	32 (8,8%)	p = 0,7594
Double mutation CEBPA	12 (7,1%)	16 (4,4%)	p = 0,0869
Surexpression WT1	70 (41,4%)	162 (44,4%)	p = 0,4356
Autre(s) gène(s) muté(s)	90 (53,2%)	183 (50,1%)	p = 0,4121
Groupe pronostique			
Favorable	63 (37,3%)	124 (34%)	p = 0,3683
Intermédiaire	50 (29,6%)	131 (35,9%)	p = 0,0836
Défavorable	47 (27,8%)	92 (25,2%)	p = 0,4344
Donnée manquante	9 (5,3%)	18 (4,9%)	p = 0,7978
Traitement 1ère ligne			
Inclusion MyeChild non HR	83 (49,1%)	181 (49,6%)	p = 0,8991
Inclusion MyeChild HR	34 (20,1%)	64 (17,5%)	p = 0,3703
Non inclus MyeChild	52 (30,8%)	120 (32,9%)	p = 0,5555
HSCT en 1ère ligne			
	41 (24,3%)	87 (23,8%)	p = 0,8882
Outcome			
Décès 1ère ligne	6 (3,5%)	16 (4,4%)	p = 0,5902
Réfractaires 1ère ligne	6 (3,5%)	14 (3,8%)	p = 0,8652
Rechute	44 (26,0%)	88 (24,1%)	p = 0,5563
Rémission complète prolongée	105 (62,1%)	228 (62,5%)	p = 0,9209
Autre **	8 (4,7%)	19 (5,2%)	p = 0,7848

Tableau 9 : Comparaison des caractéristiques des patients du sous-groupe « DT réalisé au diagnostic » par rapport à l'ensemble des patients inclus dans CONECT-AML au diagnostic.

* LA biphenotypiques, LAM indifférenciées, syndrome myélodysplasique, sarcome granulocyttaire, LAL T ;

** Inclus à tort ou données manquantes.

A l'exception d'une sous-représentation des LAM7, les caractéristiques des patients du sous-groupe « DT réalisé au diagnostic » étaient équivalentes à celles de l'ensemble des patients inclus dans CONECT-AML au diagnostic. Le taux d'échantillons qualifiés était significativement inférieur pour les LAM7, avec seulement 4 techniques réalisées sur les 15 demandes (26,7%), majoritairement en raison d'un nombre insuffisant de cellules (n=10). La médiane de richesse cellulaire pré-test était de 15 millions (IIQ = 18,8 [24,6-5,8]) contre 65 millions de cellules (IIQ = 193,6 [212-18,4]) pour l'ensemble des échantillons biologiques reçus au diagnostic.

c. Pour les LAM pédiatriques réfractaires ou en rechute

Sur les 395 patients inclus dans CONECT-AML, 117 ont présenté une rechute et 14 une maladie réfractaire. La totalité des patients réfractaires avaient été inclus au diagnostic. Six (42,9%) avaient bénéficié d'un DT au moment du diagnostic, avec un taux de succès de 100%. Devant le caractère réfractaire, un échantillon a été adressé pour 9 d'entre eux (64.3%) et 4 DT ont été réalisés avec succès. Cinq échantillons ont été exclus : 2 en raison d'un nombre insuffisant de cellules, 2 en raison d'une proportion trop importante de lymphocytes et une par manque d'information concernant la formule sanguine et le myélogramme. Concernant les patients en rechute, 87 ont été inclus au diagnostic, 27 à la première rechute et 3 à la seconde rechute. Parmi les patients inclus au diagnostic, 44 (50%) ont eu un DT en 1^{ère} ligne thérapeutique dont 42 avec succès (95,4%).

Au moment de la rechute faisant suite à l'inclusion dans CONECT-AML, 82 patients (70,1%) ont eu une demande de drug testing. Soixante-quatre techniques ont été réalisées pour 63 patients. En effet, 2 techniques ont été réalisées à 7 jours d'intervalle pour un même patient (1 succès et 1 échec).

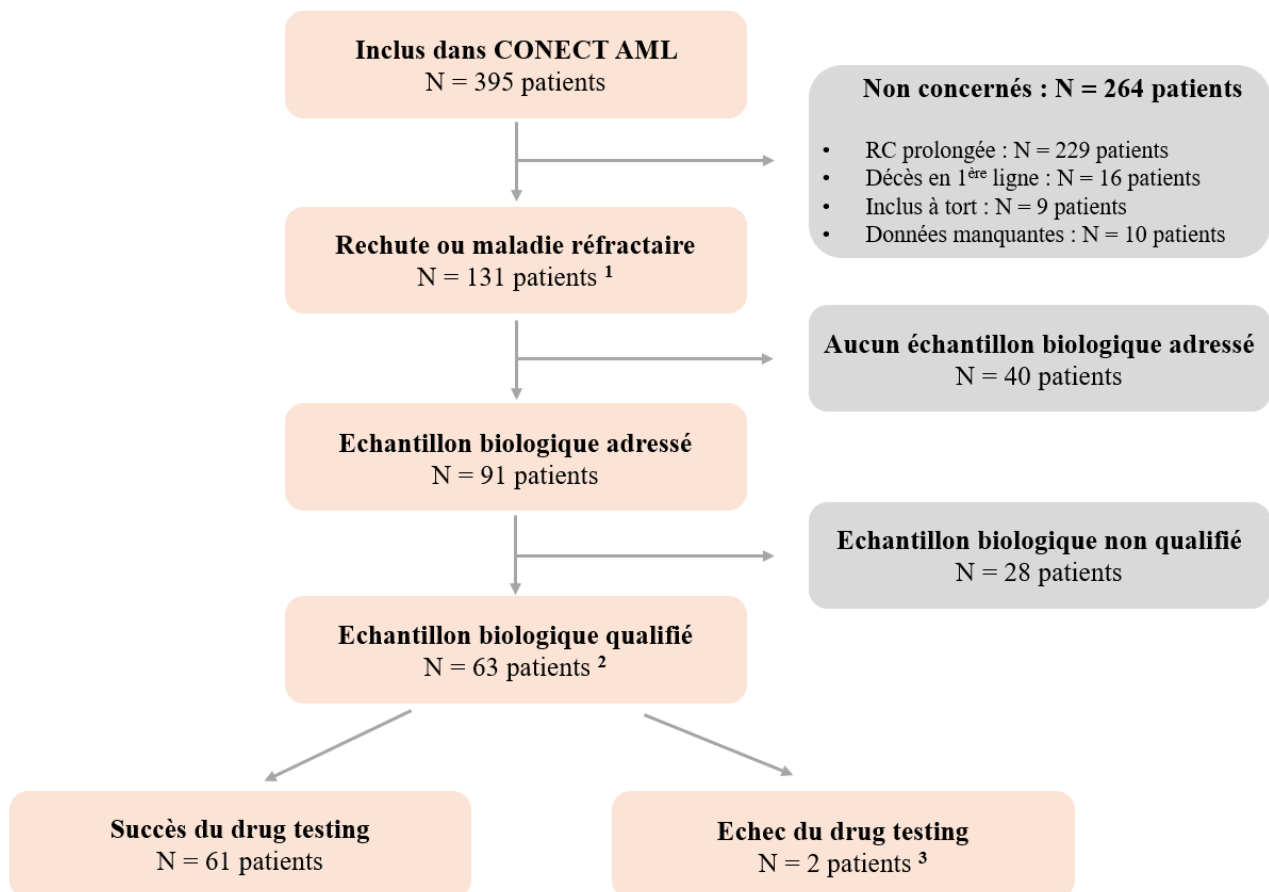


Figure 21 : Flow chart de faisabilité du drug testing ex vivo en cas de maladie réfractaire ou de rechute.

1 : 117 patients en rechute et 14 patients réfractaires

2 : 59 patients en rechute et 4 patients réfractaires

3 : 2 patients en rechute

Les caractéristiques des patients du sous-groupe « DT réalisé à la rechute/maladie réfractaire » sont détaillées dans le **Tableau 10** et comparées à celles de l'ensemble des patients réfractaires ou en rechute.

	Sous-groupe DT réalisé à la rechute N = 63 patients	Groupe rechute ou maladie réfractaire N = 131 patients	p-value
Genre			
Garçon	37 (58,7%)	77 (58,8%)	p = 0,991
Age médian à la rechute/maladie réfractaire	10 ans [0-18]	10 ans [0-18]	
Classification FAB			
LAM 0	5 (7,9%)	8 (6,1%)	p = 0,5425
LAM 1	9 (14,3%)	18 (13,7%)	p = 0,8925
LAM 2	9 (14,3%)	25 (19,1%)	p = 0,331
LAM 4	13 (20,6%)	24 (18,3%)	p = 0,6317
LAM 5	17 (27%)	27 (20,6%)	p = 0,2102
LAM7 ou hors classification FAB*	10 (15,9%)	29 (22,1%)	p = 0,2336
Cytogénétique			
CBF**	7 (11,1%)	23 (17,6%)	p = 0,1762
Réarrangements MLL	15 (23,8%)	29 (22,1%)	p = 0,7436
Monosomie 7	5 (7,9%)	11 (8,4%)	p = 0,8945
Cytogénétique normale	7 (11,1%)	15 (11,4%)	p = 0,9425
Caryotype anormal non stratifiant	22 (34,9%)	31 (23,7%)	p = 0,03623
Autre	7 (11,1%)	22 (16,8%)	p = 0,2271
Biologie moléculaire			
FLT3 ITD muté	6 (9,5%)	16 (12,2%)	p = 0,5163
Surexpression WT1	25 (39,7%)	56 (42,7%)	p = 0,6282
Autre(s) gène(s) muté(s) ***	35 (55,5%)	69 (52,6%)	p = 0,6385
Groupe pronostique au diagnostic			
Favorable	9 (14,3%)	22 (16,8%)	p = 0,5935
Intermédiaire	30 (47,6%)	53 (40,5%)	p = 0,2497
Défavorable	20 (31,7%)	51 (38,9%)	p = 0,2441
Donnée manquante	4 (6,3%)	5 (3,8%)	
Traitement 1ère ligne			
Inclusion MyeChild non HR	23 (36,5%)	48 (36,6%)	p = 0,9879
Inclusion MyeChild HR	10 (15,9%)	29 (22,1%)	p = 0,2336
Non inclus MyeChild	30 (47,6%)	54 (41,2%)	p = 0,3006
Drug testing au diagnostic			
Réalisé	26 (41,3%)	50 (38,2%)	p = 0,616
Demandé non réalisé	6 (9,5%)	13 (9,9%)	p = 0,9204
Non demandé	31 (49,2%)	68 (51,9%)	p = 0,6687

Tableau 10 : Comparaison des caractéristiques des patients du sous-groupe « DT réalisé à la rechute/maladie réfractaire » par rapport à l'ensemble des patients réfractaires ou en rechute inclus dans CONECT-AML.

* LA biphénotypiques, LAM indifférenciées, syndrome myélodysplasique ;

** Core Binding Factor : *CBFB::MYH11* et *RUNX1::RUNX1T1* ;

*** Dont mutation de *NPM1* et double mutation de *CEBPA*.

A l'exception d'une surreprésentation des LAM avec caryotype anormal non stratifiant, les caractéristiques des patients du sous-groupe « DT réalisé à la rechute/maladie réfractaire » sont équivalentes à celles de l'ensemble des patients réfractaires ou en rechute inclus dans CONECT-AML. La proportion de demandes de drug testing parmi les patients avec caryotype anormal non stratifiant était de 77,4% contre 69,5% pour l'ensemble des patients, ce qui ne représente pas une différence significative ($p = 0,3382$). En revanche, le taux de réalisation de drug testing pour cette catégorie de patients était de 91,6% contre 69,2% pour l'ensemble des patients, ce qui est significativement différent ($p = 0,0171$). Cela s'explique par une richesse plus importante

des échantillons biologiques dans cette catégorie avec un nombre médian de 47,7 millions de cellules (IIQ = 81,7 [98,1-16,4]) contre 20 millions de cellules (IIQ = 51,2 [60-8,8]) pour l'ensemble des échantillons biologiques reçus à la rechute/maladie réfractaire.

2. Comparaison de la faisabilité du drug testing ex vivo au diagnostic et en cas de rechute ou de maladie réfractaire

La proportion de patients pour lesquels un échantillon biologique a été adressé et/ou qualifié au diagnostic et à la rechute/maladie réfractaire est détaillée dans le **Tableau 11**.

	Echantillon qualifié	Echantillon adressé, non qualifié	Echantillon non adressé
Groupe « inclus au diagnostic » N = 365 patients	169 (46,3%)	62 (17,0%)	134 (36,7%)
Groupe « rechute ou maladie réfractaire » N = 131 patients	63 (48,1%)	28 (21,4%)	40 (30,5%)
p-value	p = 0,8371	p = 0,4777	p = 0,4495

Tableau 11 : Comparaison de la répartition des échantillons biologiques non adressés, adressés et qualifiés au sein des groupes « inclus à la rechute » et « maladie réfractaire ou rechute ».

Il n'y a pas de différence significative en ce qui concerne la proportion de patients ayant bénéficié d'une demande et/ou d'une réalisation de drug testing entre diagnostic et rechute/maladie réfractaire. De la même manière, la proportion de succès de technique est comparable entre les 2 groupes (cf **Tableau 12**). En revanche, davantage de molécules ont pu être testées sur les échantillons du diagnostic avec une médiane de 19 molécules (IIQ = 8,5 [20-11,5]) contre 11 (IIQ = 14 [19-5]) sur les échantillons de rechute/maladie réfractaire (cf **Figure 22**). Cela s'explique par un nombre médian de 113 millions de cellules (IIQ = 209,3 [257-47,7]) dans les échantillons du diagnostic contre 20 millions de cellules (IIQ = 81,5 [93,9-12,4]) dans les échantillons de la rechute/maladie réfractaire.

	« DT réalisé au diagnostic » N = 169 patients	« DT réalisé à la rechute ou maladie réfractaire » N = 63 patients	p-value
Succès	161 (95,3%)	61 (96,8%)	p = 0.9793
Echec	8 (4,7%)	2 (3,2%)	

Tableau 12 : Comparaison du taux de succès de drug testing entre diagnostic et rechute/maladie réfractaire.

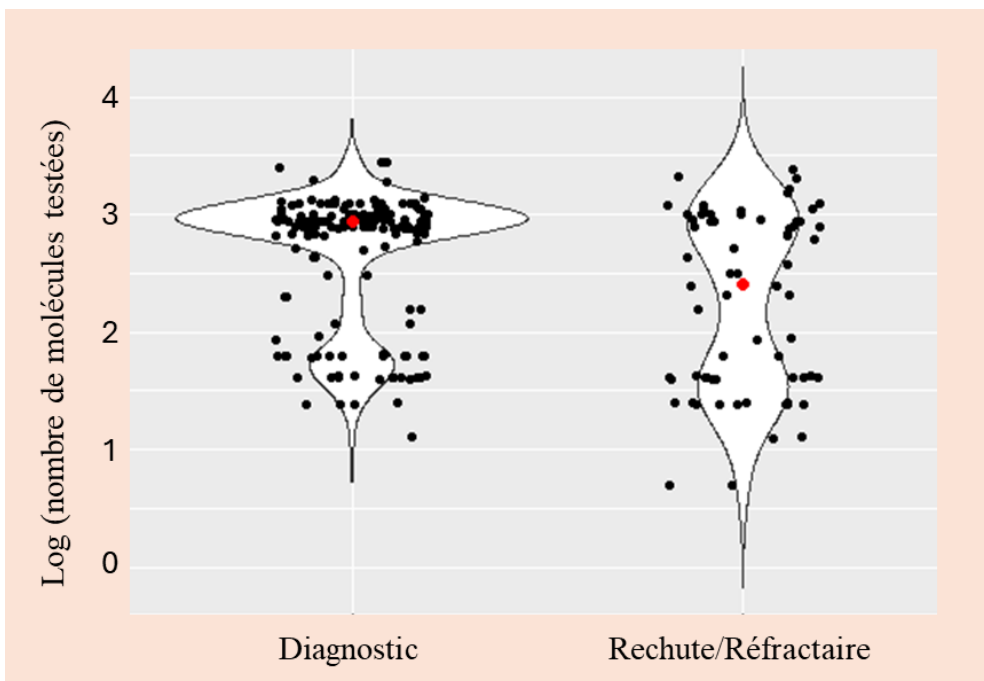


Figure 22 : Comparaison du nombre de molécules testées par patient au diagnostic et à la rechute/maladie réfractaire.

Significativement plus de patients ont eu moins de 5 molécules testées à la rechute/maladie réfractaire (n=6 ; 21,3%) par rapport au diagnostic (n=13 ; 3,7%) (p < 0,001). A l'inverse, significativement plus de patients ont eu 15 à 24 molécules testées au diagnostic (n=109 ; 67,7%) par rapport à la rechute/maladie réfractaire (n=23 ; 37,7%) (p = 0,0035).

3. Répétition du drug testing ex vivo au cours du suivi

Pendant leur participation au projet CONECT-AML, 111 patients ont reçu plusieurs lignes thérapeutiques. Parmi ces derniers, on retrouve 87 patients inclus au diagnostic ayant rechuté, 14 patients inclus au diagnostic réfractaires à la 1^{ère} ligne thérapeutique, 8 patients inclus à la rechute ayant rechuté une 2^{nde} fois et 2 patients inclus à la rechute réfractaires à la 2^{ème} ligne thérapeutique. Au total, 50 patients (45%) ont bénéficié de plusieurs demandes de drug testing au cours de leur suivi et 30 d'entre eux, de plusieurs réalisations de technique. Les autres patients n'ont eu qu'une seule demande de drug testing pour 72,1% d'entre eux et aucune demande pour 27,9% d'entre eux. Parmi les 44 patients n'ayant eu qu'une seule demande, 30 ont obtenu une réalisation de technique.

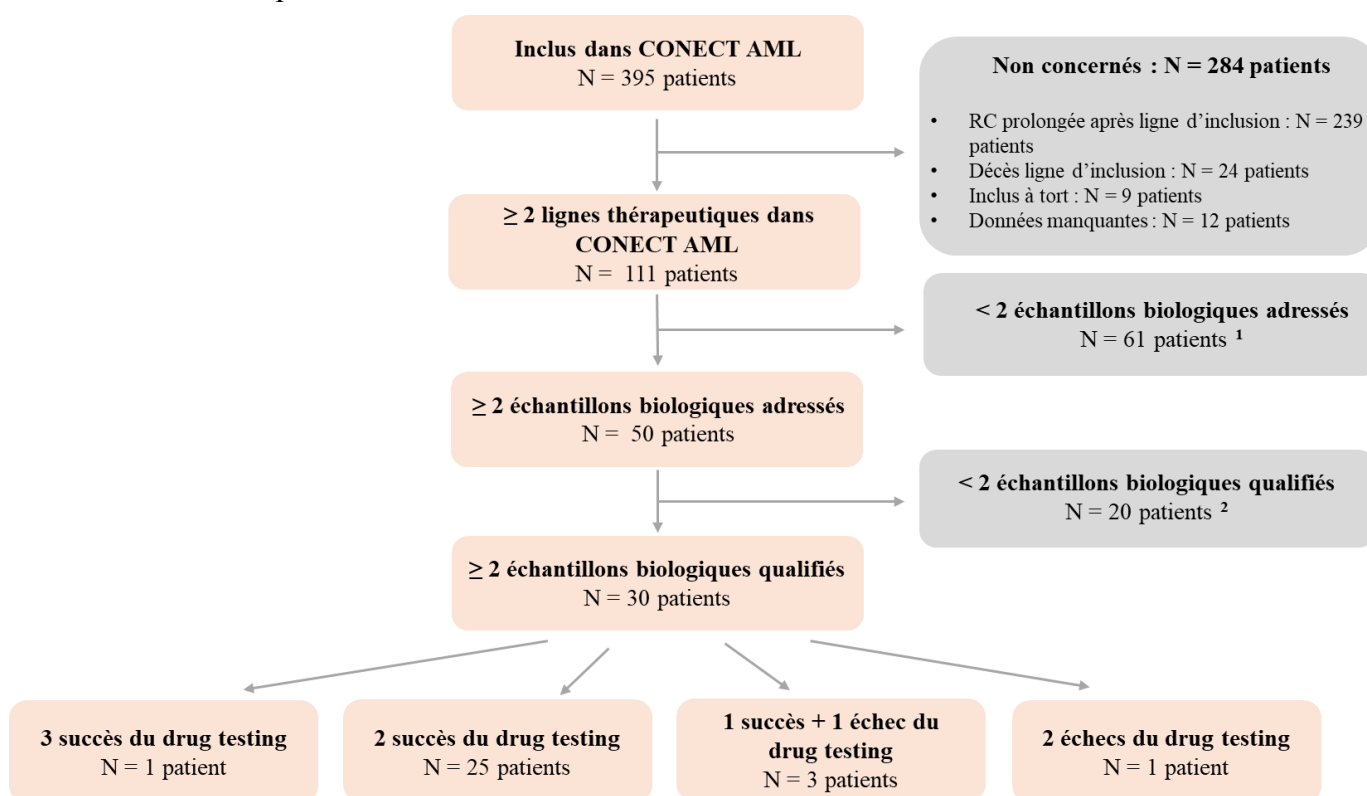


Figure 23 : Flow chart de répétition du drug testing ex vivo au cours du suivi.

1 : Aucune demande de drug testing pour 17 patients, une demande de drug testing sans réalisation de technique pour 14 patients, une demande de drug testing avec réalisation de technique pour 30 patients.

2 : Deux demandes de drug testing dont une sans réalisation de technique pour 18 patients, deux demandes sans réalisation de technique pour 2 patients.

Parmi les 26 patients ayant bénéficié de minimum 2 drug testing au cours de leur suivi, 23 ont eu un succès de drug testing au diagnostic et à la rechute. La **Figure 24** compare le profil global (toutes drogues confondues) au diagnostic et à la rechute de 20 patients/23. A noter que le profil de rechute des 3 derniers patients n'est actuellement pas disponible car réalisation très récente du drug testing.

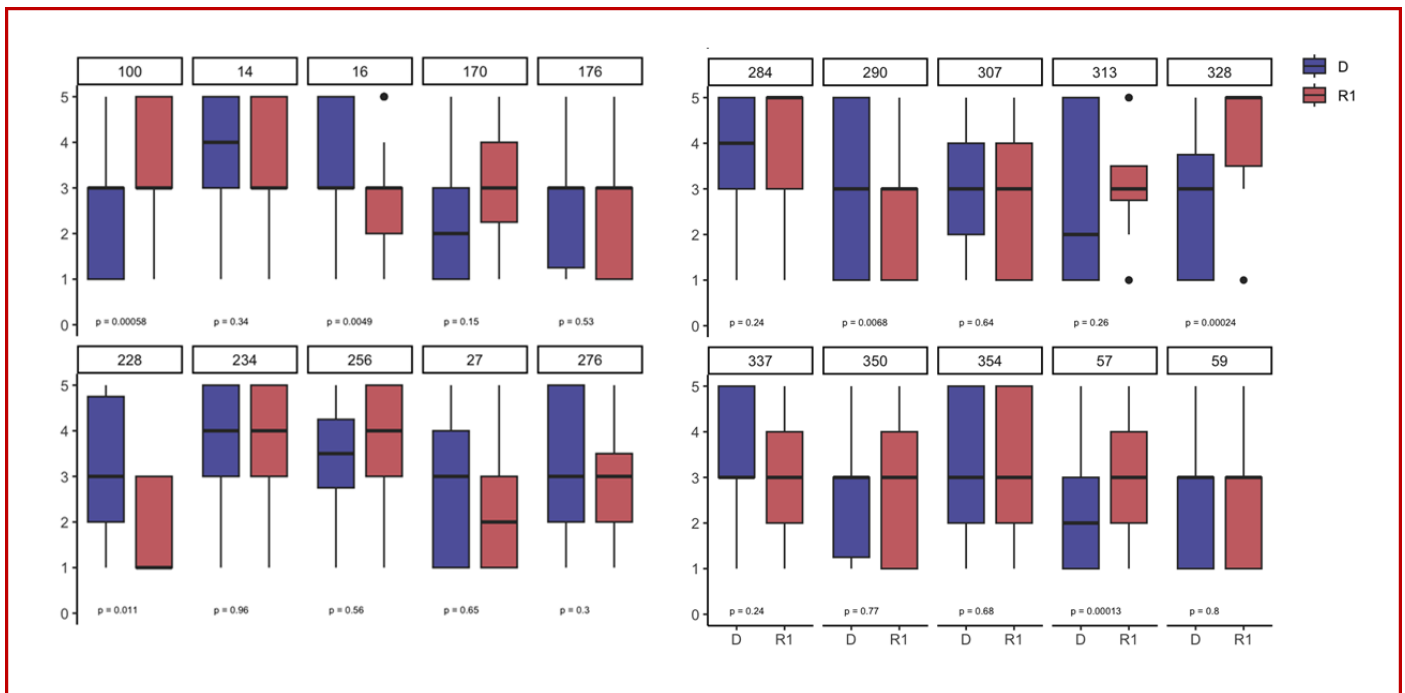


Figure 24 : Boîtes à moustaches comparant le profil de sensibilité/résistance global de 20 patients au diagnostic et à la rechute.

D : Diagnostic ; **R1 :** 1^{ère} rechute. Le paramètre étudié est l’AUC.

Graduations de 1 à 5 correspondant au score de résistance établi par comparaison des valeurs de l’AUC du patient à celles d’une cohorte. Plus la boîte à moustaches se situe près du 1, plus le profil global du patient est très sensible ; plus la boîte à moustaches se situe près du 5, plus le profil global du patient est très résistant.

Il n’y a pas de différence significative entre le profil global du diagnostic et de la rechute pour 14 patients (70%). En revanche, le profil global est significativement plus résistant à la rechute pour 3 patients (n°57, 100 et 328) et significativement plus sensible à la rechute pour 3 patients (n°16, 228 et 290). La **Figure 25** compare les profils de résistance par molécule testée au diagnostic et à la rechute, tous patients confondus.

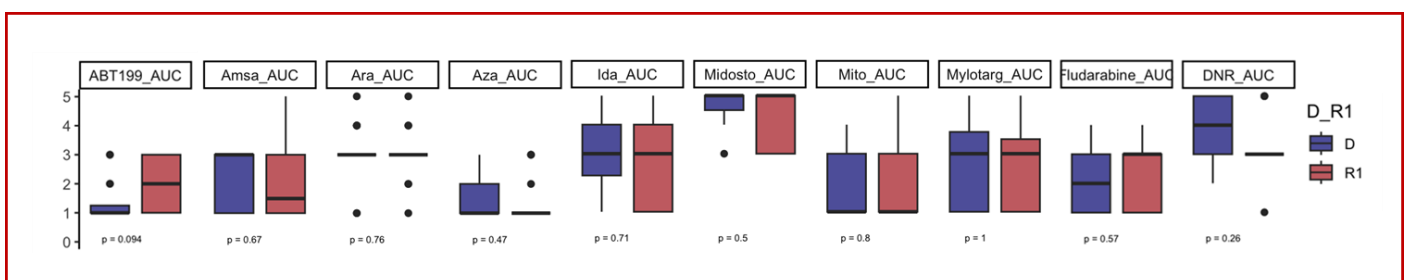


Figure 25 : Boîtes à moustaches comparant le profil de sensibilité/résistance au diagnostic et à la rechute par molécule testée, tous patients confondus, selon l’AUC (n = 20 patients).

D : Diagnostic ; **R1 :** 1^{ère} rechute ; **ABT199** = Venetoclax ; **Amsa** = Amsacrine ; **Ara** = Aracytine ; **Aza** = Azacitidine ; **Ida** = Idarubicine ; **Midosto** = Midostaurine ; **Mito** = Mitoxantrone ; **Mylotarg** = Gemtuzumab-Ozogamicine ; **DNR** = Daunorubicine.

Graduations de 1 à 5 correspondant au score de résistance établi par comparaison des valeurs d’AUC des patients testés à celles d’une cohorte. Plus la boîte à moustaches se situe près du 1, plus les patients testés sont très sensibles à la molécule ; plus la boîte à moustaches se situe près du 5, plus les patients testés sont très résistants à la molécule.

Il n'y a pas d'évolution significative du profil de sensibilité/résistance entre diagnostic et rechute vis-à-vis des molécules représentées sur la **Figure 25**. Les profils complets de sensibilité/résistance des 20 patients sont détaillés en **Annexe**.

4. Communication et discussion des résultats du drug testing ex vivo

Parmi les 131 patients réfractaires ou en rechute, 88 (67,2%) ont obtenu au moins un succès de drug testing au cours de leur suivi. Les résultats du drug testing ont été rendus à l'investigateur principal de manière certaine pour 68 patients (77,3%). Les drug testing réalisés au diagnostic (n=50) ont été rendus à la rechute/maladie réfractaire pour 35 patients (70%), tandis que les drug testing réalisés à la rechute ont été rendus avec un délai médian de 13 jours par rapport au prélèvement du patient (IIQ = 11 [19,5-8,5]).

Les fiches RCP ont pu être consultées pour 69 patients (78,4%). Les résultats du drug testing apparaissent dans 56,5% des fiches RCP consultées.

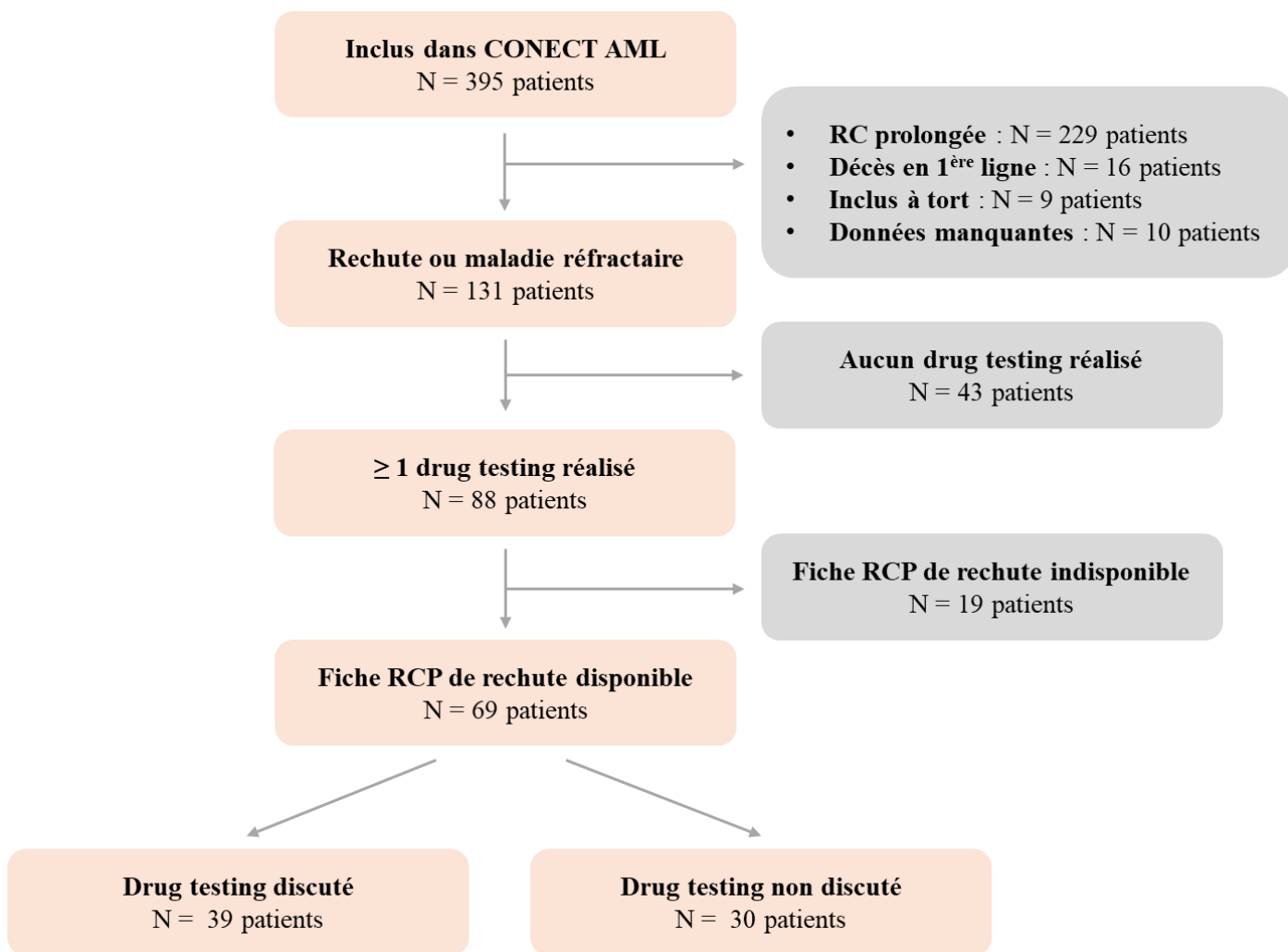


Figure 26 : Flow chart de discussion du drug testing ex vivo en RCP de rechute.

Dans les fiches RCP disponibles, le traitement choisi pour traiter la 1^{ère} rechute était précisé pour 66 patients. Les molécules les plus fréquemment choisies étaient : l'Aracytine (n = 42), la Fludarabine (n = 37), l'Idarubicine (n = 29), le Gemtuzumab-ozogamicine (n = 23), le Venetoclax (n = 20) et l'Azacitidine (n = 15). Le profil de sensibilité/résistance de ces molécules au moment de la rechute (n = 64 drug testing) est détaillé dans la **Figure 27**.

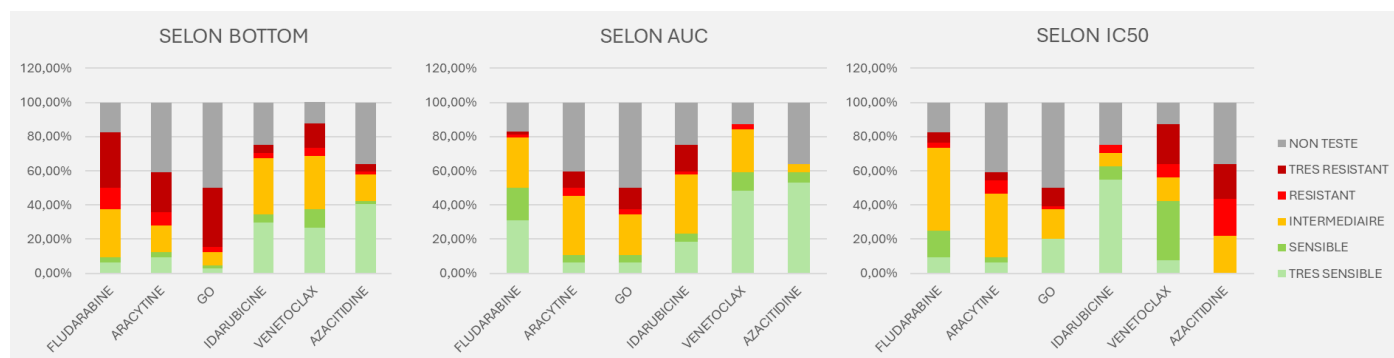


Figure 27: Répartition des profils de sensibilité/résistance aux principales options thérapeutiques de 1^{ère} rechute selon les 3 paramètres étudiés (AUC, Bottom et IC50).

*64 drug testing de rechute pour 60 patients.

On observe dans la **Figure 27**, des différences de répartition selon le paramètre étudié. En effet, aucun patient n'est sensible ou très sensible à l'Azacitidine selon l'IC50, contrairement à ce que l'on peut observer selon les 2 autres paramètres étudiés.

Parmi les 60 patients étudiés, 8 (13,3%) étaient classés dans le groupe de risque standard, 29 (48,3%) dans le groupe de risque intermédiaire et 20 (33,3%) dans le groupe de haut risque. Cette donnée était manquante pour les 3 derniers patients. La **Figure 28** précise la répartition des profils de sensibilité/résistance au sein de ces 3 groupes pronostiques.

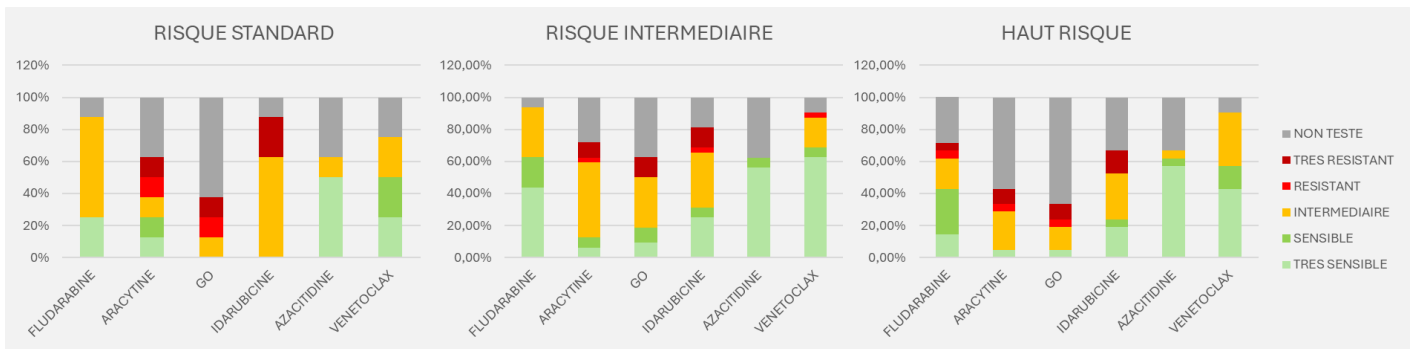


Figure 28 : Répartition des profils de sensibilité/résistance aux principales options thérapeutiques de 1^{ère} rechute en fonction du groupe pronostique.

Le paramètre étudié sur cette figure est l'AUC.

Enfin, parmi les 60 patients étudiés, 6 (10%) avaient une LAM à Core Binding Factor, 15 (25%) avaient un réarrangement de *MLL* (ou *KMT2A*) et 6 (10%) avaient une mutation *FLT3-ITD*. La **Figure 29** précise la répartition des profils de sensibilité/résistance au sein de ces 3 sous-groupes cytogénétiques et moléculaires.

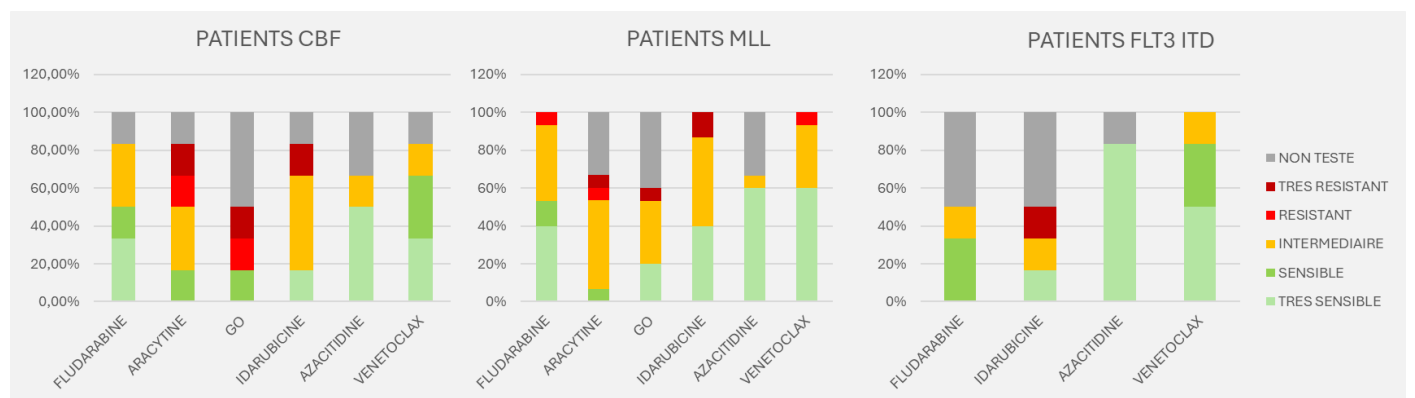


Figure 29 : Répartition des profils de sensibilité/résistance aux principales options thérapeutiques de 1^{ère} rechute en fonction du profil cytogénétique et moléculaire.

Le paramètre étudié sur cette figure est l'AUC.

CBF (Core Binding Factor) : *CBFB::MYH11* et *RUNX1::RUNX1T1*.

GO non testé chez les patients mutés *FLT3-ITD*.

DISCUSSION

1. Discussion globale

Le projet CONECT-AML a permis de montrer la faisabilité du drug testing ex vivo à grande échelle pour les LAM pédiatriques. En effet, plus de deux tiers des échantillons biologiques reçus étaient d'une qualité suffisante pour l'analyse, avec un taux de succès de technique d'environ 95 %. La faisabilité était identique que ce soit en première ligne, en rechute, ou en cas de maladie réfractaire, et ce pour tous les sous-groupes cytologiques et moléculaires, à l'exception des LAM7 qui étaient sous-représentées. Les myélogrammes des LAM7 sont en effet souvent difficiles à aspirer en raison de la myélofibrose associée. Par ailleurs, le délai de rendu des résultats relativement court (en moyenne 13 jours pour les DT de rechute) est compatible avec une décision de traitement précoce.

L'acheminement plus rapide des échantillons biologiques pourrait permettre d'augmenter la proportion d'échantillons qualifiés. En effet, la dégradation de la viabilité cellulaire est intimement corrélée au délai d'acheminement des prélèvements. Dans le cadre de CONECT-AML, les prélèvements étaient d'abord envoyés aux laboratoires référents MyeChild01 pour servir en priorité au diagnostic, puis étaient transférés vers les différentes équipes de recherche, ce qui a pu entraîner des délais d'acheminement allongés et in fine des échantillons de moins bonne qualité. Il est intéressant de noter que le nombre médian de molécules testées était significativement plus important au diagnostic qu'en cas de rechute ou de maladie réfractaire. Cela s'explique par un nombre médian de cellules plus important dans les échantillons biologiques du diagnostic comparativement à ceux de la rechute, probablement en lien avec une proportion plus importante de moelles pauciblastiques, ou simplement avec MRD positive chez les patients réfractaires ou en rechute.

Un grand nombre de patients a bénéficié d'un drug testing au diagnostic, sans que les résultats soient communiqués aux cliniciens. L'intérêt et la place de ce drug testing au moment du diagnostic restent encore à établir. Actuellement, il est impossible de savoir si cet outil pourrait constituer un élément prédictif de la chimiosensibilité de la leucémie au traitement de première ligne, ou si le profil de résistance pourrait constituer un facteur pronostic indépendant. L'intégration des données de CONECT-AML et de MyeChild01, qui seront communiquées prochainement, permettront d'avancer sur cette question en explorant la corrélation entre les profils du drug testing au diagnostic, les critères pronostiques de stratification et le devenir des patients.

L'analyse de l'évolution du profil de sensibilité entre le diagnostic et la rechute, qui a pu être réalisée chez uniquement 20 patients, a montré une variabilité notable. Certains profils étaient proches, tandis que d'autres présentaient des évolutions significatives. Ceci souligne l'intérêt de réitérer le drug testing au moment de la rechute. Le nombre médian plus faible de drogues testées en rechute intensifie l'intérêt d'un acheminement rapide et d'un dialogue précoce entre les cliniciens et l'équipe de recherche afin d'adapter la liste des drogues testées et d'envisager rapidement, si nécessaire, un second prélèvement.

En situation de première rechute ou de maladie réfractaire, la grande majorité des patients de CONECT-AML a été traitée par des associations médicamenteuses comprenant 6 molécules principales : Fludarabine, Aracytine, Idarubicine, Gemtuzumab-ozogamicine, Azacitidine et Venetoclax. Le traitement de 2nde ligne, actuellement bien codifié, diffère donc peu entre les patients. Bien que discuté lors des RCP de 1^{ère} rechute dans la moitié des cas, le drug testing ne semble pas avoir eu de véritable impact sur la décision thérapeutique. Son intérêt est plus important lorsque les options de traitement sont moins standardisées, c'est-à-dire à partir de la 3^{ème} ligne thérapeutique.

2. Limites de l'étude

Dans le cadre de CONECT-AML, le profil de sensibilité/résistance a été établi en monothérapie pour tous les patients. Or, les protocoles thérapeutiques actuels exploitent le potentiel synergique des molécules pour accroître leur efficacité. Les résultats des drug testing en monothérapie ne reflètent donc pas précisément les conditions de traitement in vivo. Il est possible que certains patients aient un profil de sensibilité ex vivo plus favorable à une association médicamenteuse, plutôt qu'à 2 molécules distinctes. Cet aspect n'a pas été évalué dans cette étude, mais des combinaisons médicamenteuses sont depuis peu utilisées par le Dr Meyling Cheok et son équipe.

Une autre limite actuelle concerne l'interprétation des résultats du drug testing qui se base sur les 3 paramètres suivants : AUC, Bottom et IC50. Les valeurs de ces 3 paramètres sont comparées à celles d'une cohorte de patients. Or, comme nous l'avons vu, il y a parfois des discordances entre paramètres. Certaines molécules apparaissent ainsi sensibles pour un paramètre et résistantes pour un autre. Nous avons notamment identifié une surestimation possible du Bottom en cas de taux lymphocytaire important dans l'échantillon biologique testé. De plus, il n'y a pas de corrélation établie entre les résultats ex vivo de la cohorte comparative et la réponse clinique de ces patients.

Enfin, les résultats des drug testing étaient rendus à l'investigateur principal uniquement pour les patients réfractaires ou en rechute. Pour environ ¼ des patients, il n'y a pas de preuve formelle de la communication des résultats. Des améliorations sont donc nécessaires en termes de traçabilité. Par ailleurs, afin d'avoir une idée plus précise de l'impact thérapeutique potentiel du drug testing, il est crucial d'évaluer la communication secondaire des résultats aux cliniciens en charge des patients, ce qui n'a pas été fait dans cette étude.

3. Perspectives

La validation d'un paramètre ou d'une combinaison de paramètres pour prédire la résistance thérapeutique aux différentes molécules testées est essentielle pour communiquer des résultats fiables aux cliniciens et ainsi

les aider à élaborer une stratégie thérapeutique efficace en cas de rechute ou de maladie réfractaire. Pour cela, il est nécessaire d'évaluer la corrélation indépendante ou combinée des 3 paramètres actuellement utilisés avec la réponse clinique des patients. Les seuils actuellement définis pour classer les molécules de très sensible à très résistant doivent également être validés pour chaque molécule en mono ou bithérapie. Des données fiables permettront également de comparer les profils établis au diagnostic avec ceux de la rechute pour les 23 patients concernés dans notre étude, et d'ainsi déterminer l'impact du traitement sur l'acquisition de résistance par les cellules blastiques.

Au-delà de l'aspect strictement prédictif de la réponse thérapeutique, le drug testing ex vivo pourrait avoir d'autres intérêts. A l'instar des techniques de cytogénétique et de biologie moléculaire, il pourrait hypothétiquement servir de facteur pronostique indépendant et avoir un impact sur la stratification thérapeutique initiale. Il est en effet plausible de penser qu'un patient présentant un profil de résistance ex vivo défavorable au diagnostic ait un risque de rechute plus élevé qu'un patient affichant un profil favorable. D'autre part, il serait pertinent de comparer les différents profils ex vivo des patients afin de mettre éventuellement en évidence des clusters de résistance. Cela permettrait de déterminer si les profils de résistance sont semblables au sein des différents sous-types moléculaires et cytogénétiques.

Ces différentes perspectives nécessitent d'évaluer la corrélation entre les résultats du drug testing ex vivo et la réponse clinique des patients à la fois en 1^{ère} ligne et en 2^{ème} ligne thérapeutique. Cette évaluation sera prochainement possible, lorsque les données des 245 patients (62%) inclus dans l'essai randomisé de phase III MyeChild01 seront communiquées et accessibles. Par ailleurs, une application innovante, appelée Breeze 2.0, a récemment été développée pour faciliter l'interprétation des données complexes issues du drug testing. Cet outil prometteur ne requiert pas de compétence spécifique en programmation et permet de comparer les réponses médicamenteuses de plusieurs échantillons afin d'identifier des tendances, des variations et des anomalies au sein des données brutes. Le recours à ce type d'application semble indispensable pour développer le drug testing à grande échelle et standardiser les résultats.

4. Conclusion

Les résultats de notre étude indiquent que la réalisation du drug testing est faisable dans le cadre de la prise en charge des LAM pédiatriques. Les contraintes en termes de prélèvement, de conditionnement, d'acheminement et de technique sont peu nombreuses. Malgré tout, des ajustements sont nécessaires avant de pouvoir l'appliquer en clinique.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (1) Institut national du cancer. Panorama des cancers en France – Édition 2023. 2023 9p.
- (2) Girard S. La leucémie aigüe myéloïde pédiatrique, une entité clinico-biologique ? Revue Francophone des Laboratoires. 2023 (551) 40-51. doi: 10.1016/S1773-035X(23)00083-7.
- (3) Petit A, et al. Maintenance Therapy With Interleukin-2 for Childhood AML: Results of ELAM02 Phase III Randomized Trial. *Hemasphere*. 2018 Nov 29;2(6):e159. doi: 10.1097/HS9.000000000000159. PMID: 31723797; PMCID: PMC6745961.
- (4) Pérel Y, Plantaz D. *Cancérologie de l'enfant*. Issy-les-Moulineaux : Elsevier Masson; 2017.
- (5) Reinhardt D, et al. Pediatric Acute Myeloid Leukemia-Past, Present, and Future. *J Clin Med*. 2022 Jan 19;11(3):504. doi: 10.3390/jcm11030504. PMID: 35159956; PMCID: PMC8837075.
- (6) Bennett JM, et al. Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group. *Br J Haematol*. 1976 Aug;33(4):451-8. doi: 10.1111/j.1365-2141.1976.tb03563.x. PMID: 188440.
- (7) Rieu JB. *Cytologie des hémopathies malignes 2e édition*. Arcueil : John Libbey Eurotext; 2024.
- (8) Khoury JD, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms. *Leukemia*. 2022 Jul;36(7):1703-1719. doi: 10.1038/s41375-022-01613-1. Epub 2022 Jun 22. PMID: 35732831; PMCID: PMC9252913.
- (9) Tosic N, et al. Pediatric acute myeloid leukemia: Insight into genetic landscape and novel targeted approaches. *Biochem Pharmacol*. 2023 Sep;215:115705. doi: 10.1016/j.bcp.2023.115705. Epub 2023 Jul 31. PMID: 37532055.
- (10) De Rooij JD, et al. Pediatric AML: From Biology to Clinical Management. *J Clin Med*. 2015 Jan 9;4(1):127-49. doi: 10.3390/jcm4010127. PMID: 26237023; PMCID: PMC4470244.
- (11) Valerio DG, et al. Mapping epigenetic regulator gene mutations in cytogenetically normal pediatric acute myeloid leukemia. *Haematologica*. 2014 Aug;99(8):e130-2. doi: 10.3324/haematol.2013.094565. Epub 2014 May 9. PMID: 24816242; PMCID: PMC4116843.

- (12) Luquet I, et al. Place de la cytogénétique dans la prise en charge des leucémies aiguës myéloïdes : actualisation par le Groupe francophone de cytogénétique hématologique (GFCH). *Annales de Biologie Clinique*. 2016;74(5):535-546. doi:10.1684/abc.2016.1155.
- (13) Quessada J, et al. Cytogenetics of Pediatric Acute Myeloid Leukemia: A Review of the Current Knowledge. *Genes (Basel)*. 2021 Jun 17;12(6):924. doi: 10.3390/genes12060924. PMID: 34204358; PMCID: PMC8233729.
- (14) Marzac C. Maladie résiduelle et LAM. *Horizons Héματο-2013 03 (01)* 11-13.
- (15) Preudhomme C, et al. Maladie résiduelle dans les leucémies aiguës myéloïdes : aspects biologiques. *Hématologie*. 2020 26 (1) 5-18. doi:10.1684/hma.2020.1521.
- (16) Alloin AL, et al. Cytogenetics and outcome of allogeneic transplantation in first remission of acute myeloid leukemia: the French pediatric experience. *Bone Marrow Transplant*. 2017 Apr;52(4):516-521. doi: 10.1038/bmt.2016.293. Epub 2016 Dec 12. PMID: 27941778.
- (17) Rasche M, et al. Survival Following Relapse in Children with Acute Myeloid Leukemia: A Report from AML-BFM and COG. *Cancers (Basel)*. 2021 May 12;13(10):2336. doi: 10.3390/cancers13102336. PMID: 34066095; PMCID: PMC8151466.
- (18) Aladjidi N, et al. Outcome in children with relapsed acute myeloid leukemia after initial treatment with the French Leucemie Aigue Myeloide Enfant (LAME) 89/91 protocol of the French Society of Pediatric Hematology and Immunology. *J Clin Oncol*. 2003 Dec 1;21(23):4377-85. doi: 10.1200/JCO.2003.11.066. PMID: 14645428.
- (19) Rasche M, et al. Second Relapse of Pediatric Patients with Acute Myeloid Leukemia: A Report on Current Treatment Strategies and Outcome of the AML-BFM Study Group. *Cancers (Basel)*. 2021 Feb 14;13(4):789. doi: 10.3390/cancers13040789. PMID: 33672815; PMCID: PMC7918758.
- (20) Kaspers GJ, 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 Feb 10;31(5):599-607. doi: 10.1200/JCO.2012.43.7384. Epub 2013 Jan 14. PMID: 23319696.

- (21) Dhunpath C, et al. Single-dose (4.5 mg/m²) gemtuzumab ozogamicin in combination with fludarabine, cytarabine and anthracycline as reinduction therapy in relapsed or refractory paediatric acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol.* 2022 Jul;198(2):373-381. doi: 10.1111/bjh.18203. Epub 2022 Apr 19. PMID: 35438187.
- (22) Egan G, et al. Relapsed pediatric acute myeloid leukaemia: state-of-the-art in 2023. *Haematologica.* 2023 Sep 1;108(9):2275-2288. doi: 10.3324/haematol.2022.281106. PMID: 36861399; PMCID: PMC10483345.
- (23) Lancet JE, et al. CPX-351 (cytarabine and daunorubicin) Liposome for Injection Versus Conventional Cytarabine Plus Daunorubicin in Older Patients With Newly Diagnosed Secondary Acute Myeloid Leukemia. *J Clin Oncol.* 2018 Sep 10;36(26):2684-2692. doi: 10.1200/JCO.2017.77.6112. Epub 2018 Jul 19. PMID: 30024784; PMCID: PMC6127025.
- (24) Cooper TM, et al. Phase I/II Study of CPX-351 Followed by Fludarabine, Cytarabine, and Granulocyte-Colony Stimulating Factor for Children With Relapsed Acute Myeloid Leukemia: A Report From the Children's Oncology Group. *J Clin Oncol.* 2020 Jul 1;38(19):2170-2177. doi: 10.1200/JCO.19.03306. Epub 2020 May 13. PMID: 32401633; PMCID: PMC7325367.
- (25) Kim HP, et al. Liposomal encapsulation of a synergistic molar ratio of cytarabine and daunorubicin enhances selective toxicity for acute myeloid leukemia progenitors as compared to analogous normal hematopoietic cells. *Exp Hematol.* 2011 Jul;39(7):741-50. doi: 10.1016/j.exphem.2011.04.001. Epub 2011 Apr 9. PMID: 21530609.
- (26) Tardi P, et al. In vivo maintenance of synergistic cytarabine:daunorubicin ratios greatly enhances therapeutic efficacy. *Leuk Res.* 2009 Jan;33(1):129-39. doi: 10.1016/j.leukres.2008.06.028. Epub 2008 Aug 3. PMID: 18676016.
- (27) Obszański P, et al. Molecular-Targeted Therapy of Pediatric Acute Myeloid Leukemia. *Molecules.* 2022 Jun 18;27(12):3911. doi: 10.3390/molecules27123911. PMID: 35745032; PMCID: PMC9230975.
- (28) Zhao JC, et al. A review of FLT3 inhibitors in acute myeloid leukemia. *Blood Rev.* 2022 Mar;52:100905. doi: 10.1016/j.blre.2021.100905. Epub 2021 Nov 3. PMID: 34774343; PMCID: PMC9846716.

- (29) Pommert L, et al. The evolution of targeted therapy in pediatric AML: gemtuzumab ozogamicin, FLT3/IDH/BCL2 inhibitors, and other therapies. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2022 Dec 9;2022(1):603-610. doi: 10.1182/hematology.2022000358. PMID: 36485125; PMCID: PMC9819987.
- (30) Pollard JA, et al. Sorafenib in Combination With Standard Chemotherapy for Children With High Allelic Ratio FLT3/ITD+ Acute Myeloid Leukemia: A Report From the Children's Oncology Group Protocol AAML1031. *J Clin Oncol*. 2022 Jun 20;40(18):2023-2035. doi: 10.1200/JCO.21.01612. Epub 2022 Mar 29. PMID: 35349331; PMCID: PMC9197362.
- (31) DiNardo CD, et al. Azacitidine and Venetoclax in Previously Untreated Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med*. 2020 Aug 13;383(7):617-629. doi: 10.1056/NEJMoa2012971. PMID: 32786187.
- (32) Karol SE, et al. Venetoclax in combination with cytarabine with or without idarubicin in children with relapsed or refractory acute myeloid leukaemia: a phase 1, dose-escalation study. *Lancet Oncol*. 2020 Apr;21(4):551-560. doi: 10.1016/S1470-2045(20)30060-7. Epub 2020 Mar 11. PMID: 32171069; PMCID: PMC7153631.
- (33) Niswander LM, et al. Clinical responses in pediatric patients with relapsed/refractory leukemia treated with azacitidine and venetoclax. *Haematologica*. 2023 Nov 1;108(11):3142-3147. doi: 10.3324/haematol.2022.282637. PMID: 37021525; PMCID: PMC10620590.
- (34) Winters AC, et al. Single-center pediatric experience with venetoclax and azacitidine as treatment for myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia. *Pediatr Blood Cancer*. 2020 Oct;67(10):e28398. doi: 10.1002/pbc.28398. Epub 2020 Jul 31. PMID: 32735397.
- (35) Karol SE, et al. Safety, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of panobinostat in children, adolescents, and young adults with relapsed acute myeloid leukemia. *Cancer*. 2020 Nov 1;126(21):4800-4805. doi: 10.1002/cncr.33156. Epub 2020 Aug 18. PMID: 32809242; PMCID: PMC7722063.
- (36) Van Tilburg CM, et al. Phase I/II intra-patient dose escalation study of vorinostat in children with relapsed solid tumor, lymphoma, or leukemia. *Clin Epigenetics*. 2019 Dec 10;11(1):188. doi: 10.1186/s13148-019-0775-1. PMID: 31823832; PMCID: PMC6902473.

- (37) Candoni A, et al. A 2024 Update on Menin Inhibitors. A New Class of Target Agents against KMT2A-Rearranged and NPM1-Mutated Acute Myeloid Leukemia. *Hematol Rep.* 2024 Apr 18;16(2):244-254. doi: 10.3390/hematolrep16020024. PMID: 38651453; PMCID: PMC11036224.
- (38) Thomas X. Small Molecule Menin Inhibitors: Novel Therapeutic Agents Targeting Acute Myeloid Leukemia with KMT2A Rearrangement or NPM1 Mutation. *Oncol Ther.* 2024 Mar;12(1):57-72. doi: 10.1007/s40487-024-00262-x. Epub 2024 Feb 1. PMID: 38300432; PMCID: PMC10881917.
- (39) Issa GC, et al. The menin inhibitor revumenib in KMT2A-rearranged or NPM1-mutant leukaemia. *Nature.* 2023 Mar;615(7954):920-924. doi: 10.1038/s41586-023-05812-3. Epub 2023 Mar 15. PMID: 36922593; PMCID: PMC10060155.
- (40) Meshinchi S, et al. Anti-Leukemic Activity of STRO-002 a Novel Folate Receptor- α (FR- α)-Targeting ADC in Relapsed/Refractory CBF2AT3-GLIS2 AML. *Blood* 2022; 140 (Supplement 1): 159–161. doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2022-162842>.
- (41) Tabata R, et al. Emerging Immunotherapy for Acute Myeloid Leukemia. *Int J Mol Sci.* 2021 Feb 16;22(4):1944. doi: 10.3390/ijms22041944. PMID: 33669431; PMCID: PMC7920435.
- (42) Zhang M, et al. DNA demethylation in PD-1 gene promoter induced by 5-azacytidine activates PD-1 expression on Molt-4 cells. *Cell Immunol.* 2011;271(2):450-4. doi: 10.1016/j.cellimm.2011.08.014. Epub 2011 Aug 23. PMID: 21907333.
- (43) Collignon A, et al. A chemogenomic approach to identify personalized therapy for patients with relapse or refractory acute myeloid leukemia: results of a prospective feasibility study. *Blood Cancer J.* 2020 Jun 3;10(6):64. doi: 10.1038/s41408-020-0330-5. PMID: 32488055; PMCID: PMC7266815.
- (44) Cucchi DGJ, et al. Ex vivo cultures and drug testing of primary acute myeloid leukemia samples: Current techniques and implications for experimental design and outcome. *Drug Resist Updat.* 2020 Dec;53:100730. doi: 10.1016/j.drug.2020.100730. Epub 2020 Oct 10. PMID: 33096284.
- (45) Swords RT, et al. Ex-vivo sensitivity profiling to guide clinical decision making in acute myeloid leukemia: A pilot study. *Leuk Res.* 2018 Jan;64:34-41. doi: 10.1016/j.leukres.2017.11.008. Epub 2017 Nov 11. PMID: 29175379; PMCID: PMC5756519.
- (46) Strachan DC, et al. Ex Vivo Drug Sensitivity Correlates with Clinical Response and Supports Personalized Therapy in Pediatric AML. *Cancers (Basel).* 2022 Dec 18;14(24):6240. doi: 10.3390/cancers14246240. PMID: 36551725; PMCID: PMC9777060.

ANNEXE

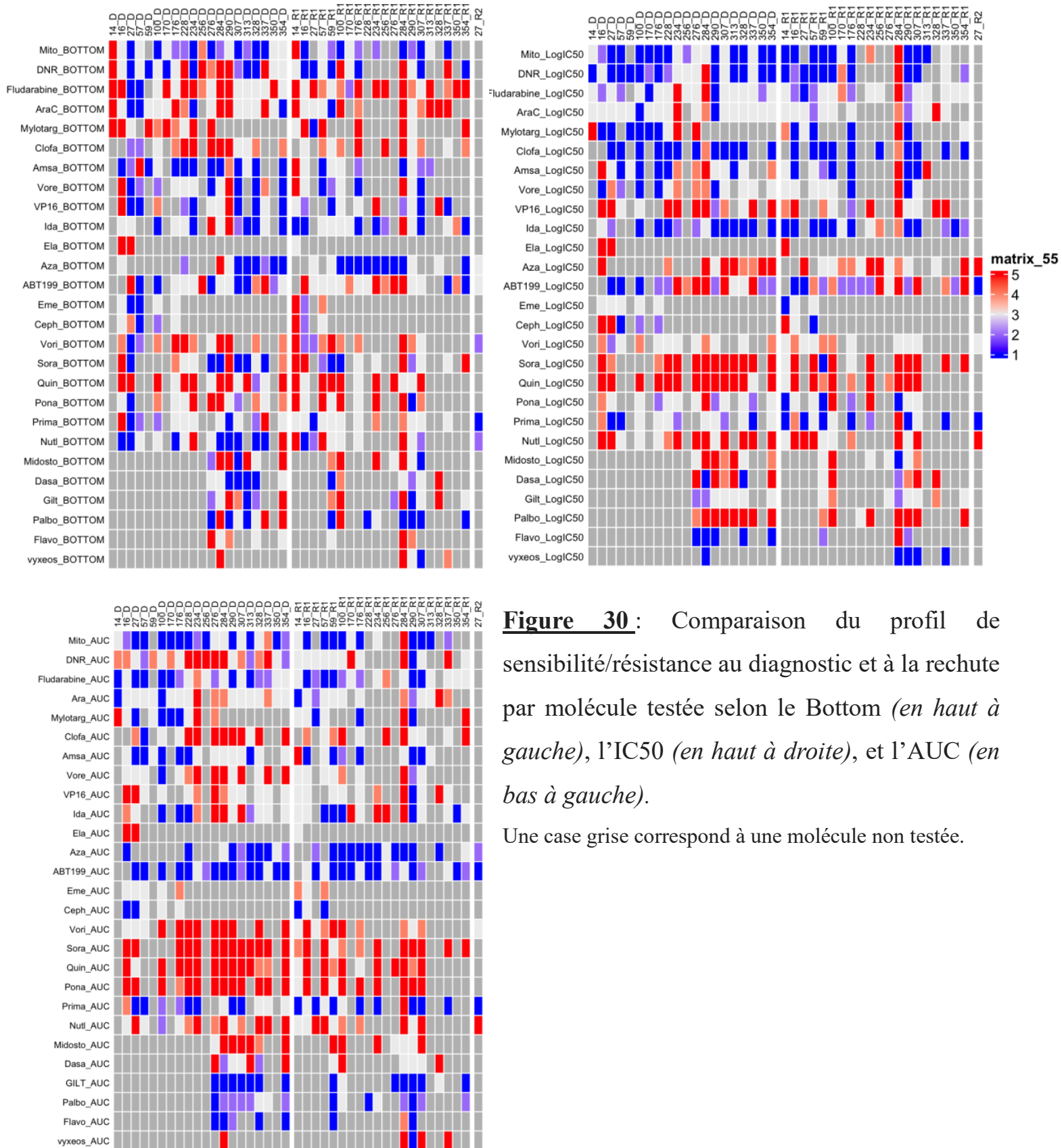


Figure 30 : Comparaison du profil de sensibilité/résistance au diagnostic et à la rechute par molécule testée selon le Bottom (*en haut à gauche*), l'IC50 (*en haut à droite*), et l'AUC (*en bas à gauche*).

Une case grise correspond à une molécule non testée.

RESUME

Malgré des avancées thérapeutiques majeures au cours des dernières décennies, 30 à 40% des patients pédiatriques atteints de leucémie aigüe myéloïde (LAM) rechutent, avec une survie globale à 5 ans de seulement 40%. Dans un objectif de stratégie thérapeutique personnalisée pour ces patients en rechute ou réfractaires, il s'avère donc primordial de mieux définir l'utilité potentielle des médicaments anticancéreux actuellement disponibles. Plusieurs modèles expérimentaux tels que le drug testing ex vivo permettent d'étudier la sensibilité des cellules leucémiques à ces nouveaux agents anticancéreux.

L'objectif de ce travail était d'étudier la faisabilité du drug testing ex vivo à la fois au diagnostic et en cas de rechute ou de maladie réfractaire chez les participants du projet CONECT-AML. Dans le cadre de ce projet, ancillaire de l'essai randomisé européen de phase III MyeChild01, les échantillons biologiques non utilisés à des fins diagnostiques, étaient adressés à différentes équipes de recherche dont celle du Dr Meyling Cheok, pour réalisation d'un drug testing ex vivo.

Au total, 395 patients ont été inclus dans CONECT-AML entre mars 2018 et juillet 2023. 338 échantillons biologiques ont été adressés pour drug testing ex vivo, dont 238 (70,4%) de qualité suffisante pour réaliser la technique. Le taux de succès de la technique, de 95%, était équivalent entre diagnostic et rechute/maladie réfractaire. In fine, 200 patients (50,6%) inclus dans CONECT-AML ont obtenu au moins un succès de technique et la répétition du drug testing a été possible pour 26 patients. Enfin, le nombre médian de molécules testées était significativement supérieur au diagnostic par rapport à la rechute/maladie réfractaire.

Les résultats de notre étude indiquent que la réalisation du drug testing est faisable dans le cadre de la prise en charge des LAM pédiatriques. Malgré tout, des ajustements sont nécessaires avant de pouvoir l'appliquer en clinique.

❖ **Mots clés** : leucémie aigüe myéloïde, pédiatrique, drug testing, ex vivo, rechute, réfractaire.