

**UNIVERSITE MOHAMMED V
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE -RABAT-**

ANNEE: 2009

THESE N°: 15

Resultats du traitement des leucemies aigues myeloblastiques de l'enfant
par
le protocole national aml-ma 03
(serie de l'hôpital d'enfants de rabat)

THESE

Présentée et soutenue publiquement le :.....

PAR

Mlle Meriem AZAOUIOUI

Née le 16 Avril 1982 à Rabat

Médecin Interne du CHU Ibn Sina Rabat

Pour l'Obtention du Doctorat en Médecine

MOTS CLES: Leucémie aiguë myéloblastique – Enfant – Chimiothérapie – Rémission complète.

JURY

Mr. M. KHATTAB

Professeur de Pédiatrie

PRESIDENT &

RAPPORTEUR

Mr. M. BENKIRANE

Professeur d'Hémo-Biologie

Mr. M. EL KHORASSANI

Professeur de Pédiatrie

Mr. A. MASRAR

Professeur Agrégé d'Hémo-Biologie

JUGES

Remerciements

A

Notre maître, Président et Rapporteur de thèse

Monsieur le Professeur M. KHATTAB

Professeur de Pédiatrie

*Toute ma gratitude pour votre appui,
enthousiasme et vos précieux
conseils.*

*Veillez trouver dans ce travail le
témoignage de ma grande
considération.*

A

Notre Maître et Juge de thèse

Monsieur Le Professeur M. EL KHOURASSANI

Professeur de Pédiatrie

*Vous nous avez bien honoré en
acceptant de juger ce modeste
travail.*

*Veillez agréer, cher maître,
l'expression de notre respect et
profonde reconnaissance.*

A

Notre Maître et Juge de thèse

Monsieur Le Professeur M. BENKIRANE

Professeur d'Héмато-biologie

C'est un grand honneur pour nous de vous voir siéger parmi les membres de notre jury.

Veillez, cher maître, recevoir ce travail en témoignage de notre profonde considération.

A

Notre Maître et Juge de thèse

Monsieur Le Professeur A. MASRAR

Professeur d'Héματο-biologie

Nous vous remercions de ce grand honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail.

Permettez nous de vous offrir ce travail en témoignage de notre sincère reconnaissance

A

Dr M. ELKABABRI

Professeur Assistant en Pédiatre

*Votre collaboration m'a été d'une
grande utilité.*

*J'ai tant apprécié votre sympathie et
rigueur le long de ce travail.*

*Merci pour tout ce que vous avez fait
pour moi.*

Dr M. BAHJI

Professeur Assistant en Hémato-Biologie

*Votre soutien a considérablement
contribué à la réalisation de ce
travail.*

Je vous exprime mes remerciements les plus sincères.

A

Mes parents Abdeltif et Naima

Je vous offre ce travail en témoignage de tous les sacrifices et de l'immense tendresse dont vous m'avez comblé. Avec mes souhaits de longue vie pleine d'amour, de bonheur et de santé.

Mon frère Mehdi

Je te souhaite beaucoup de chance et de courage dans ta vie estudiantine. Que dieu te garde et te protège.

Mes grands-mères

mes Tantes, mes Oncles et mes Cousins et Cousines.

PLAN

Liste des abréviations.....	11
Introduction.....	12
Rappel sur les LAM chez l'enfant.....	15
Protocole AML-MA 03.....	27
1- Traitement de pré-induction.....	28
2- Traitement d'induction.....	28
2-1 <i>Première Induction</i>	28
2-2 <i>Cure d'intensification</i>	29
2-3 <i>Deuxième Induction</i>	30
3- Traitement de consolidation.....	30
4- Traitement des localisations méningées.....	31
Notre étude.....	33
1- Matériel et méthodes.....	34
1.1 <i>Critères d'inclusion</i>	34
1.2 <i>Critères d'exclusion</i>	34
1.3 <i>Bilan initial</i>	35
1.4 <i>Validité de l'étude</i>	36
1.4.1 <i>Biais affectant la validité interne</i>	37
1.4.2 <i>Biais affectant la validité externe</i>	37
1.5 <i>Statistique</i>	38
2. Résultats.....	39

2.1	<i>Répartition selon l'âge</i>	39
2.2	<i>Répartition selon le sexe</i>	40
2.3	<i>Répartition selon le niveau socio-économique</i>	40
2.4	<i>Répartition selon les antécédents</i>	41
2.5	<i>Répartition selon le motif de consultation</i>	42
2.6	<i>Répartition selon les données hémato-biologiques</i>	43
2.6.1	<i>Hémogramme</i>	43
	a) <i>Taux des globules blancs</i>	43
	b) <i>Blastes circulants</i>	44
	c) <i>Taux d'hémoglobine</i>	45
	d) <i>Taux de plaquettes</i>	45
2.6.2	<i>Myélogramme</i>	46
2.6.3	<i>Cytogénétique</i>	47
2.7	<i>Autres données paracliniques</i>	48
2.8	<i>Résultats lors de la première phase du traitement</i>	50
2.9	<i>Résultats lors de la deuxième phase du traitement</i>	51
2.9.1	<i>Intensification</i>	51
2.9.2	<i>Deuxième induction</i>	52
2.10	<i>Résultats après les deux cures de chimiothérapie</i>	53
2.11	<i>Résultats lors de la consolidation</i>	56
2.11.1	<i>Première consolidation</i>	56
2.11.2	<i>Deuxième consolidation</i>	57
2.12	<i>Résultats globaux jusqu'à la date point</i>	58
2.13	<i>Toxicité de la chimiothérapie</i>	62
2.14	<i>Etude de la survie de nos patients</i>	63
2.14.1	<i>Courbe de survie sans récurrence</i>	63
2.14.2	<i>Etude du taux de rémission complète et de la survie en fonction des facteurs pronostiques</i>	64

a) <i>Age</i>	64
b) <i>Taux de globules blancs</i>	65
c) <i>Type de LAM</i>	66
d) <i>Taux des blastes après l'induction</i>	67
e) <i>Caryotype</i>	68
Discussion	69
1. <i>Analyse des caractéristiques de nos patients</i>	70
2. <i>Analyse du taux de rémission complète et du taux de survie</i>	73
3. <i>Toxicité de la chimiothérapie</i>	95
4. <i>Les différents protocoles de chimiothérapie</i>	96
4.1 <i>Soins complémentaires ou « supportive care »</i>	97
4.2 <i>Le traitement d'induction</i>	102
4.3 <i>Le traitement de consolidation</i>	103
4.4 <i>La chimiothérapie d'entretien</i>	104
4.5 <i>Irradiation cérébrale prophylactique</i>	104
5. <i>Perspectives au MAROC</i>	109
5.1 <i>Greffe de moelle osseuse</i>	109
5.2 <i>Thérapie ciblée</i>	113
Conclusion	121
Résumés	124
Bibliographie	131

Liste des abréviations

ADCC : Cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps	LAM : Leucémie aigue myéloïde
AGM : Autogreffe de moelle osseuse	LMC : Leucémie myéloïde chronique
BAALC: Brain and acute leukemia cytoplasmic	MGG : May-Grünwald-Giemsa
BOM : Biopsie ostéo-médullaire	MPO : Myéloperoxydase
CBF: Core Binding Factor	mTOR : Mammalian target of rapamycin
CIVD : Coagulopathie intravasculaire disséminée	MVO : Maladie veino-occlusive
CSH : Cellules souches hématopoïétiques	NaF : Fluorure de sodium
CSP : Cellules souches hématopoïétiques dites périphériques	OG : Gemtuzumab ozogamicine
EFS : Survie sans événement (Event free survival)	PCR : Polymerase chain reaction
FAB : Classification franco-américano-britannique	PDF : Produits de dégradation du fibrinogène
GEGMO : Groupe d'études de la greffe de moelle osseuse	PDGF: Platelet derived growth factor
GMO : Greffe de la moelle osseuse	Pgp : P-glycoprotéine
GST: Glutathione S-transferase theta	PDV: Perdu de vue
GVHD : Graft versus host disease	RC : Rémission complète
GVL : Graft versus leukemia	RCC : Rémission complète continue
HDAC : Les inhibiteurs des histones désacétylases	RT : Transcription inverse
HSV : Herpes simplex virus	SAHA: Acide suberoylanilide hydroxamic
HVG : Host versus graft	SDL : Syndrome de leucostase
LAL : Leucémie aigue lymphoblastique	SNC : Système nerveux central
	TCA: Temps de cépaline activé
	TGF- β : Transforming growth factor
	TP: Taux de prothrombine
	WT1: Gène Wilms' tumor

Introduction

La leucémie aiguë myéloïde (LAM) se définit comme une prolifération maligne clonale à point de départ médullaire, de cellules myéloïdes immatures et bloquées à un stade précoce de leur différenciation (blastes), responsable d'un syndrome d'insuffisance médullaire et/ou d'un syndrome tumoral [1]. Les LA représentent 30 à 35 % des cancers de l'enfant, dont les LAM constituent 15 à 20 % [2]. D'importants progrès ont été réalisés ces deux dernières décades dans le traitement des LAM chez l'enfant mais ils restent modestes, en particulier par rapport aux leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL). Le taux de rémission complète est environ de 85 % et le taux de survie prolongée sans rechute à 5 ans est proche de 50 % [3,4].

Dans le service de PIIB (service d'Hématologie et Oncologie Pédiatrique du CHU de Rabat), on distingue 3 périodes dans la prise en charge des LAM [5]:

La 1^{ère} : utilisait un traitement palliatif à base de purinethol en continu plus ou moins d'autres produits.

La 2^{ème} : utilisait le protocole LAM-90 de la société française d'hématologie (groupe Saint louis) qui a donné un faible taux de rémission complète (RC) de 25 % et une survie globale chez moins de 5 % des malades.

La 3^{ème} : mise au point d'un protocole adapté au service, appelé protocole VIC, moins agressif et plus efficace, utilisant les 4 principales drogues de LAM (cytosine-arabinoside, idarubicine, etoposide et 6- Mercaptopurine). L'étude de ce protocole a montré une RC dans 60 % des cas, une survie à 4ans dans 8 % des cas et l'importance de l'aracytine à haute dose dans la consolidation.

Ces résultats restent inférieurs par rapport à ceux de la littérature. C'est pour cela qu'un nouveau protocole thérapeutique utilisant une chimiothérapie d'induction « Standard » a été mis en place.

L'objectif général de cette étude consiste à évaluer les résultats thérapeutiques et la tolérance de ce nouveau protocole national (AML-MA 03). L'étude de faisabilité de cette nouvelle stratégie thérapeutique a été menée pour montrer la tolérance sans pour autant augmenter le risque de toxicité hématologique avec même une amélioration des résultats thérapeutiques. Il tend à vérifier les hypothèses suivantes :

- Le nouveau protocole du traitement de la LAM permettrait d'obtenir un taux de rémission complète au moins de 70 % après la fin de l'induction. Le taux de RC sera considéré après les 2 cures d'induction ou après intensification.
- Le taux de mortalité avant et pendant l'induction serait réduit à 10 % sous le nouveau protocole de traitement de LAM.
- Le taux de survie sans événement (EFS) à 5 ans serait amélioré à 40 % pour tous les patients sous le nouveau protocole de traitement des LAM.

Les retombées d'un tel projet auront des impacts pratiques, l'acquisition d'un savoir faire et d'une performance dans la prise en charge et la stratégie thérapeutique de cette hémopathie maligne. Une des retombées principales serait l'amélioration de la qualité des soins et de la réanimation hématologique. Ce protocole a été réalisé en collaboration avec le service d'hématologie et d'Oncologie Pédiatrique de Casablanca et sous la supervision de Dr Raul Ribeiro (Hémo-Oncologue Pédiatre et directeur du Programme International de Collaboration avec les Pays en voie de Développement à Memphis (USA)).

Rappel sur les LAM chez l'enfant

Les LAM sont des hémopathies clonales dues à la transformation d'une cellule devenue capable de se multiplier indéfiniment et donnant naissance à un clone leucémique. Nos connaissances sur le mécanisme de transformation d'une cellule en un clone leucémique, bien qu'encore imparfaite, ont beaucoup progressé depuis quelques années et laissent penser que la maladie est en fait hétérogène regroupant plusieurs entités dont la sensibilité aux traitements est différente [6,7,8].

L'origine monoclonale de la maladie est démontrée depuis longtemps et reste exacte. En revanche, le modèle classique selon lequel l'état de différenciation de la cellule qui subit l'événement leucémogène détermine le phénotype, bien que didactiquement utile parce que simple, est probablement faux. Ce modèle suppose que, par exemple, la leucémie est myéloblastique lorsque c'est un myéloblaste de la moelle osseuse qui devient malin. Un grand nombre d'arguments expérimentaux et cliniques montre qu'il faut plusieurs étapes de leucémogénèse pour aboutir à une LAM. La cellule sur laquelle porte le premier événement leucémogénèse et dont dérive tout le clone malin est en fait une cellule souche indifférenciée de la moelle osseuse qui est capable d'auto-renouvellement. Cette cellule va subir, avant de devenir véritablement leucémique, au moins deux étapes de leucémogénèse (et probablement plus) qui sont classés en mutations de classe I et mutations de classe II. Les mutations de classe I aboutissent à une prolifération accrue ou à une inhibition de l'apoptose. Les mutations de classe II aboutissent à bloquer la cellule à un stade particulier de la différenciation, ce stade étant différent selon la mutation en cause. La conjonction des deux types de mutations aboutit à l'accumulation d'un clone malin bloqué à un stade donné de sa maturation, par exemple au stade myéloblastique. Les mutations de classe I correspondent à des mutations de gènes codant soit pour des récepteurs (KIT, FTL3), soit pour des protéines de transduction du signal RAS, ABL dans la t(9;22). Certaines de ces mutations ont un impact pronostic. Les mutations de classe II modifient les propriétés de régulation de la transcription de certaines protéines : CBF α (AML1) dans la t(8;21) des LAM2 ,

RAR α dans la t(15;17) des LAM3, MLL dans différentes translocations impliquant la bande 11q23 au cours des LAM5 par exemple (voir figure 1 et figure 2: modèle two hits). Aussi, certains facteurs ou affections prédisposants au développement des LAM ont été identifiés (tableau I).

La répartition des LAM est à peu près homogène dans tous les groupes d'âges avec une légère recrudescence au cours de l'adolescence et le pic d'incidence des LAL entre 2 et 7 ans n'existe pas. La forme promyélocytaire (LAM3) est exceptionnelle avant 2 ans, alors que les leucémies congénitales ou néonatales sont très souvent granuleuses de type myéloblastiques ou monoblastiques [9].

En ce qui concerne les circonstances de diagnostic, il n'y a pas de forme clinique typique de l'enfant. La seule forme clinique que l'on pourrait qualifier ainsi serait la forme très évoluée qui aboutirait à un tableau complet d'insuffisance médullaire et de prolifération tumorale. Les signes d'insuffisance médullaire comprennent un syndrome anémique fait d'asthénie, dyspnée d'effort, vertiges et pâleur cutanéomuqueuse; un syndrome infectieux fait de fièvre isolée, une infection persistante, angine ulcéro-nécrotique et de pneumopathie et enfin un syndrome hémorragique fait de purpura cutanéomuqueux, épistaxis, gingivorragie, bulle hémorragique, hémorragie digestive voire exceptionnellement d'hémorragie cérébro-méningée, très fréquent en cas de LAM3. Le syndrome tumoral, qui peut être le premier signe d'appel, est plus souvent important dans les LAM4 ou les LAM5 et habituellement absent dans les LAM3. Il associe une hépatomégalie et une splénomégalie. Une très volumineuse splénomégalie doit faire évoquer une leucémie myéloïde chronique (LMC) acutisée d'emblée. Une hépatomégalie importante peut exister chez le nourrisson atteint de LAM7, qui est due à une fibrose hépatique, associée à la fibrose médullaire, et secondaire à la sécrétion de facteurs fibrosants : TGF- β (transforming growth factor) et PDGF (platelet derived growth factor) par les mégacaryoblastes [10]. Des adénopathies superficielles ou profondes sont rares en dehors des LAM4 et LAM5. Elles sont symétriques, fermes, indolores, mobiles, et

peuvent toucher toutes les aires. On peut observer également un envahissement extra hématologique. Ainsi, l'infiltration gingivale est fréquente dans les LAM5. Les localisations cutanées (leucémides) sous forme de papules fermes voire dures, violacées, sont également plus fréquentes dans les LAM 5 et les LAM4 [11]. Une atteinte du système nerveux central, plus fréquente dans les LAM4, les LAM5 et les formes hyperleucocytaires, est le plus souvent asymptomatique. Les manifestations cliniques les plus fréquentes sont un syndrome méningé, une hypertension intracrânienne ou des signes focaux en cas de chlorome (tumeur blastique) à localisation paraméningée, orbitaire en particulier. Une fréquence plus élevée de chloromes a été signalée dans les LAM2 avec t(8;21) et chez les moins de 2 ans [12]. L'atteinte testiculaire initiale est très rare dans les LAM. L'atteinte osseuse est rare également en dehors des LAM7 où peut être observé un tableau d'images ostéolytiques disséminées sur le squelette [13]. Il peut également exister des manifestations liées au syndrome de leucostase: elles sont plus fréquentes que dans les LAL du fait de la plus grande taille et de la moindre déformabilité des blastes, en particulier dans les LAM4 et M5. Le syndrome de leucostase (SDL) s'observe dès que la leucocytose dépasse 100 000/mm³ et est particulièrement à redouter en cas de temps de doublement rapide. Le SDL associe leucostase pulmonaire : détresse respiratoire, hypoxie et aspect de pneumopathie alvéolo-interstitielle; leucostase cérébrale avec troubles de conscience, convulsions, ataxie, nystagmus, troubles sensoriels, signes focaux en cas de chlorome, et risque majeur d'hémorragie intracérébrale ; parfois nécroses périphériques (doigts) ou priapisme.

Le diagnostic positif est évoqué sur la numération formule sanguine où il existe typiquement une anémie normocytaire ou macrocytaire arégénérative, une thrombopénie, un taux variable de globules blancs avec une neutropénie et la présence ou non de blastes. Le myélogramme est indispensable pour confirmer le diagnostic et pour la classification cytologique des LAM. Il montre typiquement une moelle riche avec diminution des lignées cellulaires normales (granuleuse,

érythroïde et mégacaryocytaire), un infiltrat blastique souvent élevé (90 %). Il faut au moins 20 % de blastes pour poser le diagnostic de LAM selon la nouvelle classification de l’OMS [14]. Les blastes et les éléments de différenciation peuvent contenir des granulations anormales, mis en évidence par la coloration de May-Grünwald-Giemsa, comme les corps d’Auer, qui sont rares dans les LAM1, LAM4 ou LAM5. Ils sont fréquents dans les LAM2 et très nombreux (en fagots) dans les LAM3. La biopsie ostéo-médullaire (BOM) est rarement indiquée. Il s’agit principalement d’aspirations médullaires difficiles du fait de la présence d’une fibrose médullaire (essentiellement dans les LAM7) ou de moelle pauvre. La BOM s’impose alors pour permettre d’apprécier l’infiltration blastique et rechercher une éventuelle myélofibrose. L’étude cytochimique se fait sur les frottis sanguins et/ou médullaires. Elle recherche une activité enzymatique caractéristique de ces blastes. Dans les leucémies aiguës myéloblastiques, il s’agit de l’étude de la myéloperoxydase (MPO) qui confirme le caractère myéloïde des blastes par la mise en évidence de granulations positives. L’étude des estérases inhibées par le fluorure de sodium (NaF) confirme la présence d’un contingent monoblastique (M4 et M5). L’immunophénotypage des blastes se fait en utilisant des anticorps monoclonaux reconnaissant des antigènes de surface par une technique de cytométrie en flux. Les principaux marqueurs myéloïdes sont le CD13 et le CD33. L’intérêt de l’immunophénotypage dans les LAM est de différencier des LAM très immatures (M0) des LAL qui présentent des marqueurs lymphoïdes, et de confirmer le diagnostic de certaines LAM de diagnostic cytologique parfois difficile comme la LAM6 : positivité de la glycophorine A et la LAM7 : positivité des marqueurs mégacaryocytaires CD41, CD42 et CD61 [15,16]. Le phénotypage a beaucoup moins d’intérêt diagnostique dans les LAM que dans les LAL. L’étude du caryotype des blastes montre, dans 50 à 70 % des patients, des anomalies chromosomiques dont l’intérêt principal est le diagnostic précis ainsi que l’évaluation pronostique (voir Figure 3 et tableau II). Certaines anomalies cytogénétiques correspondent à des variétés cytologiques [17]: t(15;17) dans les LAM3, t(8;21) dans les LAM2,

inversion du 16 dans les LAM4 éosinophiles, t(9 ;11) dans les LAM4 et M5, anomalies des chromosomes 5 et/ou 7 dans les LAM chimio-induites. Les études en biologie moléculaire sont en plein développement et servent surtout au suivi thérapeutique. Ainsi, avec des techniques d'amplification génique par PCR, lorsqu'une anomalie correspondant à un remaniement génétique a été mise en évidence au diagnostic (translocation chromosomique impliquant des points de cassure clonés), il est possible de suivre l'évolution du clone leucémique non détectable par les techniques cytologiques, cytogénétiques ou immunologiques. La PCR permet en effet un seuil de détection de l'ordre d'une cellule leucémique au sein de 10^5 à 10^6 cellules normales. C'est ce qu'on appelle la maladie résiduelle minimale, qui est fortement corrélée au risque de récurrence.

Sur les critères morphologiques cités ci-dessus, une classification franco-américano-britannique a été établie (classification FAB) [18] (voir tableau III). Une autre classification des leucémies aiguës myéloblastiques proposée par l'OMS [19] (voir tableau IV) intègre aussi bien les données morphologiques, immunophénotypiques, génétiques et cliniques dans le but de définir des entités biologiquement homogènes et cliniquement pertinentes. Ainsi, on distingue quatre grandes catégories :

1-LAM avec anomalies génétiques récurrentes :

a- LAM avec translocation $t(8;21)(q22;q22)$: Elle représente 16 % des cas de LAM de l'enfant [20]. La translocation $t(8;21)(q22;q22)$ fusionne les gènes AML1 sur le chromosome 8 avec le gène ETO (chromosome 21), aboutissant à un transcrite chimérique AML1-ETO. AML1-ETO se comporte comme un inhibiteur dominant négatif du gène AML1 normal, qui code pour la sous-unité CBF α (Core Binding Factor α). CBF α , en s'hétérodimérisant avec la sous-unité CBF β (voir inversion du chromosome 16), forme le facteur de transcription CBF (Core Binding Factor), qui régule la transcription d'un grand nombre de gènes majeurs de la différenciation

hématopoïétique, comme l'IL-3, le GM-CSF, le récepteur au M-CSF et le TCR β . Sur le plan morphologique, il s'agit typiquement de LAM avec maturation (LAM2) particulière par l'aspect des blastes, le type de dysgranulopoïèse et l'absence de composante monocytaire.

b- LAM avec inversion du chromosome 16 *inv16(p13;q22)* ou translocation *t(16;16)(p13;q22)* : Elle représente 8 % des cas de LAM [20] chez l'enfant. L'inversion du chromosome 16 conduit à la juxtaposition des gènes CBF β (sous-unité β de CBF (voir t(8;21)) et SMMHC (chaîne lourde de la myosine du muscle lisse). La protéine de fusion CBF β -SMMHC qui en résulte, possède les mêmes propriétés que la protéine AML1-ETO, inhibant la fonction d'inducteur de la transcription des gènes cibles de l'hématopoïèse déjà évoqués plus haut. Il s'agit dans sa forme typique d'une leucémie aigue myéloïde avec composante monocytaire (leucémie aigue myélo-monocytaire ou LAMM) et une maturation éosinophile médullaire anormale (M4 Eo).

c- LAM promyélocytaire avec *t(15 ;17)(q22 ;q12)* et ses variantes : Elle représente 12 % des cas de LAM chez l'enfant [20]. Cette translocation résulte de la fusion du gène PML (promyelocytic leukemia, facteur de régulation nucléaire) sur le bras long du chromosome 15 et du gène RAR α (le récepteur alpha de l'acide rétinoïque) sur le bras long du chromosome 17. La translocation crée un gène de fusion, sous contrôle du promoteur de PML, et permet la synthèse d'une protéine de fusion PML/RAR α qui semble responsable du blocage de la différenciation caractéristique des LAM3. Ce groupe correspond à la leucémie aigue promyélocytaire (M3), dans sa forme typique ou dans sa forme variante hypogranulaire qui ne seront pas traités dans cette thèse.

d- LAM avec anomalies du gène *MLL (11q23)* : La présence d'anomalies en 11q23 est associée au remaniement génétique du MLL (Mixed lineage leukemia). La leucémie aigue myéloïde avec anomalies du gène MLL sur le bras long du chromosome 11(q23) représente 21 % des cas de LAM chez l'enfant [20]. Ce gène

est impliqué dans plus de 60 translocations différentes, avec un nombre très important de partenaires de fusion différents, compliquant fortement le diagnostic moléculaire. La présence de nombreux partenaires implique la réalisation d'examens lourds (Southern-blot), pour ne pas méconnaître un variant rare, ainsi que la duplication de MLL, également impliquée dans les LAM. L'analyse cytogénétique (hybridation in situ fluorescente = FISH), permet de détecter les anomalies de MLL dans un très grand nombre de cas. Il s'agit le plus souvent de LAM à différenciation monocyttaire (LAM5).

2) LAM avec signes de dysplasie touchant plusieurs lignées.

3) LAM secondaires à des thérapeutiques.

4) LAM autres, n'entrant pas dans les catégories précédentes.

Une fois le diagnostic de leucémie aiguë myéloblastique posé, d'autres examens doivent être réalisés en urgence avant de débiter le traitement : un groupage sanguin avec phénotypage complet et recherche d'agglutinines irrégulières en prévision des transfusions globulaires et plaquettaires; un bilan d'hémostase recherchant une coagulopathie de consommation (CIVD) et comportant : temps de Quick, temps de céphaline activé, dosage des cofacteurs II, V, VII et X, dosage du fibrinogène, recherche de complexes solubles et de produits de dégradation du fibrinogène (PDF) (une CIVD est constante dans les LAM3 et fréquente dans les LAM hyperleucocytaires); un ionogramme comportant une uricémie, créatininémie, urémie et transaminases et qui sont perturbés en cas de lyse tumorale; des sérologies des hépatites B et C; des prélèvements microbiologiques: hémocultures, ECBU, prélèvement de gorge et de tout foyer infectieux en cas de fièvre, coproculture si diarrhée, une radiographie pulmonaire systématique à l'entrée pour rechercher un foyer infectieux, une cardiomégalie pouvant témoigner d'une insuffisance cardiaque ou d'un poumon de leucostase et une échographie abdominale à la recherche d'un syndrome tumoral « infraclinique ». D'autres examens seront demandés en fonction de la présentation initiale (exemple: TDM en cas de chlorome orbitaire).

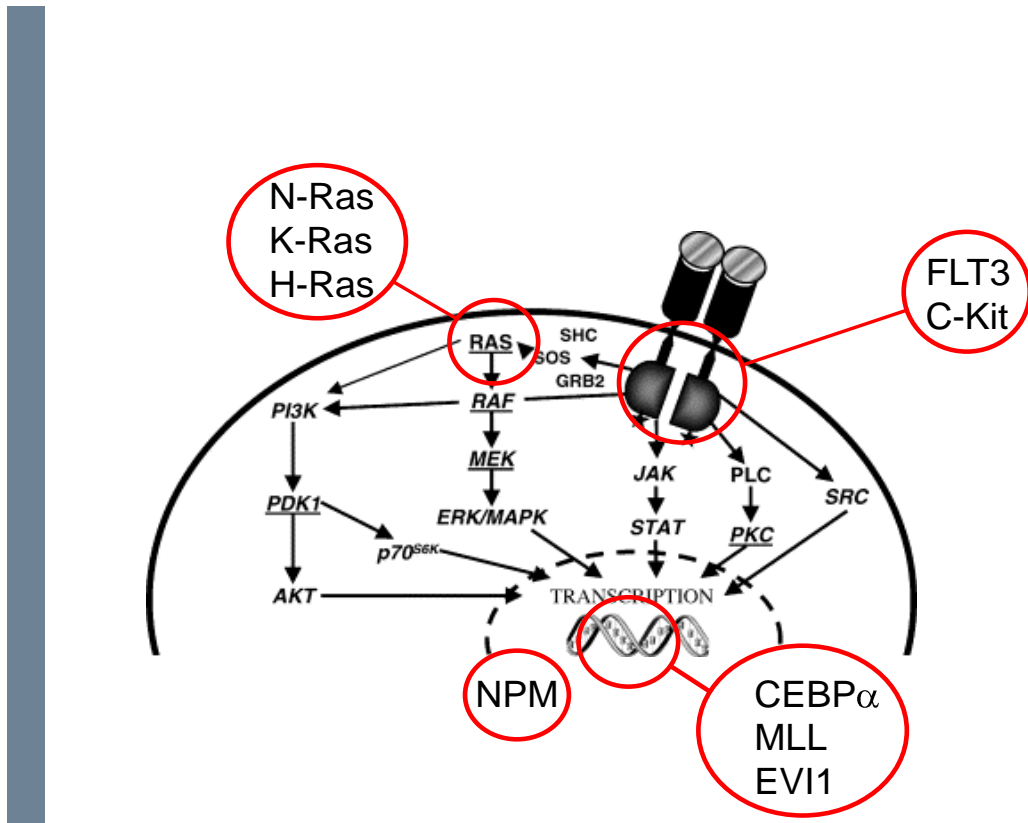


Figure 1: Anomalies moléculaires impliquées dans la leucémogénèse [21]

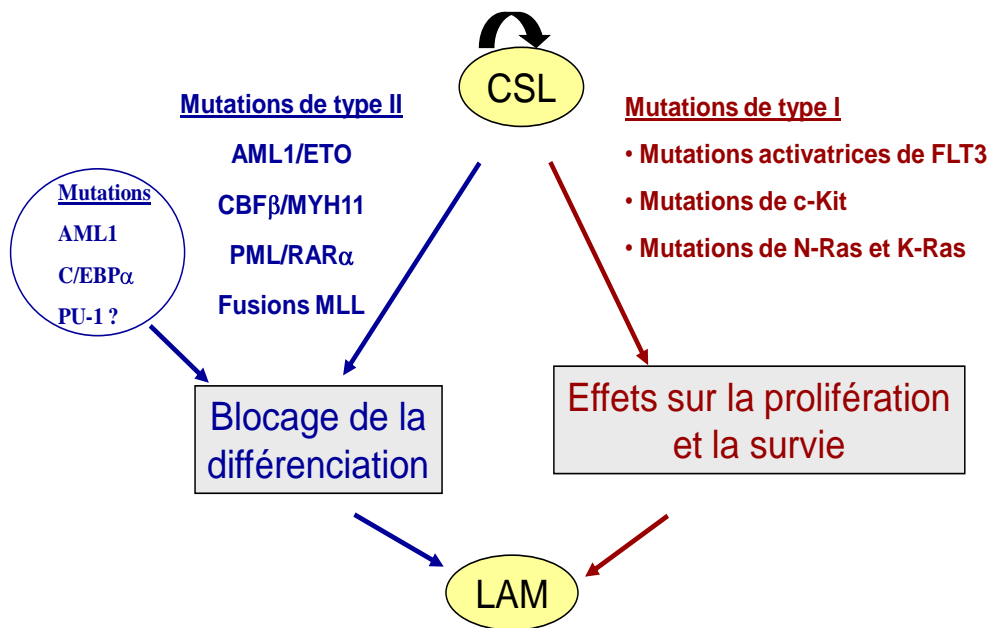


Figure 2 : Modèle two hits [21]

Tableau I : Les états et affections prédisposants à la survenue d'une LAM [9]

Anomalies chromosomiques constitutionnelles

- Trisomie 21
- Syndrome de Turner
- Syndrome de Klinefelter

Aplasie médullaire et cytopénie isolée

- Anémie de Fanconi
- Erythroblastopénie de Blackfan-Diamond
- Amégacaryocytaire constitutionnelle
- Agranulocytose constitutionnelle, maladie de Kostman
- Insuffisance pancréatique avec dysmyélopoïèse (syndrome de Shwachman Diamond)

Syndromes de cassure chromosomique

- Syndrome de Bloom
- Ataxie-télangiectasie
- Xéoderma-pigmentosum

Syndromes myélodysplasiques

Syndromes myéloprolifératifs

Déficits immunitaires

Radiothérapie et chimiothérapie anticancéreuse et antileucémique

Autres : neurofibromatose

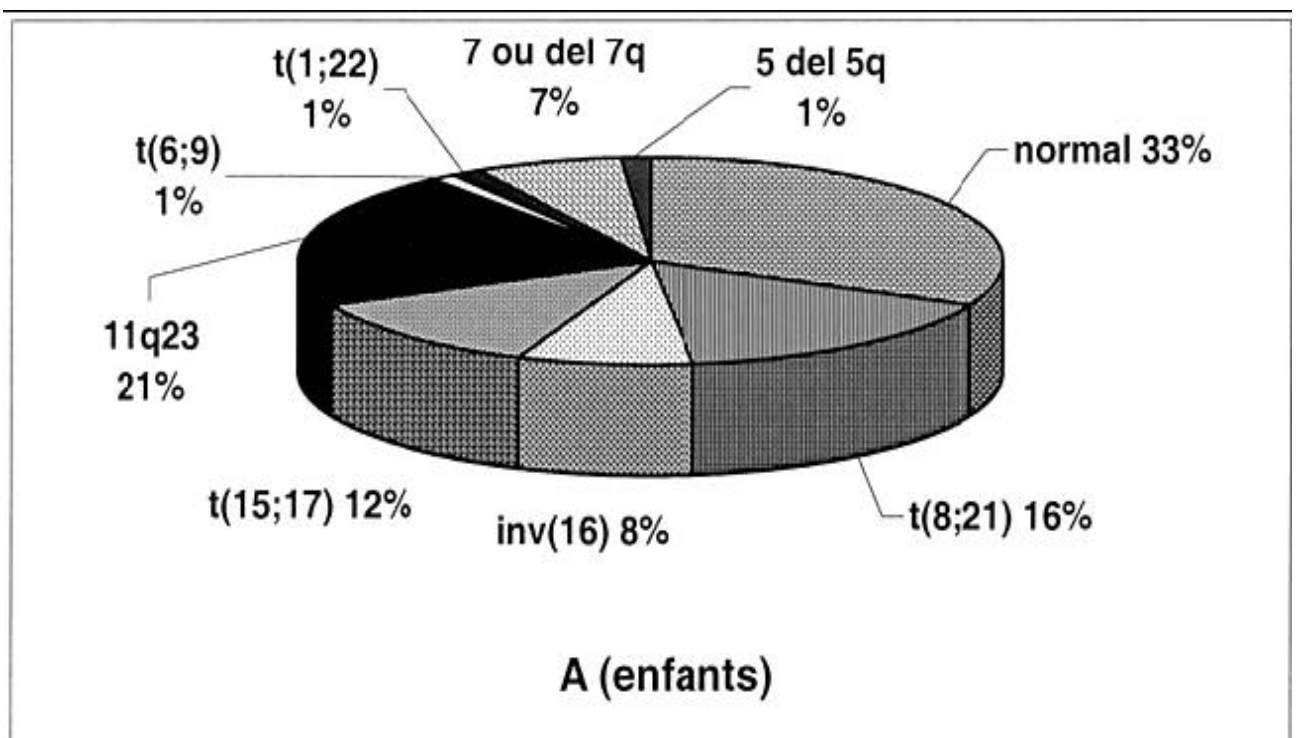


Figure 3 : Distribution comparative des anomalies cytogénétiques chez l'enfant [20]

Tableau II : Anomalies cytogénétiques chez l'enfant atteint de LAM [17]

Chromosome Abnormality	AML FAB Type	Affected Genes	Functions	Frequency (%)	Comments
t(8;21)(q22;q22)	M1, M2	ETO-AML1	Transcription factors	5–15	Auer rods common; chloromas
t(15;17)(q22;q12)	M3, M3v	PML-RARA	Transcription factor, hormone receptor	6–15	Coagulopathy; ATRA responsiveness
t(11;17)(q23;q12)	M3	PLZF-RARA	Transcription factor, hormone receptor	Rare	Coagulopathy; ATRA unresponsiveness
inv(16)(p13q22); tM4Eo (16;16)		MYH11-CBF?	Muscle protein, transcription factor	2–11	CNS leukemia; eosinophilia with basophilic granules
t(8;16)	M5b	MOZ-CBP	Transcription factors	1	Infants or young adults; high WBC count; chloromas; erythrophagocytosis; secondary leukemia after epipodophyllotoxins
t(9;11)(p22;q23)	M4, M5a	AF9-MLL	Homeodomain proteins	5–13	Infants or young adults; high WBC count; chloromas; erythrophagocytosis; secondary leukemia after epipodophyllotoxins
t(10;11)(p12;q23)	M5	AF10-MLL	Homeodomain proteins	Rare	Infants or young adults; high WBC count; chloromas; erythrophagocytosis; secondary leukemia after epipodophyllotoxins
t(11;17)(q23;q21)	M5	MLL-AF17	Homeodomain proteins	Rare	Infants or young adults; high WBC count; chloromas; erythrophagocytosis; secondary leukemia after epipodophyllotoxins
t(11q23)b	M4, M5	MLL, other partners	Homeodomain proteins	2–10	Infants; high WBC count, CNS and skin involvement; poor prognosis associated often associated with these, especially t(4;11)
t(1;22)	M7	RBM15-MKL1	RNA binding protein, DNA binding protein	2–3	M7 AML in infants with Down syndrome; myelofibrosis
t(6;9)	M2, M4, MDS	DEK-CAN	Transcription factor, nuclear protein	<1	Basophilia
inv(3)(q21;q26) t(3;3)(q21;q26)	M2, M4, MDS	EVI1	Transcription factor	<1	Prior MDS; thrombocytosis and abnormal platelets
-7/del(7)(q22-q36)	All subtypes, MDS	?	?	2–7	Toxic exposure; prior MDS; more common in older adults; bacterial infections common
-5/del(5)(q11-q35)	All subtypes, MDS	?	?	Rare	Toxic exposure; prior MDS; more common in older adults
+8	All subtypes	?	?	5–13	Prior MDS; older patients

AML, acute myelogenous leukemia; ATRA, all-trans-retinoic acid; CNS, central nervous system; FAB, French-American-British; MDS, myelodysplastic syndrome; WBC, white blood cell.

^aThis table is not a complete list of all chromosomal abnormalities associated with childhood AML but represents some of the more common abnormalities or those with important phenotypic characteristics. See text for references.

^b11q23 translocations involving the MLL gene have been shown to have many different fusion partners.

Tableau III : Classification FAB des leucémies myéloïdes aiguës [18]

LAM 0	Leucémie myéloïde aiguë indifférenciée
LAM 1	Leucémie myéloïde aiguë peu différenciée
LAM 2	Leucémie myéloïde aiguë différenciée
LAM 3	Leucémie myéloïde aiguë promyélocytaire
LAM 4	Leucémie myéloïde aiguë myélomonocytaire
LAM 5	Leucémie myéloïde aiguë monoblastique
LAM 6	Leucémie myéloïde aiguë érythroleucémie
LAM 7	Leucémie myéloïde aiguë mégacaryocytaire

Tableau IV : classification OMS des LAM [19]

<p>LAM avec translocations chromosomiques récurrentes</p> <ul style="list-style-type: none"> ● LAM avec t(8;21)(q22 ;q22), AML1(CBFα)-ETO ● LAM avec t(15;17)(q22 ;q11-12), PML/RARα et variantes ● LAM avec inv(16)(p13q22) ou t(16;16)(p13 ;q22), CBFβ/MYH11 ● LAM avec anomalies 11q23 (MLL)
<p>LAM avec myélodysplasie " multilignée "</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Avec antécédent de syndrome myélodysplasique ● Sans antécédent de syndrome myélodysplasique
<p>LAM et SMD " secondaires " à des thérapeutiques</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Après agent alkylant ● Après epipodophyllotoxine ● "secondaires" à d'autres traitements
<p>LAM n'entrant pas dans les catégories précédentes</p> <ul style="list-style-type: none"> ● LAM avec différenciation minimale (M0), ● LAM sans maturation (M1), ● LAM avec maturation (M2), ● LAM " promyélocytaire " (M3) ● LAM avec différenciation myélomonocytaire (M4), ● LAM monocytaire (M5), ● LAM avec différenciation érythroblastique (M6), ● LAM avec différenciation mégacaryocytaire (M7) ● LAM avec différenciation basophile, ● LAM avec myélofibrose ● LA biphénotypique

Protocole AML-MA 03

Le protocole AML-MA 03 est un protocole national de traitement des LAM, appliqué au CHU Ibn Sina à Rabat et au CHU Ibn Rochd à Casablanca depuis septembre 2003. Il a été établi en collaboration avec le département d'Hématologie-Oncologie Pédiatrique de l'hôpital St. Jude à Memphis (USA). Ce nouveau protocole inclue une cure d'induction visant à l'obtention d'une rémission complète (RC) puis un traitement de consolidation dont l'objectif est l'éradication de la maladie résiduelle. Les drogues utilisées sont la cytarabine (Aracytine), les inhibiteurs de topo-isomérase de type 2 (Daunorubicine) et la L-Asparginase.

1 - Le traitement de Pré-induction:

Il comporte, pour les formes hyperleucocytaires ($GB > 50.10^9/L$) et en attendant de vérifier les critères d'éligibilité, de :

l'Hydroxyurée (Hydréa®) à la dose de : 50 mg/kg/jour, sans toutefois dépasser 6 gélules par jour.

Ce traitement sera administré pendant 4 jours pour mettre le patient en condition avant d'entreprendre l'induction.

Ce traitement n'est pas adopté pour le centre de Rabat.

2 - Le traitement d'Induction :

2-1 Une première Induction:

On utilise les drogues suivantes :

- La Daunorubicine (Cérubidine®) à dose de : 50 mg/m²/jour, en perfusion de 2 heures à J1, J2 et J3.

- L'Ara-C (Aracytine®) à dose de : 200 mg/m²/jour, en perfusion continue de J1 à J7.

Il n'est pas prévu de réduction protocolaire des doses de chimiothérapie de la cure d'induction. Le médecin doit cependant interrompre l'administration du traitement s'il juge que c'est l'intérêt du patient, en fonction d'une toxicité et/ou d'une complication inattendues et sévères éventuellement observées.

Une évaluation de la réponse est prévue après la première cure d'induction : Un myélogramme informatif sera réalisé à J15. Il est impératif d'avoir une réponse le même jour où le lendemain pour décider de la suite du traitement.

- Pour les patients ayant une moelle avec plus de 20 % de blastes, il faut instaurer à partir de J16 une cure d'intensification, si bien entendu les conditions physiques le permettent.
- Pour les patients ayant une moelle à J15 avec moins de 20 % de blastes, un 2^{ème} contrôle médullaire devra être effectué entre J28 et J30 après sortie d'aplasie.

On considère comme critères périphériques de récupération hématologique :

- un taux de neutrophiles supérieur à $1,5 \cdot 10^9 / l$,
- et un taux de plaquettes supérieur à $100 \cdot 10^9 / l$.

En l'absence de sortie d'aplasie, faire toutefois le contrôle de la moelle entre J28 et J30 avant de poursuivre le traitement.

2-2 Une cure d'intensification :

Elle commence à J16 avec les mêmes drogues, aux mêmes doses mais seulement 2+5 : c'est à dire 2 jours de Daunorubicine et 5 jours d'Aracytine :

- La Daunorubicine (Cérubidine®) : 50 mg/m²/jour, en perfusion de 2 heures à J1 et J2.
- L'Ara-C (Aracytine®) : 200 mg/m²/jour, en perfusion continue de J1 à J5.

2-3 Une deuxième Induction :

Elle est entamée à J30 où on reprend la chimiothérapie de la première induction:

- Daunorubicine (Cérubidine®) : 50 mg/m²/jour en perfusion de 2 heures à J1, J2 et J3.
- Ara-C (Aracytine®) : 200 mg/m²/jour en perfusion continue de J1 à J7.

Les traitements adjuvants au traitement d'induction comprennent les mesures standards, qui seront effectuées en fonction des habitudes de chaque centre pour gérer et surveiller la phase initiale et la phase d'aplasie :

- Isolement des patients dans la mesure du possible.
- Traitement anti-uricémique (Allopurinol).
- Prophylaxie des complications de la lyse cellulaire (hyper-diurèse alcaline).
- Prophylaxie anti-bactérienne et anti-fongique.
- Surveillance et traitement d'une éventuelle coagulation intravasculaire disséminée.
- Traitement des complications de l'aplasie.

3 - Le traitement de consolidation :

En ce qui concerne le traitement de consolidation, les patients en rémission complète, soit à l'issue d'une ou de deux inductions, soit de la cure de « rattrapage » recevront un traitement de post-induction en fonction de leur âge.

Les enfants recevront deux cures de consolidation identiques :

- L'Ara-C (Aracytine®) : 2 g/m²/12 heures, pendant 4 jours (8 doses) en perfusion de 3 heures.
- L'Asparaginase (Kidrolase®) : 6000 U/m², en IV à la 6^{ème} heure après la dernière injection d'Ara-C.

4 - Traitement des localisations méningées :

Pour le traitement des localisations méningées, Les patients présentant une forme M4-M5 ou une forme hyperleucocytaire avec un taux des GB supérieur à $50.10^9/l$, recevront un traitement prophylactique du SNC par :

- 4 injections intra-thécales de : Aracytine® + HSHC (hémisuccinate d'hydrocortisone®) selon le schéma suivant :
- Chez l'enfant, J1 des 4 cures (2 inductions et 2 consolidations) :

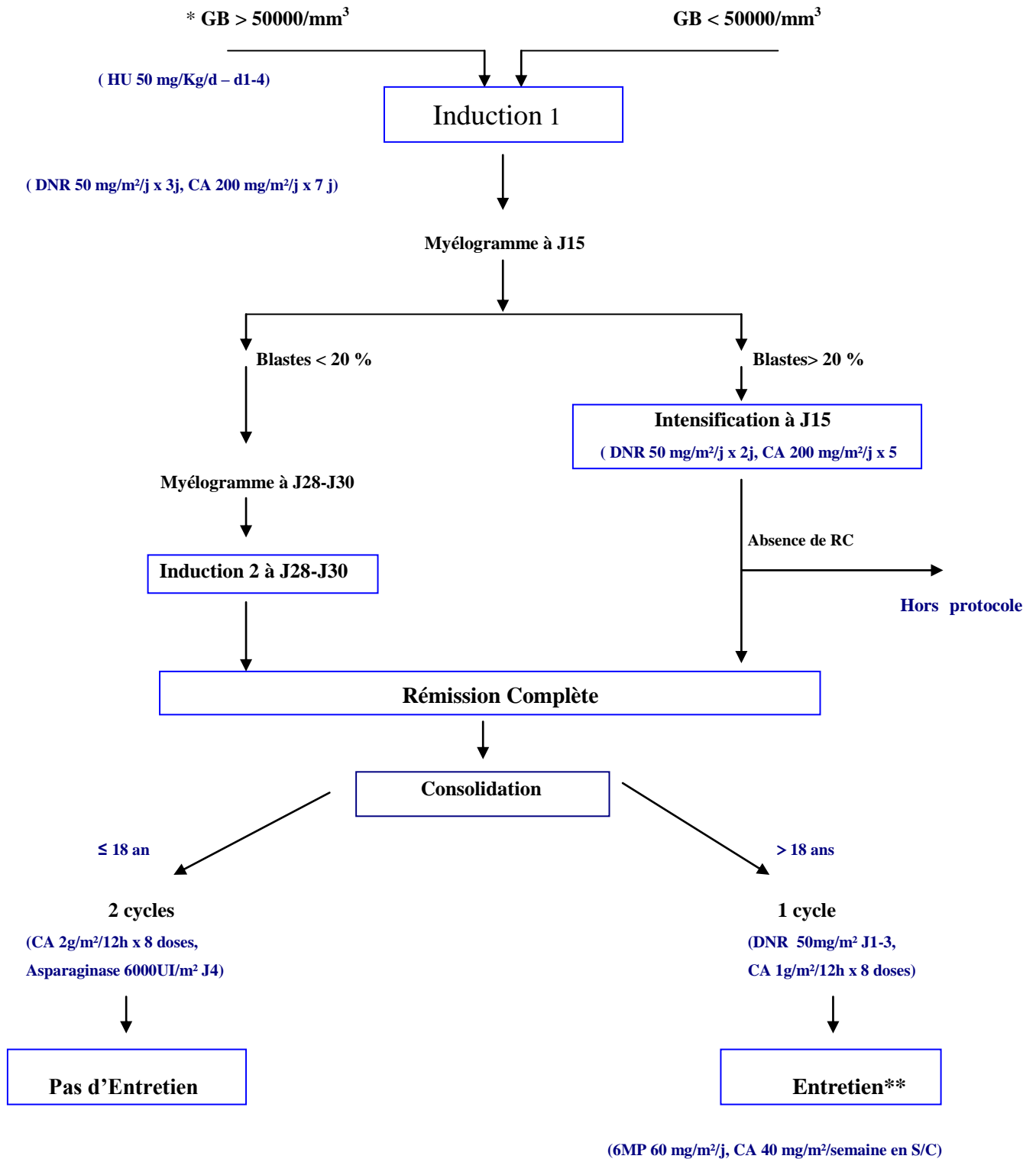
Tableau V : Doses d'Aracytine en fonction de l'âge lors du traitement des localisations méningées

SNC	AGE (ans)	Aracytine (mg)
	< 1	20
Prophylaxie	1 à 2	26
	2 à 3	34
	> 3	40
	> 15	50

Les patients présentant une atteinte méningée au diagnostic recevront des injections IT supplémentaires jusqu'à l'absence de détection de cellules leucémiques dans le LCR lors de 2 ponctions successives, avec un minimum d'au moins 8 injections. Ce traitement sera complété par une irradiation sur l'ensemble de l'encéphale jusqu'à C2 à la dose totale de 24 Gy. Cette irradiation cérébrale est à faire en parallèle avec le début du traitement d'entretien.

PROTOCOLE AML-MA 03

Mise en Condition



* Prophylaxie méningée pour LAM type M4,M5 et si GB > 50000/ml

** Traitement durant 18 mois chez patients âgés de > 18 ans

Notre étude

1- Matériel et méthodes :

Il s'agit d'une étude de cohorte prospective à visée évaluative et pronostique, de 70 enfants atteints d'une leucémie aiguë myéloblastique *de novo*, traités selon le nouveau protocole de traitement des LAM (AML-MA 03). Cette étude a été colligée au service d'Hématologie et Oncologie Pédiatrique à l'Hôpital d'Enfants de Rabat, sur une durée de 4 ans (du 1^{er} septembre 2003 au 1^{er} septembre 2007). Un recul d'au moins une année a été nécessaire pour évaluer les résultats thérapeutiques.

1.1 Les critères d'inclusion :

- Enfants âgés de moins de 16 ans.
- Leucémies aiguës myéloblastiques de novo diagnostiquées après étude cytologique et cyto-chimique (MPO) suivant les critères de la classification FAB.
- Absence de traitement antérieur pour la LAM, hormis l'administration d'Hydroxyurée pour juguler une hyperleucocytose menaçante.
- Absence d'infection sévère (grade OMS>2), sauf si elle est contrôlée par des antibiotiques.
- Absence d'atteinte organique sévère indépendante de la LAM.
- Bilirubinémie et créatininémie inférieures à deux fois la limite supérieure du taux normal, hormis atteinte hépatique ou rénale liée à la leucémie.

1.2 Les critères d'exclusion :

- Age supérieur à 16 ans.
- Leucémies aiguës promyélocytaires (FAB M3).

- Transformation aiguë de syndrome myéloprolifératif ou transformation aiguë de syndrome myélodysplasique.
- LAM secondaires, patients ayant des antécédents de néoplasies traitées par chimiothérapie et/ou radiothérapie ou autre néoplasie évolutive.
- Atteinte cardiaque contre-indiquant l'utilisation des anthracyclines.
- Insuffisance majeure hépatique ou rénale sans relation avec les LAM.
- Sérologie HIV positive.
- Impossibilité de suivi régulier pour des raisons psychologiques, familiales ou socio-économiques.

1.3 Bilan initial :

Le bilan initial doit comprendre les éléments suivants qui seront recueillis dans les documents protocolaires :

1.3.1 Bilan clinique :

- Interrogatoire, à la recherche d'antécédents pathologiques.
- Examen physique minutieux.

1.3.2 Bilan hématologique :

- Hémogramme.
- Myélogramme avec analyse cytologique après coloration MGG et MPO et classement de la LAM selon la classification FAB.
- Etudes immuno-phénotypique et cytogénétique des blastes médullaires à faire dans la mesure du possible.

1.3.3 Bilan biologique :

- Ionogramme sanguin, glycémie.
- Bilan rénal : urée, créatinine.
- Bilan hépatique : bilirubine, transaminases, GGT, Phosphatases alcalines.
- Uricémie.
- Taux de LDH.
- Bilan d'hémostase : Fibrinogène, T. Quick, TCA, PDF.
- Groupage sanguin ABO-Rh.

1.3.4 Bilan sérologique :

- Sérologies virales : HBS, HCV, VIH.
- Electrophorèse des protéines plasmatiques.

1.3.5 Bilan radiologique :

- Image thoracique de face.
- Echographie abdominale.

1.3.6 Bilan cardiovasculaire :

- Electrocardiogramme, échographie avec mesure de la fraction d'éjection systolique en cas de suspicion d'atteinte cardiaque.

1.4 Validité de l'étude :

Compte tenu des hypothèses de recherche retenues pour cette étude, il existe certains biais qui pourraient affecter la validité interne et externe de l'étude.

1.4.1 Biais affectant la validité interne:

a) Biais de mesure : Le biais de mesure se manifeste lorsque les instruments de mesure et les protocoles de collecte des données ne sont pas standardisés d'un patient à un autre. La validation des instruments de mesure, la standardisation des procédures de collecte des données (même laboratoire et même équipe de cliniciens qui assurera le diagnostic et le suivi des patients), la formation initiale des enquêteurs constituent autant de stratégies qui seront utilisées pour minimiser l'impact de ce biais.

b) Biais lié à une mauvaise observance du traitement : La mauvaise observance des recommandations thérapeutiques par un nombre non négligeable de patients pourrait amener à tort à une sous estimation de l'efficacité du traitement (conclure à une efficacité faible alors qu'en réalité le traitement n'a pas été correctement suivi). Si nous observons un phénomène de mauvaise observance important dans notre étude, nous en tiendrons compte dans l'analyse et l'interprétation des résultats.

1.4.2 Biais affectant la validité externe :

a) Biais de recrutement : Les patients qui seront recrutés pour l'étude seront parmi ceux qui ont pu accéder aux notre Centre Hospitalier. Par conséquent, l'échantillon à l'étude ne reflète pas les mêmes caractéristiques de la population cible et donc il n'est pas représentatif. Ce qui limitera le potentiel de généralisabilité de l'étude.

b) Biais d'attrition : Le biais d'attrition ou de mortalité expérimentale peut être lié à différents facteurs : 1) désistement des patients à continuer à participer à l'étude, 2) perdus de vue pour cause de décès ou de migration. Ce phénomène pourrait générer deux situations : 1) affaiblissement de la puissance statistique de l'étude et 2) problème de la non représentativité de l'échantillon. Il convient de signaler que

l'impact de biais lié à l'attrition serait négligeable lorsque la proportion des perdus de vue et du désistement ne dépasse pas 25 % ce qui est notre cas.

1.5 Statistique :

L'analyse statistique a été effectuée par le logiciel SPSS 14. Les variables qualitatives ont été présentées sous forme de pourcentage, et les variables quantitatives sous forme de moyenne.

Les fonctions de survie (courbes de survie) ont été estimées par la méthode non paramétrique de Kaplan Meier. La comparaison des courbes de survie a été réalisée par le test Log-Rank. Le seuil d'erreur (p) retenu est de 0,05.

Définitions des termes statistiques :

1. Événement d'intérêt : L'événement d'intérêt dans notre étude était la rémission complète après 2 cures.
2. Date d'origine : La date d'origine était la date de début de la chimiothérapie.
3. Date de point : La date de point correspondait à la date de septembre 2008 : 1 an à plus après la fin de traitement.
4. Date des dernières nouvelles : La date des dernières nouvelles est la date la plus récente à laquelle on a recueilli des informations sur la survenue; la persistance ou non d'une rémission complète chez le patient.
5. Perdu de vue : Un sujet est dit perdu de vue lorsque sa surveillance est interrompue avant la date de point et que l'événement ne s'est pas produit.
6. Censure : Une durée de suivie d'un individu est dite censurée lorsque l'événement d'intérêt n'a pas été observé pour cet individu. Elle concerne donc les sujets perdus de vue et les sujets décédés à la date de point
7. Recul : Le recul est le délai entre la date d'origine et la date de point, c'est-à-dire le délai maximum potentiel de suivi pour un sujet. Les reculs minimum et maximum d'une série de sujets définissent donc l'ancienneté de cette série.

2. Résultats :

Notre population a été faite de 70 enfants. Parmi lesquels, 58 ont été inclus dans le protocole AML-MA 03 et 12 ont été exclus.

Les causes d'exclusion ont été :

- 4 cas de décès avant confirmation du diagnostic.
- 1 cas de LA biphénotypique.
- 1 cas de LA indifférenciée (LAL ou LAM0: impossible de le savoir)
- 1 cas de LMC acutisée.
- 1 cas traité par corticoïdes et Endoxan avant traitement.
- 1 cas de traitement par corticothérapie 1 mois avant, pour suspicion de myasthénie.
- 1 cas traité par chimiothérapie pour un autre cancer.
- 2 cas de cardiopathie.

2.1 Répartition selon l'âge :

La moyenne d'âge de notre population a été de 9 ans.

Elle a été répartie en nombres par tranche d'âge comme suit:

(Moins de 1 ans : 3 enfants, 1 à 5 ans : 10 enfants, 6 à 10 ans : 20 enfants, 11-16 ans : 25 enfants).

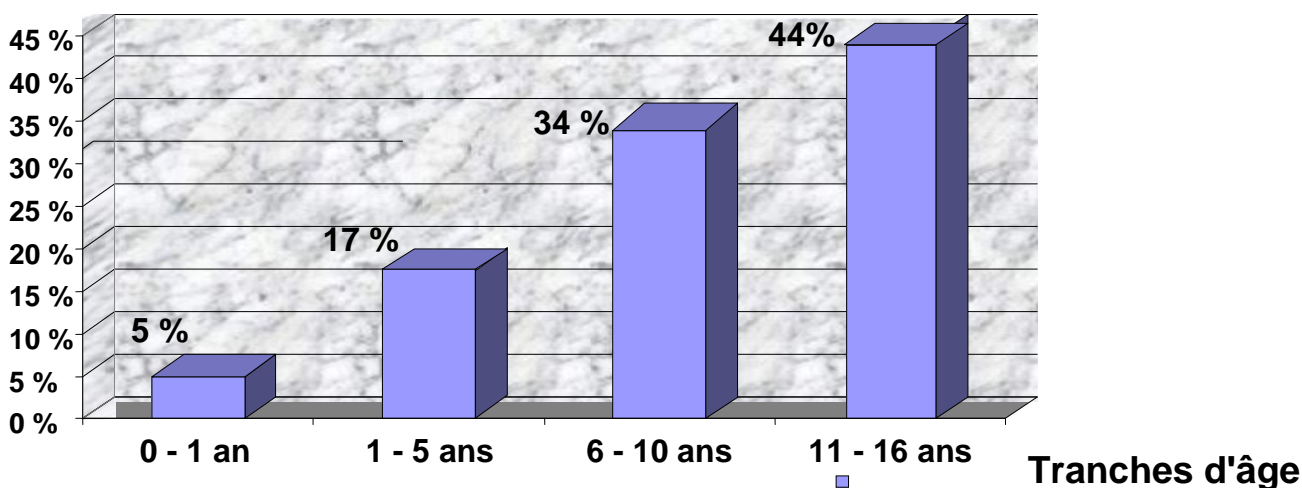


Figure 4 : Répartition de nos patients selon l'âge

2.2 Répartition selon le sexe :

Le sex-ratio (garçon/fille) a été égal à 1,4.

Le nombre de garçons a été de 34 contre 24 pour les filles.

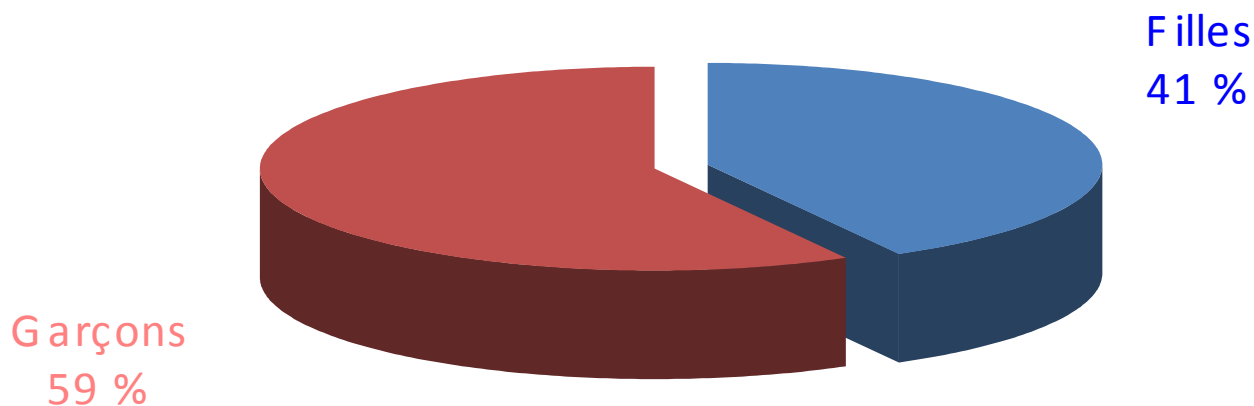


Figure 5 : Répartition de nos patients selon le sexe

2.3 Répartition selon le niveau socio-économique :

2.3.1 Couverture sociale :

Tableau VI : Répartition de nos patients selon le niveau socio-économique

Mutualiste :	09 cas	16 %
Non mutualiste	49 cas	84 %
Total	58 cas	100 %

2.3.2 Scolarité :

Tableau VII : Répartition de nos patients selon la scolarité

En dessous de l'âge de scolarité	16 cas.	28 %
Analphabète	7 cas	12 %
Primaire	26 cas	44 %
Secondaire	09 cas	16 %
Total	58 cas	100 %

2.4 Répartition selon les antécédents :

Chez les 58 enfants inclus, 12 soit 21 % ont rapporté une notion d'antécédent ou de consanguinité :

Tableau VIII : Répartition de nos patients selon les antécédents

Cas	Nombre	Pourcentage
Consanguinité	3	5 %
Cancer dans la famille	4	7 %
Consanguinité et cancer dans la famille	1	2 %
Asthme	2	3%
Trisomie21	1	2 %
Angines à répétition	1	2 %
TOTAL	12	21 %

2.5 Répartition selon le motif de consultation et l'examen clinique initial :

Tableaux IX : Répartition de nos patients selon le motif de consultation et l'examen clinique initial

Motif	Nombre	Pourcentage
- Syndrome d'insuffisance médullaire	46	79 %
- Syndrome tumoral	3	5 %
- Insuffisance médullaire associé à un syndrome tumoral	7	12 %
- Troubles respiratoires	1	2 %
- Syndrome appendiculaire et douleurs osseuses	1	2 %
TOTAL	58	100 %

Résultats de l'examen clinique	Nombre	Pourcentage
Chloromes	9 cas	15 %
Hypertrophie gingivale	11 cas	19 %
Atteinte cutanée	3 cas	5 %
Atteinte du système nerveux central	2 cas	3 %

2.6 Répartition selon les données hémato-biologiques :

L'ensemble des paramètres cyto-biologiques sous-cités représente les valeurs recensées lors du diagnostic de la LAM ou à l'admission des enfants.

2.6.1 Hémogramme :

a) Taux des globules blancs (GB) :

Nous avons répartis les enfants en :

- 4 groupes, selon le taux des globules blancs :

- < 10000 /mm³ : 16 cas.
- 10000-50000 /mm³ : 28 cas.
- 50000-100000 /mm³ : 6 cas.
- > 100000 /mm³ : 8 cas

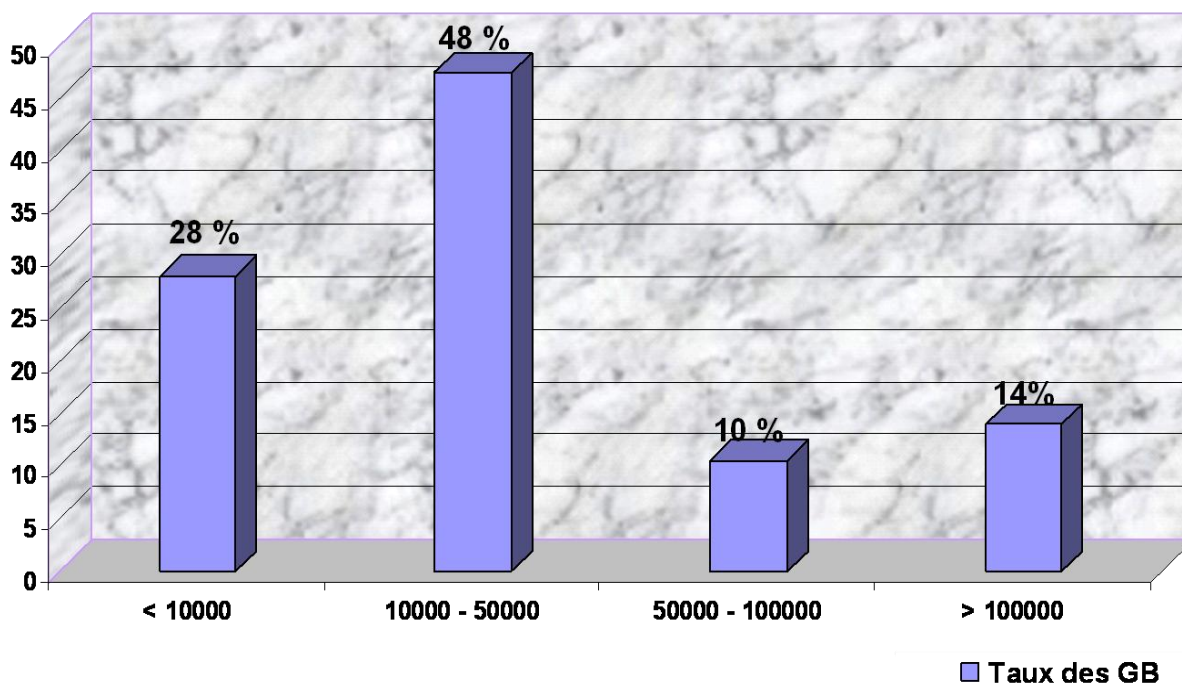


Figure 6 : répartition de nos patients selon le taux de GB

- Et en 2 groupes, selon le taux des globules blancs :

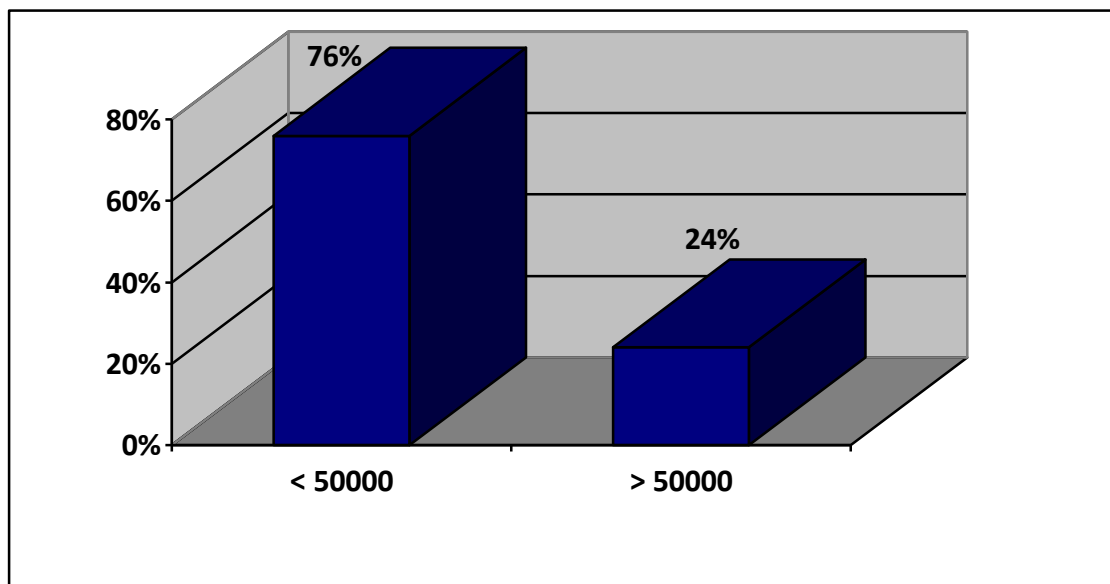


Figure 7 : Répartition de nos patients selon le taux de GB (inférieur ou supérieur à 50.000/ml)

b) Blastes circulants :

Une blastose sanguine a été retrouvée chez 49 enfants.

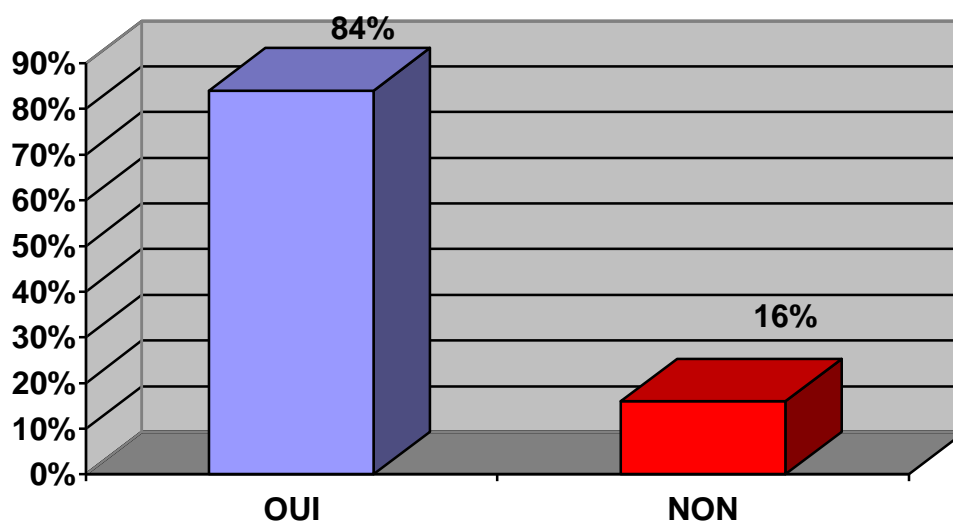


Figure 8 : Répartition de nos patients selon l'existence ou non d'une blastose sanguine

) **Taux d'hémoglobine :**

Une anémie a été observée chez 57 enfants, soit 99 %.

Les résultats sont représentés comme suit :

Tableau X : Répartition de nos patients selon le taux d'hémoglobine

Taux d'Hb	< 5 g/dl	6 à 8 g/dl	9 à 12 g/dl	Normal	Total
Nombre	22	22	13	1	58
Pourcentage	38 %	38 %	22 %	2 %	100 %

d) **Taux de plaquettes :**

Une thrombopénie a été observée chez 57 enfants, soit 99 %. Elle a été :

Tableau XI : Répartition de nos patients selon le taux de plaquettes

Taux de Plaquettes (elt/mm3)	< 20000	20000 à 50000	> 51000	Normal	Total
Nombre	22	17	18	1	58
Pourcentage	38 %	29 %	31 %	2 %	100 %

2.6.2 Myélogramme :

Tous les enfants ont bénéficié d'un myélogramme avant l'instauration du protocole car il est indispensable au diagnostic.

Tableau XII : Répartition de nos patients selon la classification FAB

Classification FAB	Nombre	Pourcentage
LAM 0	2	3 %
LAM 1	17	30 %
LAM 2	26	45 %
LAM 4	6	11 %
LAM 5	2	3 %
LAM 6	2	3 %
LAM 7	3	5%
TOTAL	58	100 %

Sur les frottis médullaires, la coloration de May Grünwald Giemsa a été réalisée dans 100 % des cas. Dans 31 cas soit 53 % de la population générale, on a découvert la présence de bâtonnets d'Auer.

Une coloration MPO (myéloperoxydases) a été réalisée dans tous les cas. Elle a été positive dans 50 des cas, soit 86 % des cas.

L'immunophénotypage a été réalisée dans seulement 28 cas, soit 48 % des enfants. Elle a aidé à sous classer les LAM de notre population. Elle a été abandonnée par la suite, en raison de son coût et de son faible apport par rapport à la morphologie et la cytochimie. Elle n'a été indiquée que dans le cadre d'une suspicion de LAM0, M6 ou M7 ou difficulté diagnostique.

2.6.3 Cytogénétique :

a- Réalisation du caryotype :

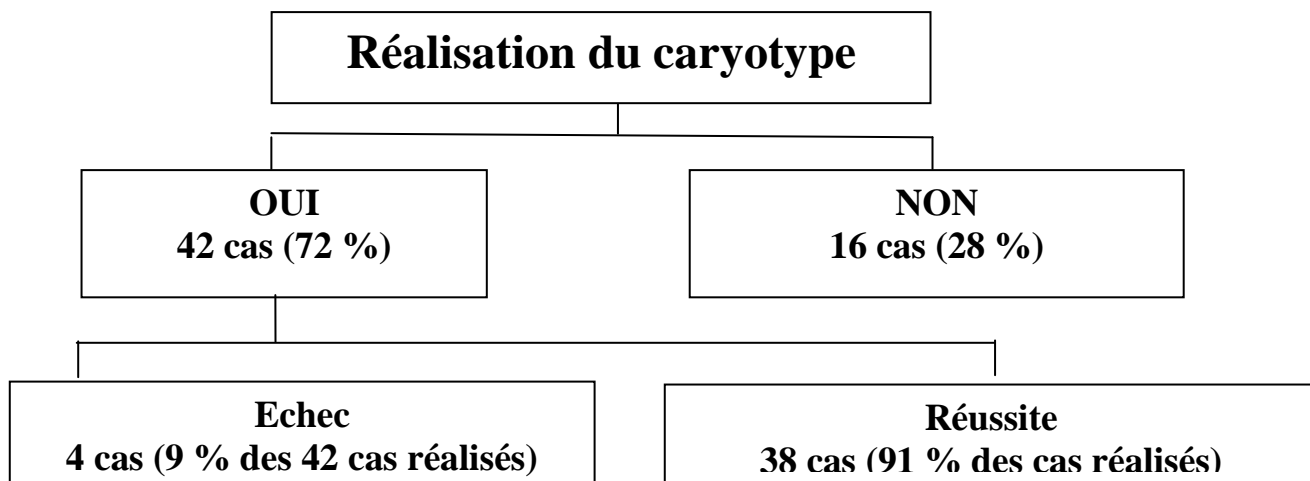


Figure 9 : Pourcentage de réalisation de caryotype dans notre population

b- Anomalies cytogénétiques :

Tableau XIII : Répartition de nos patients selon la classification FAB

Anomalies cytogénétiques	Nombre de cas	Type de LAM	Pourcentage
Bon pronostic :			29 %
t(8 ; 21)	11	11 M2	03 %
trisomie 21	1	1 M7	0 %
inv 16 et t(15 ;17)	0	0 %	0 %
Pronostic intermédiaire			
caryotype normal	7	2 M2, 2 M1, 1 M4, 1 M5, 1 M7	18%
monosomie 11 ou -11q	3	1 M2, 1 M4, 1 M1	8 %
Mauvais pronostic			
monosomie 7 ou -7q	3	2 M2; 1 M0	08 %
caryotype complexe	13	1 M0, 6 M1, 3 M2, 2 M4, 1 M5	34 %
TOTAL	38		100 %

c- Pronostic :

Sur les 38 caryotypes réussis, une évaluation pronostique de nos enfants selon les écrits récents de la littérature [15,16] a été établie :

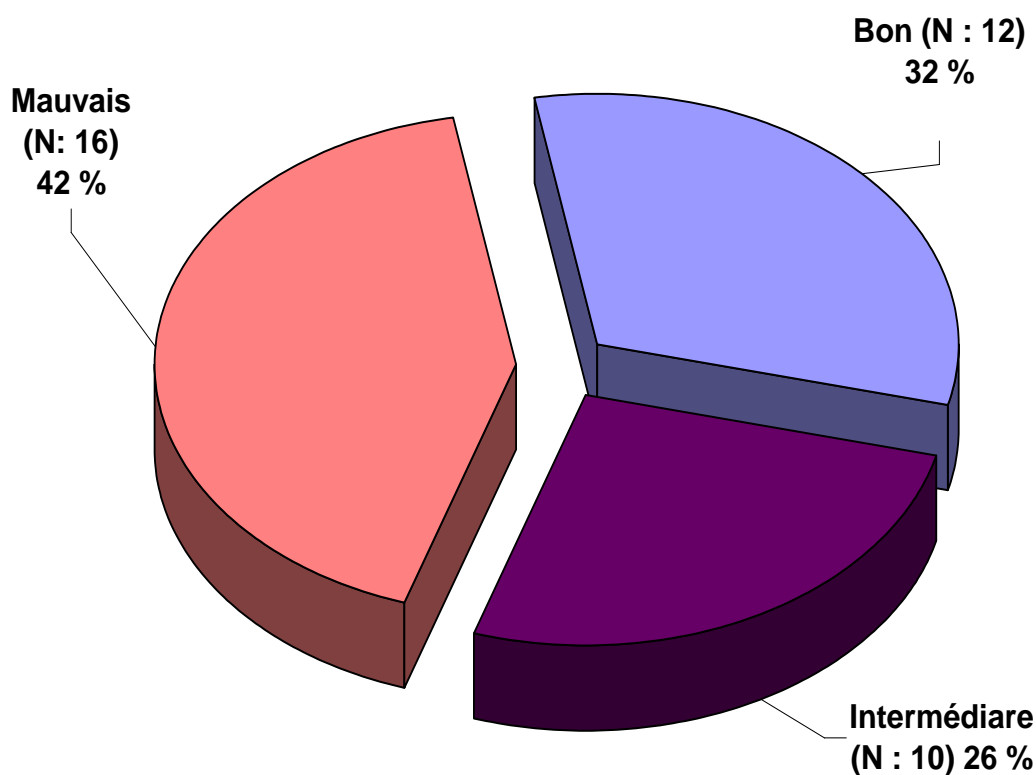


Figure 10 : Répartition de nos patients selon les groupes pronostiques cytogénétiques

2.7 Autres données paracliniques :

2.7.1 Bilan hépatique :

Il a été perturbé dans 04 cas, soit 7 %.

2.7.2 Taux de LDH :

Il a été augmenté dans 17 cas, soit 29 %.

2.7.3 Hémostase :

Le bilan d'hémostase (TP, TCA), réalisé systématiquement à l'admission, a été :

- Perturbée dans 7 cas, soit 12 % des cas.
- Normale dans 51 cas, soit 87 % des cas.

2.7.4 Sérologies Hépatite B et C :

Elles ont été réalisées dans 29 cas, soit 50 %. Elles ont été négatives dans tous les cas.

2.7.5 Etude du LCR :

La recherche de blastes a été positive dans 2 cas, soit 3 %.

2.7.6 Radiologie :

La radiographie pulmonaire a été anormale (élargissement médiastinal, foyers pulmonaires) dans 12 cas, soit 21 %.

2.8 Résultats lors de la première phase du traitement (Première induction) :

Tous les 58 enfants ont reçu une induction à base de Daunorubicine et d'Aracytine (voir chapitre protocole AML MA-03).

Les résultats sont présentés comme suit :

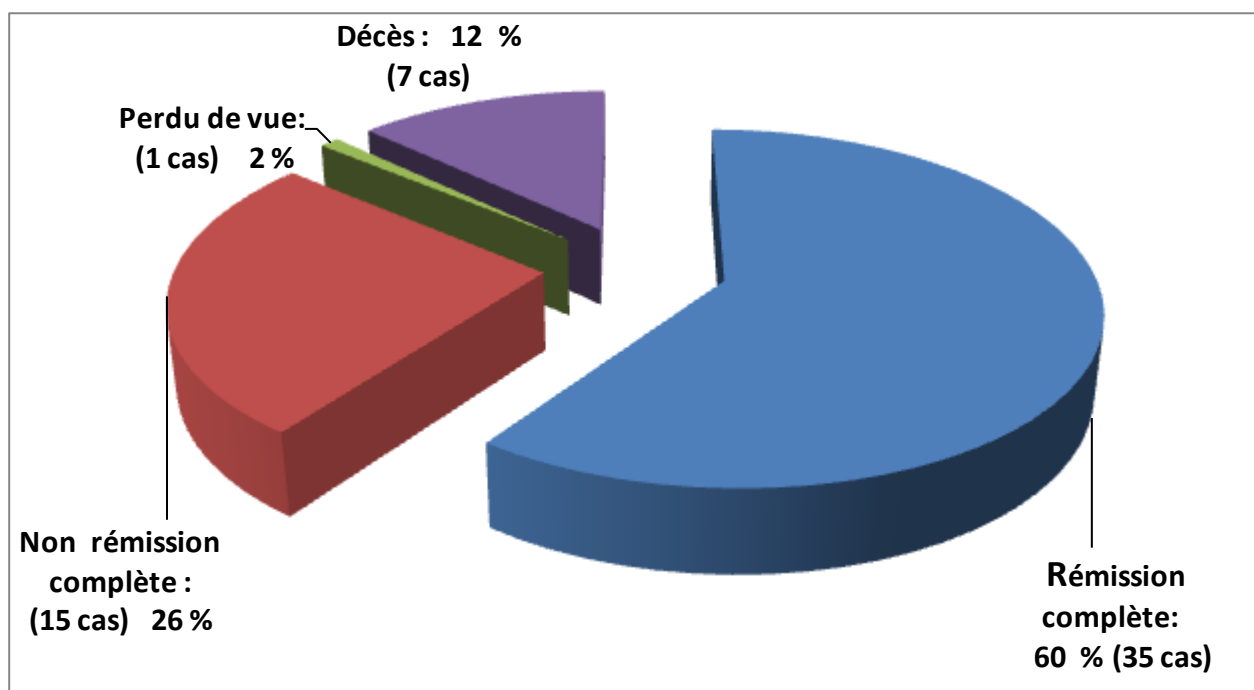


Figure 11 : Résultats de la première phase de traitement

Taux en nombre : Rémission complète : 35 cas (60 %), Non rémission : 15 cas (26 %), Perdu de vue : 1 (2 %), Décès : 07 cas (12 %).

Dans les 7 cas de décès, les causes ont été définies comme suit :

- Hémorragie : 3 cas.
- Choc septique : 1 cas.
- Association hémorragie et choc septique: 2 cas.
- Cause inconnue (décès à domicile) : 1 cas.

2.9 Résultats lors de la deuxième phase du traitement :

2.9.1 Intensification :

11 enfants des 50 restants (soit 22 %) ont reçu une intensification, à base de Daunorubicine et d'Aracytine. Il s'agit d'enfants ayant un taux de blastes supérieur à 20 % au médullogramme fait au 15^{ème} jour (J15) de la première induction.

Suite à cette intensification, les résultats ont été comme suit :

Les taux en nombre : Rémission complète 7 cas (64 %). Décès 4 cas (36 %).

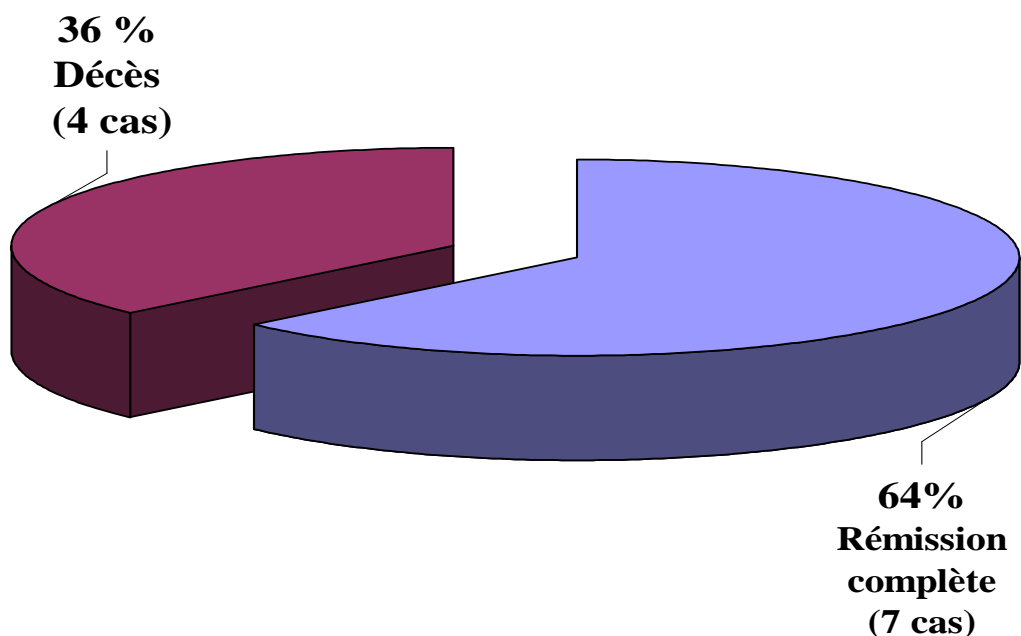


Figure 12 : Résultats de l'intensification

La cause du décès de 3 enfants a été un choc septique. Un enfant a été mis sous traitement palliatif et est décédé à domicile.

2.9.2 Deuxième induction :

Quarante et un (41) enfants des 50 enfants , soit 82 % ont reçu une deuxième induction à base de Daunorubicine et d'Aracytine. Ces enfants ont eu un taux de blastes au médullogramme du J15 inférieur à 20 %. Suite à cette deuxième cure, les résultats se sont présentés comme suit :

Les taux en nombre : Rémission complète 36 cas (88 %), Décès 5 cas (12 %)

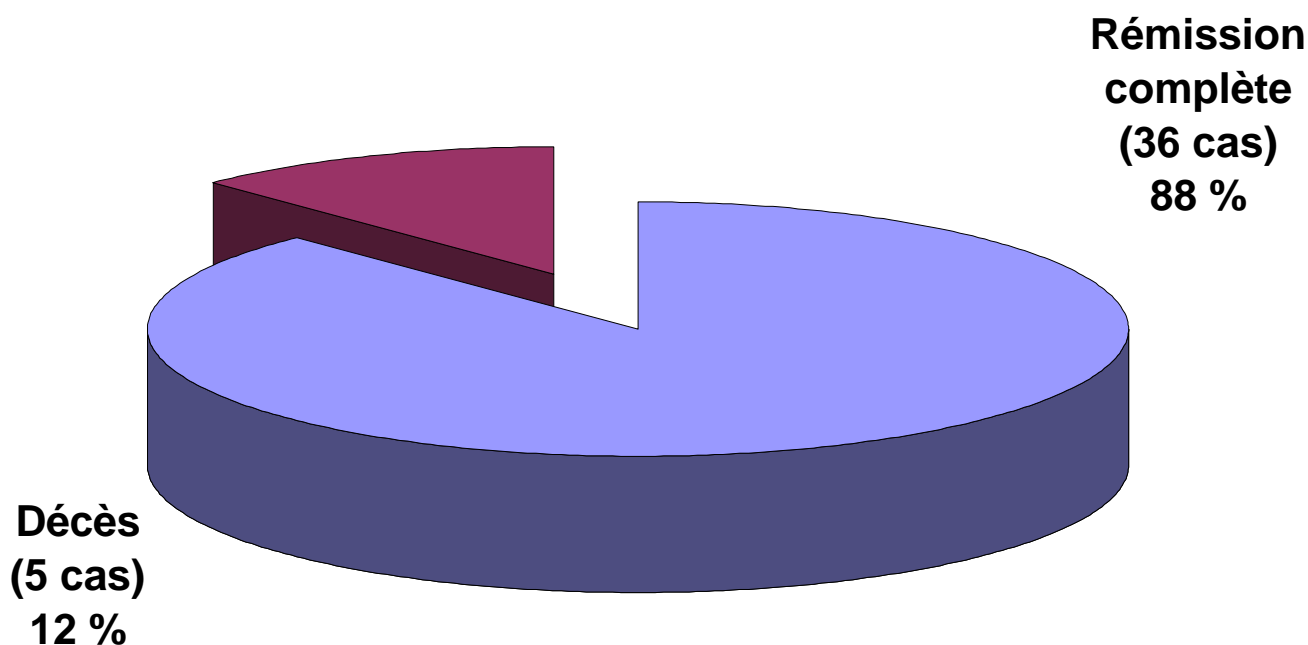


Figure 13 : Résultats de la deuxième induction

La cause de décès de 4 enfants a été un choc septique. Un patient est décédé à domicile à J8 d'induction.

NB : Deux (2) enfants des 50 restants, soit 4 %, ont reçu à la fois une intensification et une deuxième induction. Il s'agit d'un garçon et d'une fille âgés de 12 ans ayant tous les deux une LAM 6 avec un taux de blastes à J15 à plus de 20 % des éléments médullaires. Leur profil cytogénétique n'a pas été établi (un échec et un non fait). L'évolution a été marquée par le décès des deux enfants après la deuxième induction. Aussi, 4 enfants ayant un taux de blastes à J15 à plus de 20 % des éléments médullaires ont reçu une deuxième induction.

2.10 Résultats après les deux cures de chimiothérapie :

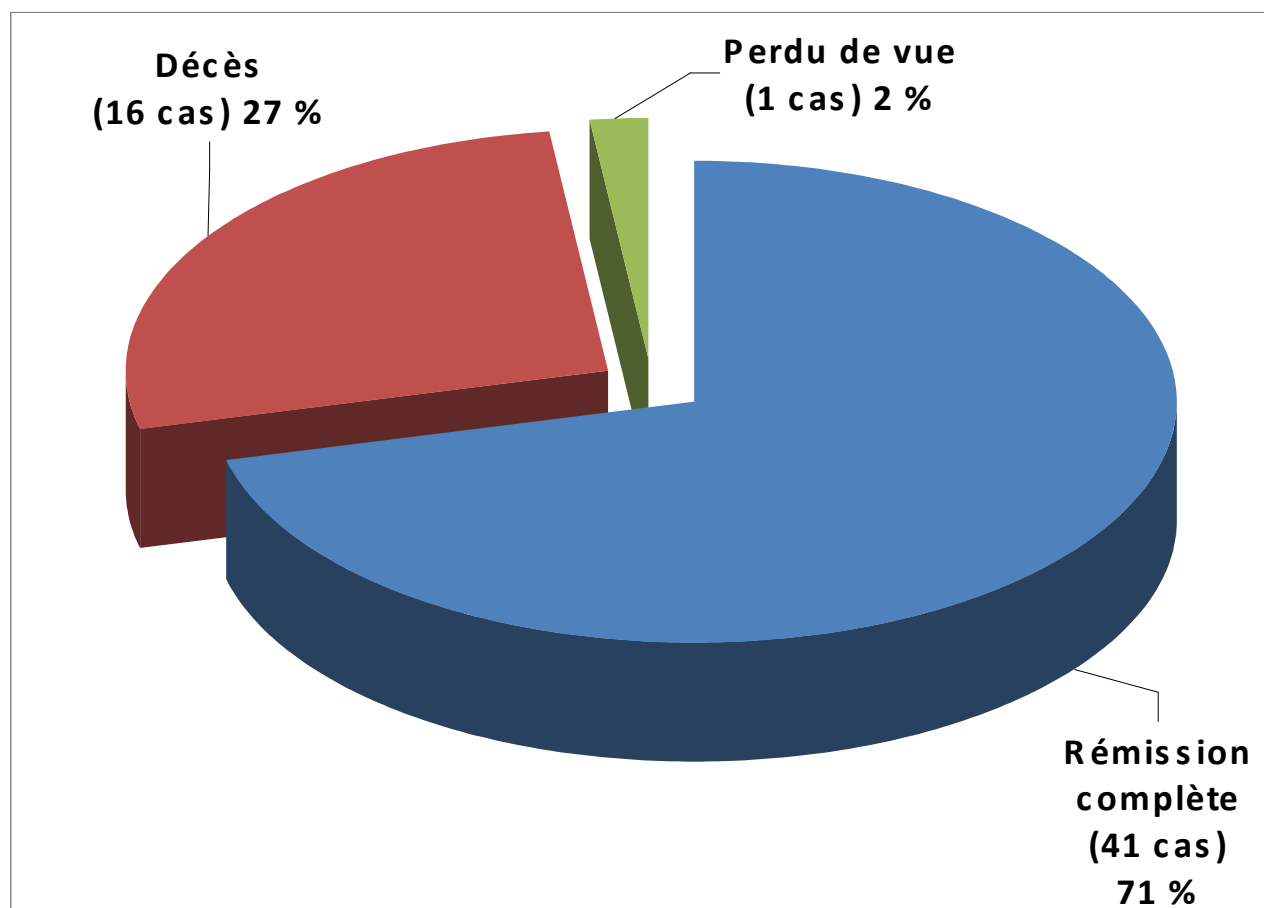


Figure 14 : Résultats après les deux cures de chimiothérapie

Le taux : rémission complète : 41 cas (71 %), décès : 16 cas (27 %), perdu de vue : 1 cas (2 %).

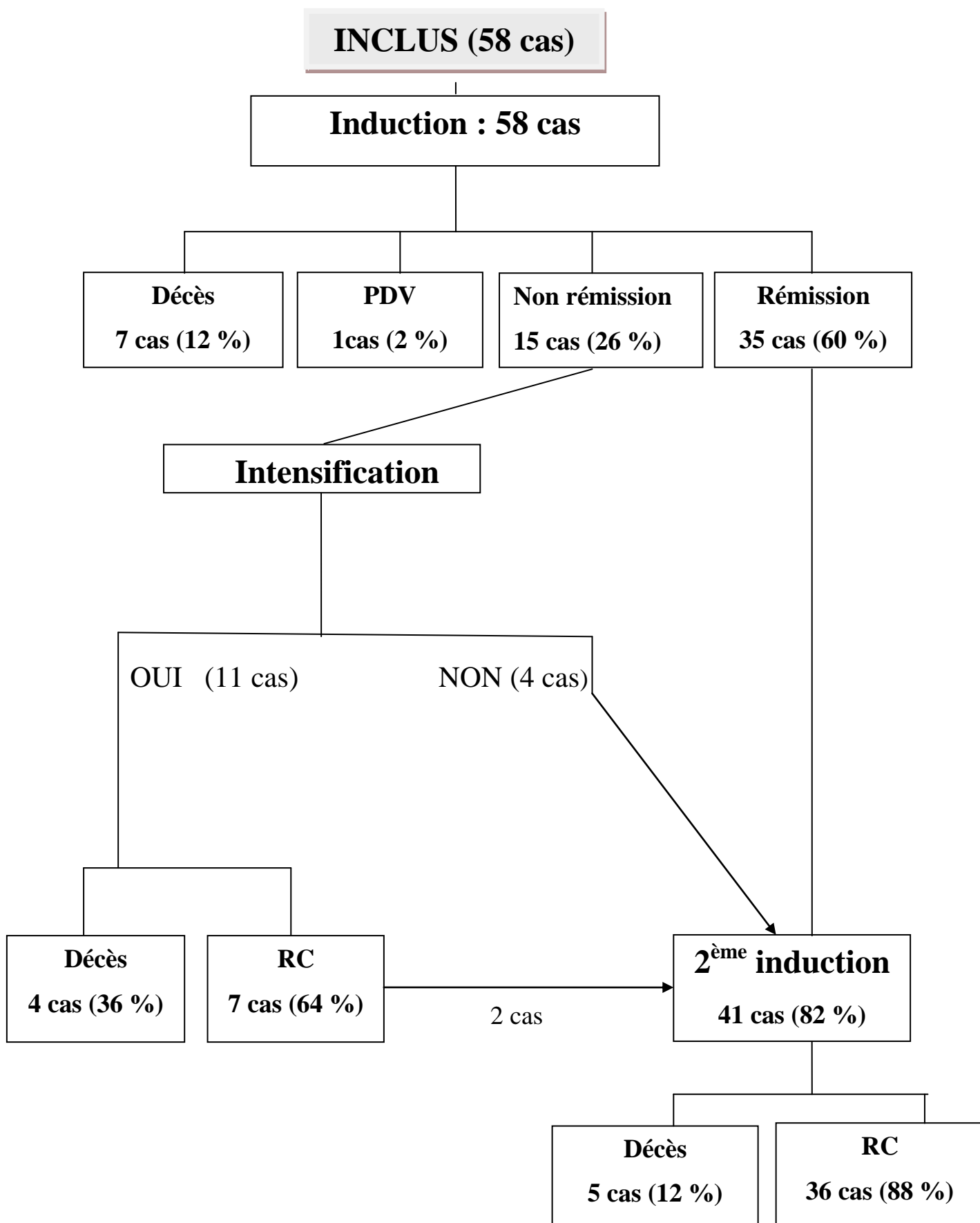


Figure 15 : Diagramme représentant les résultats après les deux cures de chimiothérapie

Au total :

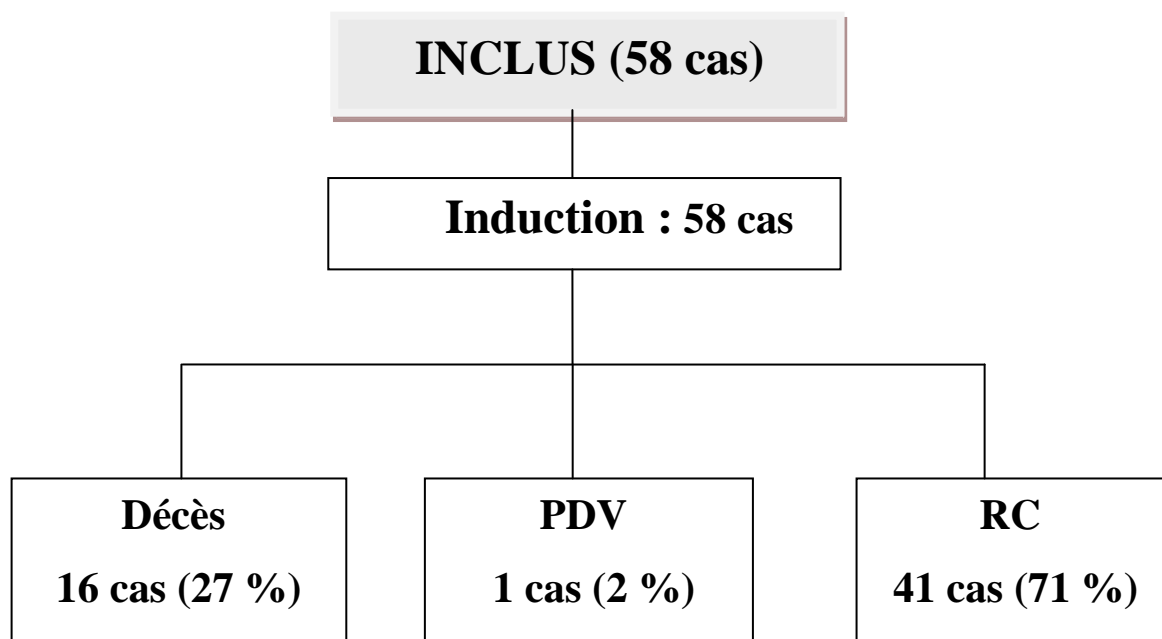


Figure 16 : Diagramme résumant les résultats après les deux cures de chimiothérapie

2.11 Résultats lors de la consolidation

2.11.1 Première consolidation

Trente cinq (35) enfants des 58 patients inclus (60 %) ont reçu une première consolidation.

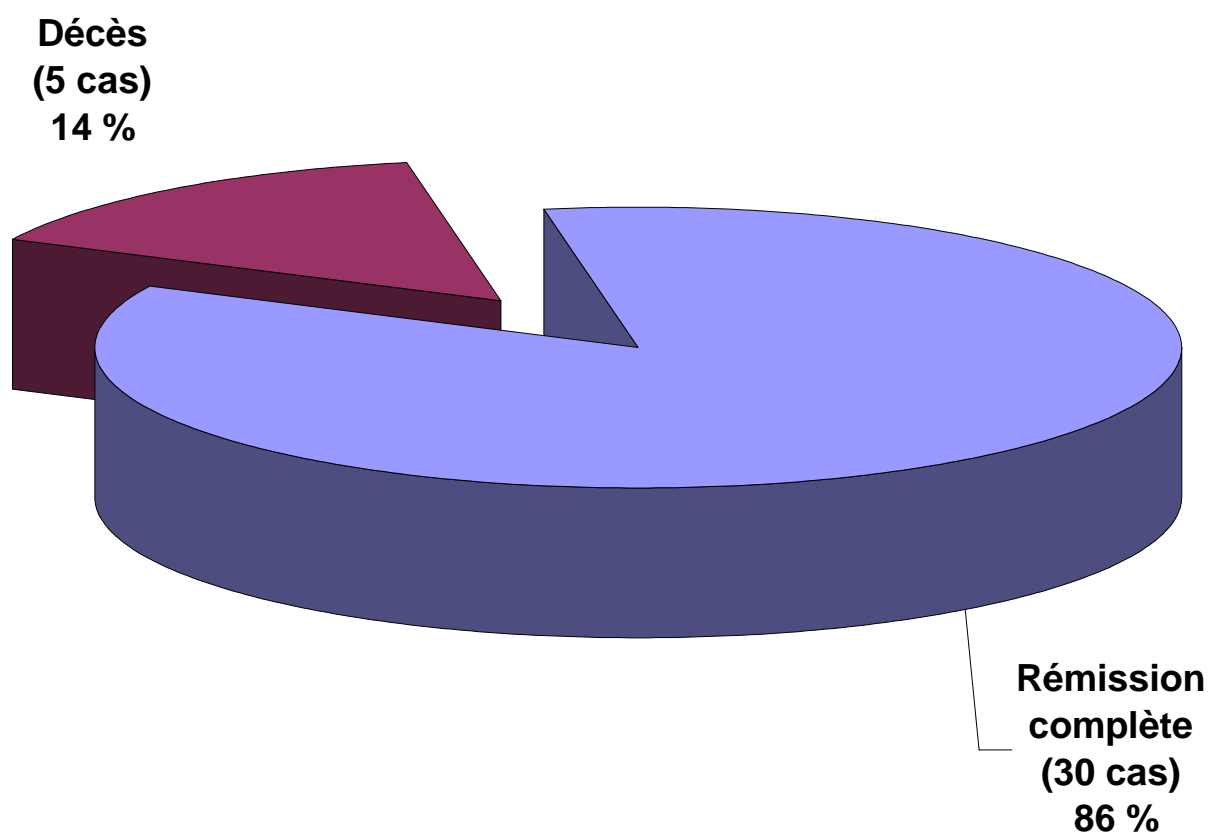


Figure 17 : Résultats lors de la première consolidation

La cause de décès des 5 enfants a été définie comme étant un choc septique dans 2 cas, un choc septique associé à une hémorragie dans 2 cas et elle a été inconnue dans un autre cas.

NB : Six des 41 enfants (15 %) qui sont en rémission complète après les deux phases de chimiothérapie n'ont pas reçu de consolidation. Ils ont reçu une cure VIC par manque d'aracytine à haute dose.

2.11.2 Deuxième consolidation :

Vingt cinq (25) enfants sur les 35 patients candidats à la 1ère cure de consolidation (71 %) ont reçu une deuxième consolidation :

Taux en nombre :RC : 23 cas (92 %), décès : 2 cas (08 %).

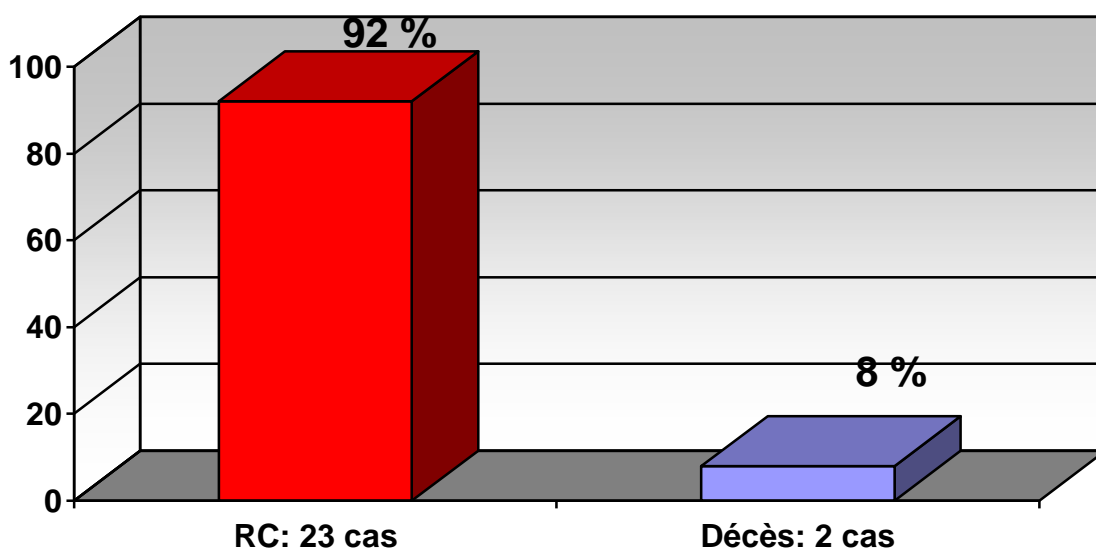


Figure 18 : Résultats lors de la deuxième consolidation

La cause de décès d'un enfant est inconnue et de l'autre enfant est un syndrome hémorragique.

NB : Parmi les 30 malades qui ont reçu la première consolidation en RC, une malade a reçu l'allogreffe de la moelle osseuse en Espagne (elle est toujours en rémission complète) et 4 malades n'ont pas reçu de deuxième consolidation par manque d'aracytine à haute dose et ont reçu une cure VIC.

2.12 Résultats globaux jusqu'à la date point :

Le taux global de rémission complète continue à la fin de chimiothérapie, autrement dit le taux des enfants n'ayant pas rechutés jusqu'à aujourd'hui, a été égal à 6 soit 10 % de la population générale. Les résultats ont été présentés comme suit :

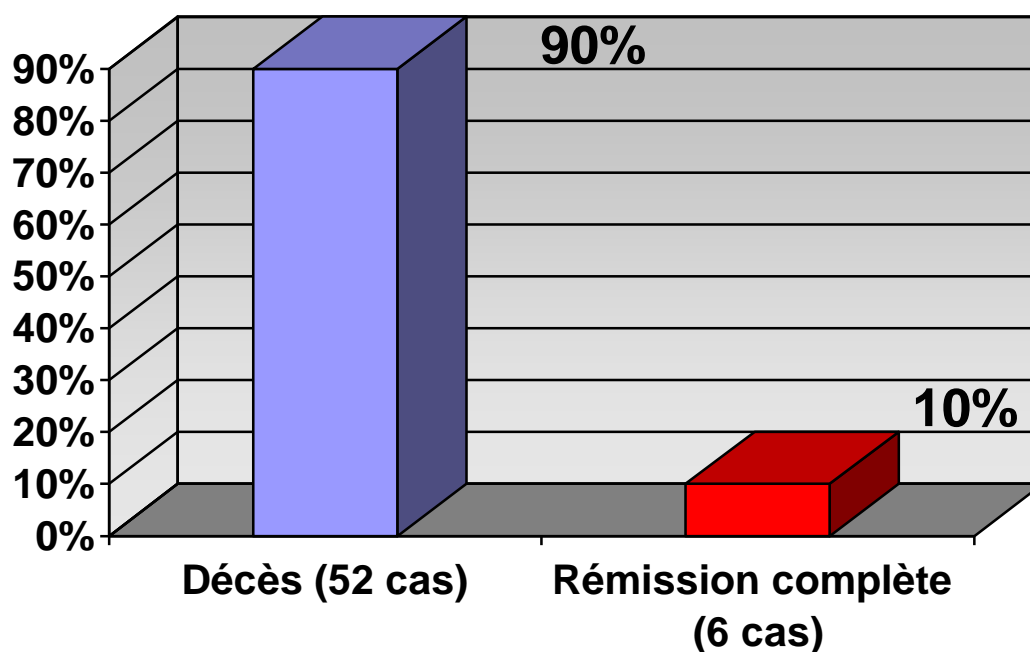


Figure 19 : Résultats finaux jusqu'à la date point des 58 enfants après instauration de toutes les cures du protocole AML-03

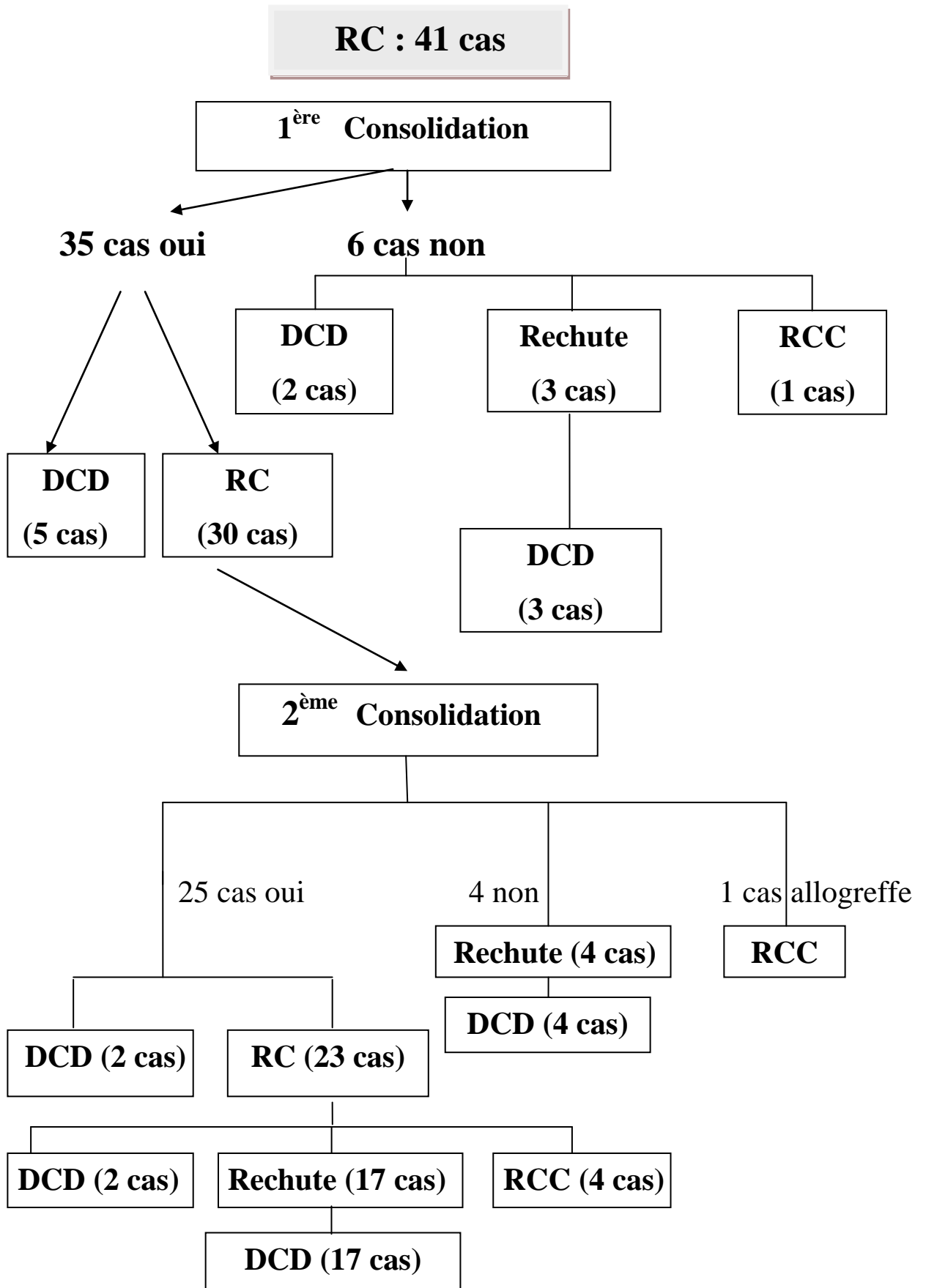


Figure 20 : Diagramme représentant les résultats après les deux cures de chimiothérapie

Siège des rechutes : 24 cas

- 20 cas en rechute médullaire soit 83 %
- 2 cas en rechute médullaire et cutané soit 9 %
- 1 cas en rechute au niveau du SNC soit 4 %
- 1 cas de rechute cutané et SNC soit 4 %

Décès : 52 cas soit 90 % de la population générale.

- Les causes de décès, ont été réparties comme suit :

Tableau XIII : cause de décès de nos patients

Choc septique	13 cas	25 %
Hémorragie	6 cas	11 %
Association choc septique et hémorragie	17 cas	33 %
Non précisée	13 cas	25 %
Troubles électrolytiques :	1 cas	2 %
Leucostase	2 cas	4 %

Tableau XIV : cause de décès de nos patients selon les phases de chimiothérapie

Phase de traitement	Nombre	Causes
Induction n°1	07 cas (13 %).	- Hémorragie : 3 cas. - Association hémorragie et choc septique: 2 cas. - Choc septique : 1 cas. - Cause inconnue (décès à domicile) : 1 cas.
Intensification	4 cas (7 %).	- Choc septique : 3 cas - Cause inconnue : 1 cas
Induction n°2	5 cas (10 %)	- Choc septique : 4 cas - Cause inconnue : 1 cas
Consolidation n°1	5 cas (10 %)	- Choc septique : 2 cas - Choc septique associé à une hémorragie : 2 cas - Cause inconnue : 1 cas
Consolidation n°2	2 cas (04 %).	- Hémorragie : 1 cas - Cause inconnue : 1 cas
Rechute	24 cas (46 %)	- Choc septique : 3 cas - Hémorragie : 2 cas - Choc septique associé à une hémorragie: 11 cas - Cause inconnue : 6 cas - Troubles électrolytiques : 1 cas - Leucostase: 2 cas
Autres : 1 cas perdu de vue, 2 cas décédé après la cure VIC , et 2 cas décédé après consolidation n°2	5 Cas (10 %)	-Hémorragie : 1 cas - Cause inconnue : 2 cas - Choc septique associé à une hémorragie : 2 cas

2.13 Toxicité de la chimiothérapie

Tableau XV : Toxicité de la chimiothérapie selon les phases de chimiothérapie

Toxicité	Après 1 ^{ère} Induction	Après Intensification	Après 2 ^{ème} Induction	Après 1 ^{ère} Consolidation	Après 2 ^{ème} Consolidation
Pourcentage par rapport aux patients ayant reçu la même cure	81 %	72 %	56 %	71 %	56 %
Hématologique	69 %	75 %	65 %	92 %	86 %
Digestive	80 %	85 %	83 %	90 %	88 %
Cardiaque	2 %	0 %	0 %	4 %	0 %
Hépatique	2 %	0 %	0 %	0 %	0 %
Infection	69 % :	75 %	78 %	88 %	100 %
Autres	Neurologiques 4 %			Douleurs osseuses Uvéite 7 %	

2.14 Etude de la survie de nos patients :

2.14.1 La Courbe de survie sans récidive :

Tableau XVI : Nombre de patients décédés et vivants sans récidive

	10 mois	20 mois	30 mois	40 mois
Décès	32	46	51	52
Vivants sans récidive	24	12	7	6
Pourcentage	41 %	21 %	12 %	10 %

La durée moyenne de survie sans récidive est de 8,5 mois (l'intervalle de confiance IC à 95 % = [4,8-12,2]).

Les reculs minimum et maximum étaient respectivement de 1,5 mois et de 53,5 mois.

La date de début retenue pour l'évaluation de cette courbe de survie est celle du début de traitement (J1 d'induction) et non pas celle du diagnostic de la LAM.

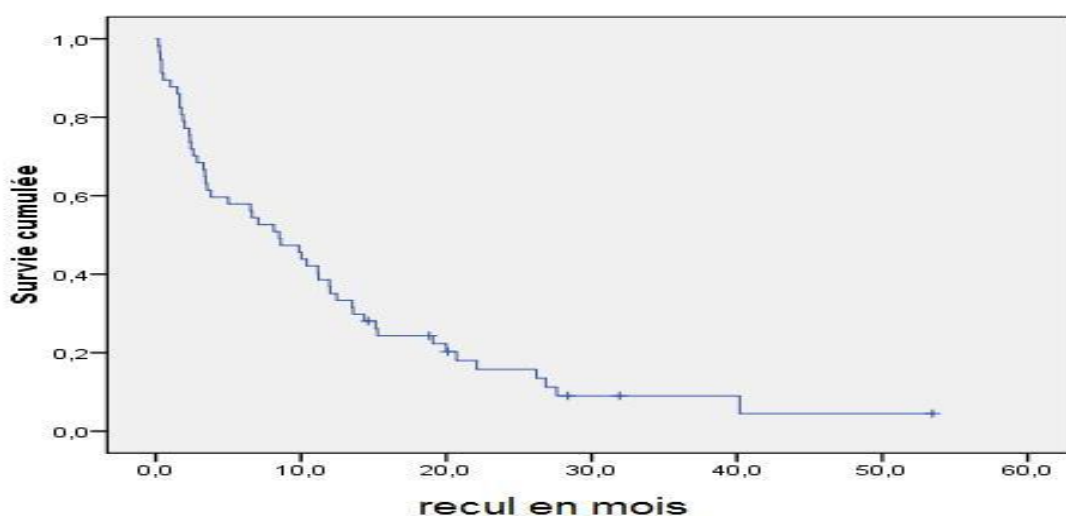


Figure 21 : La courbe de survie sans récidive

2.14.2 Etude de la survie et du taux de rémission complète en fonction des facteurs pronostiques :

a) Age :

Tableau XVII : Taux de rémission complète en fonction de l'âge

	N total	Nombre de RC après 2 cures	Pourcentage	Taux de RC (% par rapport au même groupe)
< 1 an (groupe 0)	3	2	5 %	67 %
> 1 an (groupe 1)	55	39	95 %	71 %
TOTAL	58	41	100 %	

La rémission complète après 2 cures entre les 2 groupes d'âge < 1 an et > 1 an n'est pas statistiquement différente ($p = 0,2$).

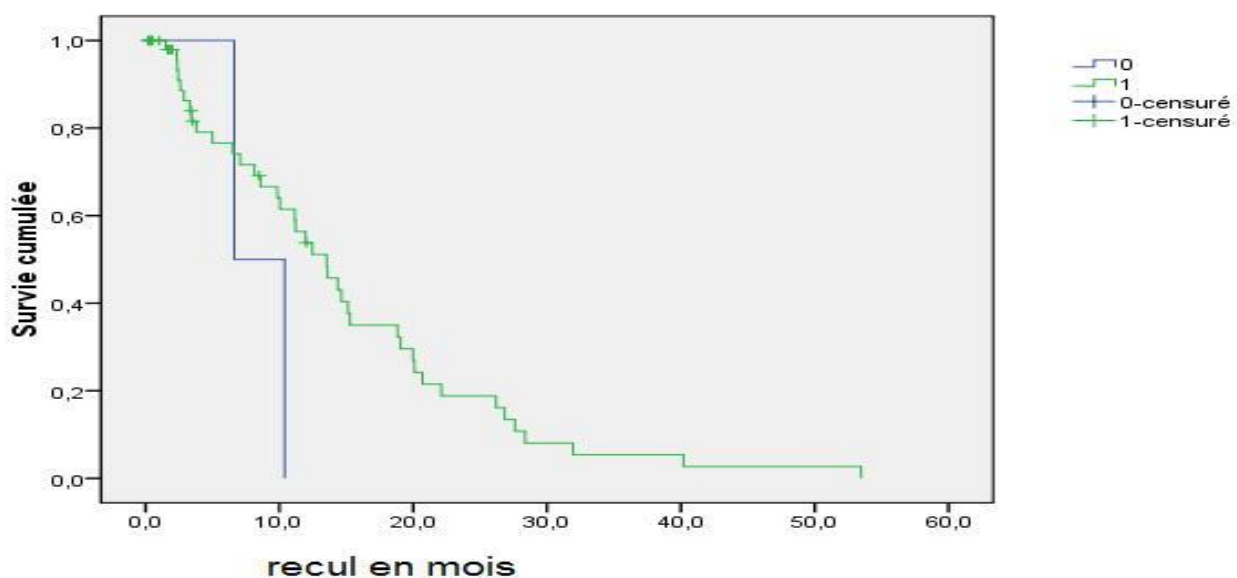


Figure 22 : La courbe de survie selon l'âge

Le délai médian survie est de 6,6 mois pour le groupe d'âge < 1 an et de 13 mois pour le groupe > 1 an.

b) Le taux des globules blancs :

Tableau XVIII : Taux de rémission complète en fonction du taux des globules blancs

	N total	Nombre de RC après 2 cures	Pourcentage	Taux de RC (% par rapport au même groupe)
GB < 100000 (groupe 0)	50	37	90 %	74 %
GB > 100000 (groupe 1)	8	4	10 %	50 %
TOTAL	58	41	100 %	

La différence de RC après 2 cures des 2 groupes (GB < 100000/mm³ versus GB > 100000/mm³) n'est pas statistiquement significative ($p = 0,2$).

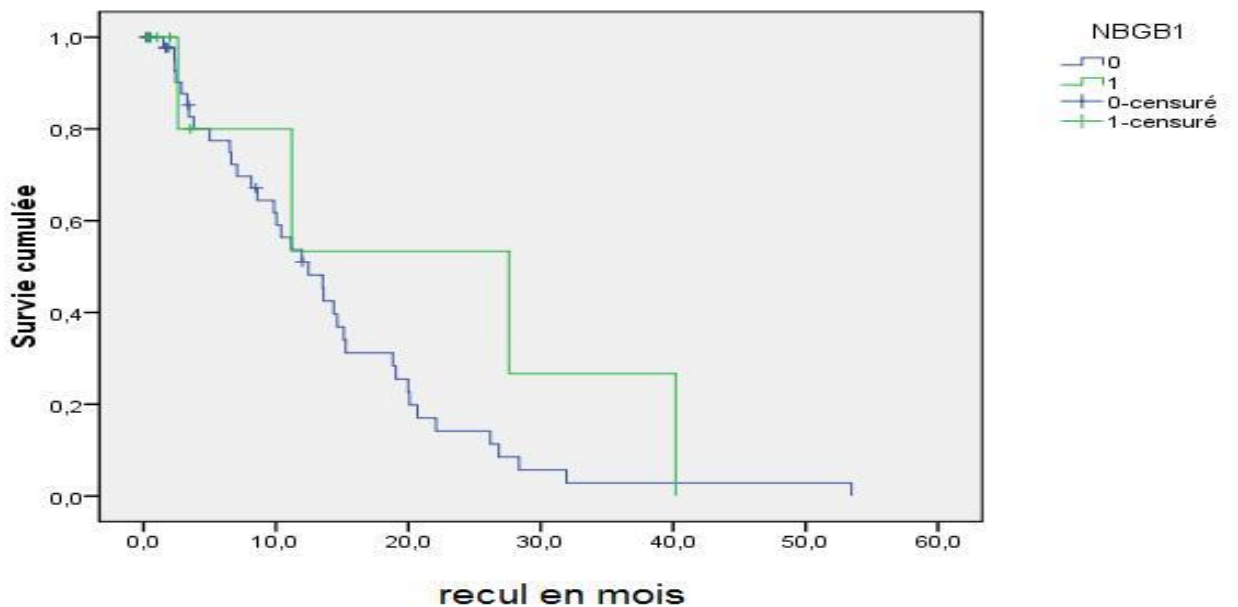


Figure 23 : La courbe de survie selon le taux des globules blancs

Le délai médian de survie est de 12,4 mois pour le groupe à GB < 100000/mm³ et de 27,6 mois pour le groupe à GB > 100000/mm³.

c) Type de LAM :

Tableau XIX : Taux de rémission complète en fonction du type de LAM

	N total	Nombre de RC après 2 cures	Pourcentage	Taux de RC (% par rapport au même groupe)
1, 2, 4 (groupe 0)	49	35	85 %	71 %
0, 5, 6, 7 (groupe 1)	9	6	15 %	67 %
TOTAL	58	41	100 %	

La RC après 2 cures entre le groupes de LAM 1, 2, 4 et le groupe de LAM 0, 5, 6, 7 est différente, mais statistiquement non significative ($p = 0,3$).

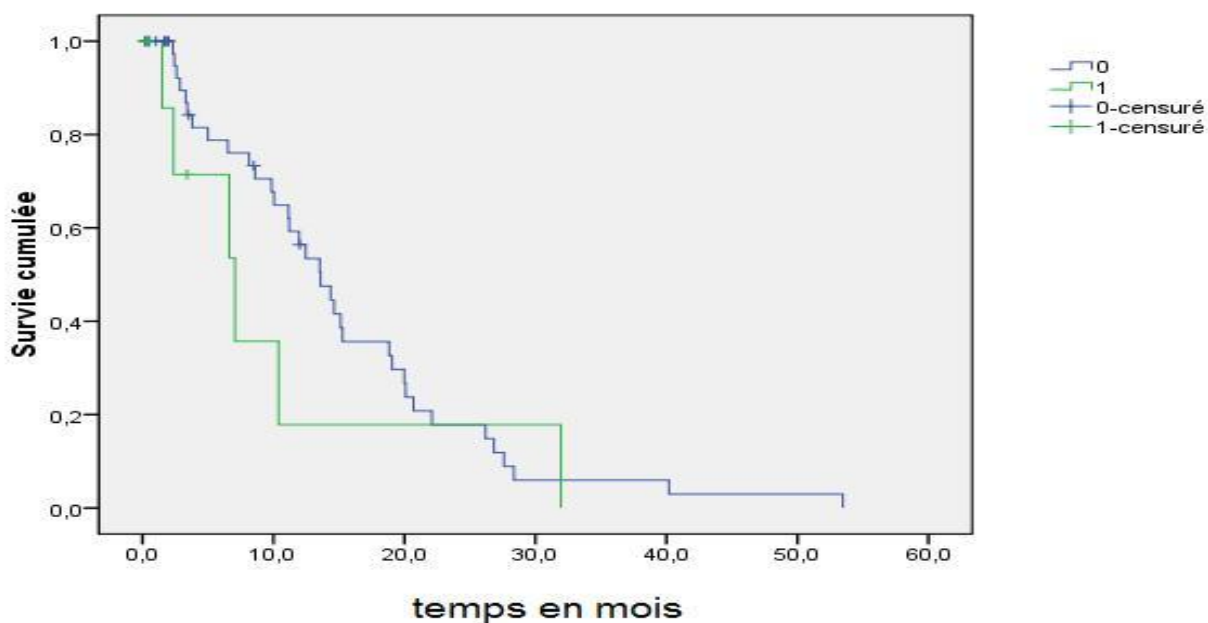


Figure 24 : La courbe de survie selon le type de LAM

Le délai médian de survie est de 13,6 mois pour le groupe 1, 2, 4 et 7 mois pour le groupe 0, 5, 6, 7.

d) Taux des blastes après l'induction :

Tableau XX : Taux de rémission complète en fonction du taux des blastes après l'induction

	N total	Nombre de RC après 2 cures	Pourcentage	Taux de RC (% par rapport au même groupe)
> 20 % (groupe 0)	15	8	20 %	53 %
< 20 % (groupe 1)	35	33	80 %	94 %
TOTAL	50	41	100 %	

La RC après 2 cures entre le groupe taux de blaste < 20 % et > 20 % n'est pas statistiquement différente ($p = 0,7$).

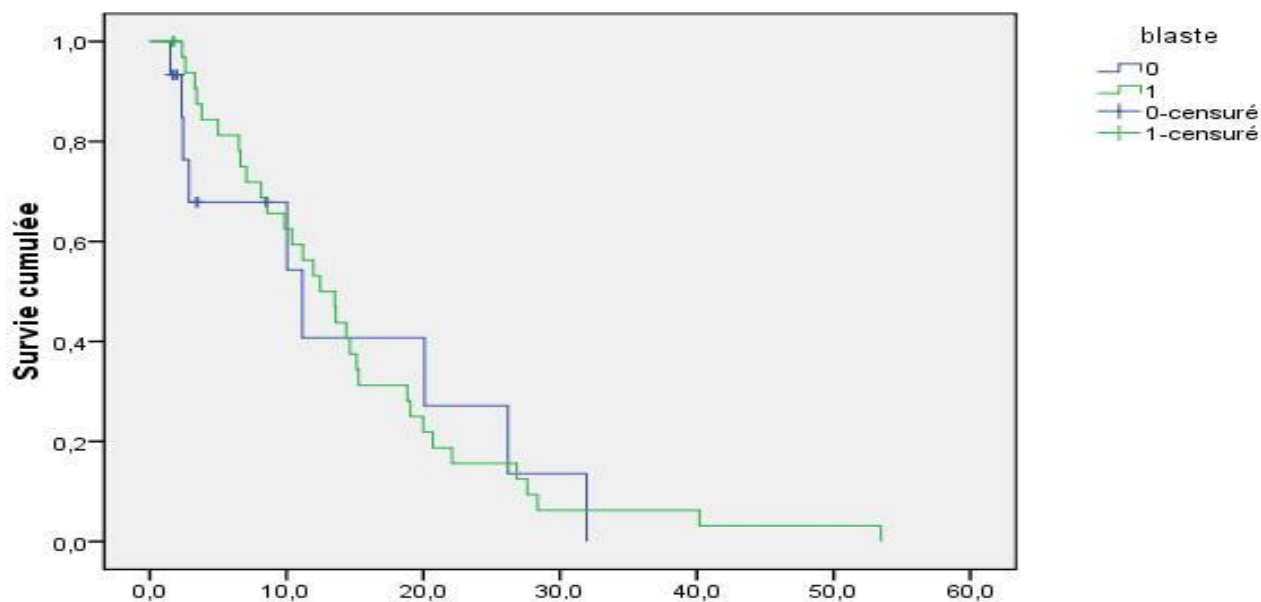


Figure 25 : La courbe de survie selon le taux des blastes après l'induction

Le délai médian survie est de 12 mois pour les 2 groupes.

e) Caryotype :

Tableau XXI : Taux de rémission complète en fonction du Caryotype

Pronostic	N total	Nombre de RC après 2 cures	Pourcentage	Taux de RC (% par rapport au même groupe)
Bon (groupe 1)	12	10	32 %	83 %
Intermédiaire (groupe 2)	10	6	26 %	60 %
Mauvais (groupe 3)	16	14	42 %	87 %
TOTAL	38	30	100 %	

La RC après 2 cures est différentes entre les groupes de bon, moyen et mauvais pronostic au caryotype. Cette différence est statistiquement non significative ($p = 0,7$).

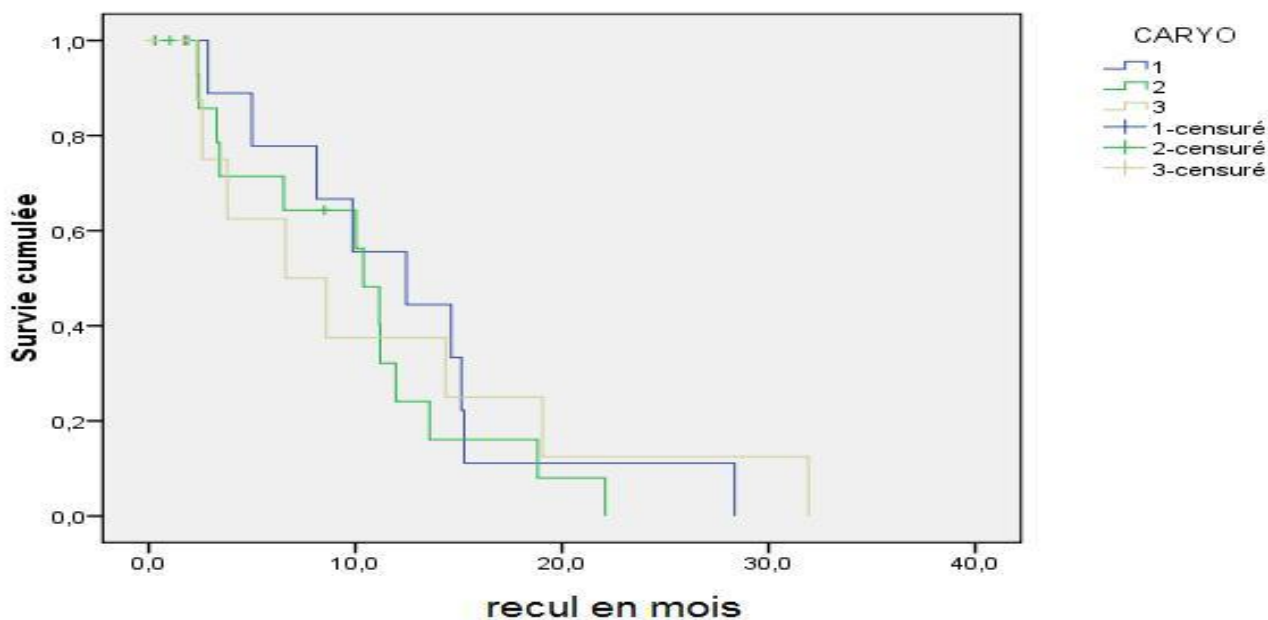


Figure 26 : La courbe de survie selon le caryotype

Sur les courbes, la différence est présente au cours des 10 premiers mois de traitement. Puis elle se perd après.

Discussion

1- Analyse des caractéristiques de nos patients:

Il s'agit d'une étude de cohorte prospective à visée évaluative et pronostique, de 70 enfants atteints d'une leucémie aiguë myéloblastique de novo, traités selon le nouveau protocole AML-MA 03 de traitement des LAM. Parmi lesquels, 58 ont été inclus dans le protocole. Cette étude a été colligée au service d'Hématologie et Oncologie Pédiatrique à l'Hôpital d'Enfants CHU-Rabat, sur une durée de 4 ans (du 1^{er} septembre 2003 au 1^{er} septembre 2007).

L'âge moyen de nos patients inclus a été de 9 ans, alors qu'il a été de 13 ans à Casablanca, selon une étude publiée au congrès d'hématologie de Rabat évaluant le protocole AML-MA 03 chez les enfants à l'hôpital Ibn Rochd du 1^{er} Avril 2003 au 1^{er} Avril 2007. Ceci est expliqué par le fait que leur protocole (AML MA-03) inclue des patients âgés de 1 à 20 ans [21]. Au département d'hématologie et oncologie de l'hôpital Saint Jude (Memphis, Etats Unis), selon une étude faite de 1980 à l'an 2000 intéressant 256 enfants, la moyenne d'âge est de 6,2 ans (extrêmes : 1 - 15 ans) [22]. Aussi, dans notre série, le taux des LAM a été de 5 % chez les patients âgés de moins de 1 an, 17 % de 1 à 5 ans, 34 % de 6 à 10 ans et de 44 % chez ceux âgés de 11 à 16 ans. Ainsi, comme dans la littérature, la fréquence des LAM augmente avec l'âge [23].

Le sex-ratio (garçon/fille) dans notre étude a été de 1,4. Il a été de 1 à Casablanca ainsi qu'à l'hôpital Saint Jude [22]. Dans la littérature, on retrouve la même incidence des LAM chez les filles et les garçons [23].

Le taux des patients mutualistes a été faible (16 %), ce qui constitue un obstacle à une prise en charge complète de la maladie.

Sur le plan clinique, 79 % de nos patients ont eu pour motif de consultation un syndrome d'insuffisance médullaire, 5 % ont eu un syndrome tumoral, 12 % les deux, 2 % un trouble respiratoire et 2 % un syndrome appendiculaire et des douleurs osseuses.

Soixante seize pour cent des patients ont eu une anémie à moins de 9 g/dl. Dans la littérature, le taux moyen d'hémoglobine est de 7 g/dl (il varie entre 2,5 et 14 g/dl) et plus de la moitié ont moins de 9 g/dl [24]. Quatre vingt dix neuf pour cent des patients ont eu un taux de plaquettes inférieur à 150.000/ml. Dans la littérature, 75 % des patients ont moins de 100.000 /ml de plaquettes [24]. Le taux des globules blancs excédant 100.000 /ml et qui constitue un facteur de mauvais pronostic [25,26] a été retrouvé dans 14 % à Rabat ainsi qu'à Casablanca [21]. Dans la littérature, 20 % des patients ayant une LAM ont une hyperleucocytose à plus de 100.000 /ml au moment du diagnostic [27,28]. Le taux moyen des globules blancs a été de 47.449 /ml à Rabat alors qu'à Saint Jude, il a été de 20.620 /ml [22]. Dans la littérature, le taux moyen des leucocytes est de 24.000 /ml [27,28]. Ainsi, dans notre série, on constate que le taux moyen des globules blancs est le double que celui de la littérature. Sur le plan cytologique, les sous-types selon la classification FAB considérés comme étant de pronostic particulièrement péjoratif (M0, M6 et M7) [29, 30] ont représenté 11 % des cas à Rabat et 18 % à Casablanca. Alors que dans la littérature, la catégorie (M6, M7) a représenté 23 % des cas [30]. Les formes LAM1 et LAM2 ont représenté 75 % des LAM dans notre étude et 61 % à Casablanca, alors qu'elles représentent en association avec la forme LAM0 25 % dans la littérature [30]. Cette différence de prévalence est expliquée par les difficultés diagnostiques de la LAM0 et la nécessité de l'immunophénotypage qui n'est pas systématique pour des raisons d'économie.

Sur le plan cytogénétique, les caryotypes ont été réalisés chez 72 % de notre population. La plus grande proportion des caryotypes réalisés a été représentée par

les caryotypes de mauvais pronostic (42 %). Trente deux pour cent ont été de bon pronostic et 26 % de pronostic intermédiaire. La t(8;21) a été l'anomalie la plus fréquemment retrouvée, 29 % des cas et 92 % des caryotypes de bon pronostic. On n'a noté aucun cas d'inv(16). La t(15;17) n'est pas incluse vu que le protocole n'inclue pas les LAM3. A Casablanca, les caryotypes ont été réalisés chez 88 % des patients. Parmi lesquels, les formes de mauvais pronostic ont représenté 26 %, 38 % de bon pronostic et 32 % sont de pronostic intermédiaire [22]. A l'hôpital Saint Jude, 31 % des caryotypes ont été de bon pronostic, 38 % de pronostic intermédiaire et 31 % de mauvais pronostic [22]. La fréquence des anomalies chromosomiques selon les données de la littérature est représentée dans la figure 3 [20]. L'étude cytogénétique des LAM chez l'enfant a un grand intérêt dans la précocité du diagnostic et le suivi de la maladie résiduelle. Par ailleurs, la cytogénétique classique et moléculaire (caryotype, FISH, RT-PCR...) constitue un facteur pronostic indépendant (tableau XXVII et tableau XXVIII) et un élément déterminant dans le choix thérapeutique [32,33,34]. Nous remarquons, ainsi que l'approche cytogénétique de notre population est limitée, du fait que la partie analysée est réduite et que l'analyse cytogénétique se fait dans un laboratoire privé à Casablanca. De plus, les modalités thérapeutiques de notre protocole ne prennent pas en compte et ne s'adaptent pas au profil cytogénétique du malade. Une chose qu'il faut revoir dans les prochains protocoles pour une éventuelle modification du protocole actuel AML-03.

Le taux de rémission après deux cures de chimiothérapie dans notre population est de 71 % mais le taux de mortalité avant et pendant de l'induction est de 12% et le taux de survie sans événement est de 10 %. Ainsi, nous avons réalisé notre objectif en terme de rémission complète mais pas en mortalité avant et pendant la cure d'induction et en survie sans événement. Ce qui souligne l'importance de la « supportive care » et démontre que la mortalité augmente après la deuxième phase de traitement. Nous allons tenter dans ce qui suit d'analyser le taux de rémission complète en fonction des facteurs pronostiques pour comprendre leur intérêt dans

l'adaptation thérapeutique. Nous allons étudier la toxicité de la chimiothérapie. Nous allons aussi parler des différents protocoles de chimiothérapie en comparaison avec le notre, ainsi que la greffe de la moelle osseuse et la thérapie ciblée qui constituent une nouvelle perspective pour le traitement des LAM au Maroc.

2- Analyse du taux de rémission complète en fonction des facteurs pronostiques :

L'ensemble des études réalisées sur les LAM de l'enfant ont analysé le taux de rémission complète après différents traitements en fonction de trois groupes de facteurs pronostiques: facteurs liés à l'hôte, facteurs liés à la réponse au traitement, et des facteurs liés aux caractéristiques de la maladie. Ces facteurs pronostiques, même cités séparément, sont interdépendants [36] (voir tableau XXII et XXIII). Avant d'analyser le taux de rémission complète en fonction des facteurs pronostiques, il est important de souligner qu'aucun des facteurs pronostiques communément admis n'a été retenu comme un facteur statistiquement significatif dans notre étude du fait que notre échantillon est réduit et non homogène (par exemple : seulement 3 des 58 enfants inclus soit 5 % de la population ont moins de 1 an). Néanmoins, en analysant les courbes de survie, on remarque une différence significative surtout au cours de la première et deuxième phase de traitement. Cette différence après la deuxième phase de traitement peut être expliquée par le fait que qu'une large proportion des patients ne reçoit pas l'aracytine à haute dose à la phase de consolidation (du fait du manque de l'aracytine). Aussi, ceci souligne l'intérêt entre autre du traitement de consolidation.

Les facteurs pronostiques liés à l'hôte comprennent : l'âge, le sexe, la race ou l'ethnie, le poids ainsi que d'autres facteurs.

En ce qui concerne l'âge, la plupart des études s'accordent à dire que le taux de rémission complète chez les nourrissons ayant surtout un âge inférieur à un an est similaire sinon légèrement meilleur que celui des enfants plus âgés [37,38]. Cette tranche d'âge a un meilleur pronostic que les adolescents et les adultes jeunes. Des analyses sur l'importance de l'âge dans l'évolution de la maladie chez les enfants et chez les adultes [39] ont montré qu'en excluant les patients ayant un pronostic favorable, le taux de survie sans événement (EFS) était similaire chez les nourrissons et les enfants plus âgés (respectivement $44 \pm 4 \%$ et $46 \pm 3 \%$) alors qu'il est inférieur chez les adolescents ($35 \pm 4 \%$) et l'adulte jeune ($23 \pm 4 \%$). Par ailleurs, il est communément admis que les enfants ont un meilleur pronostic que les sujets âgés plus de 60 ans. Les sujets jeunes ont habituellement des taux de rémission complète (RC) de 60 à 80 % et une survie globale à 5 ans d'environ 35 à 40 %, alors que pour les sujets âgés les taux de RC sont compris entre 45 et 55 % et la survie à 5 ans n'excède pas 10 % [40,41,42,43]. Ces différences sont dues à des facteurs divers comme une proportion importante d'anomalies cytogénétiques péjoratives, des antécédents de myélodysplasie plus fréquents ou la présence d'un phénotype de résistance aux drogues. Aussi, l'état général et les comorbidités font que les sujets âgés sont récusés pour les traitements plus intensifs. Dans notre étude, il n'y a pas de différence statistiquement significative entre le taux de rémission complète des nourrissons âgés de moins d'un an et les enfants âgés de plus d'un an ($p = 0,2$) car l'échantillon comprend seulement 3 enfant avec un âge < 1 an soit 5 % de la population étudiée. Le taux de rémission complète chez les enfants âgés de plus d'un an a été de 71 % et meilleur que chez les enfants âgés de moins de un an (67 %).

Le sex-ratio dans notre étude a été de 1,4. Le délai moyen de survie est identique chez la fille et le garçon. Le taux de rémission complète est aussi identique (71 %). Ce paramètre ne constitue pas un facteur pronostic statistiquement significatif ($p = 0,7$). Dans la littérature, il a été constaté que les filles ont un pronostic

légèrement meilleur à celui des garçons, mais cette association n'est pas assez forte pour avoir une implication thérapeutique [35].

La race ou l'ethnie peuvent aussi constituer un facteur pronostique. Dans une récente étude, les caucasiens ont un meilleur pronostic que les non caucasiens. Sur approximativement 1600 enfants traités selon le protocole the Children's Cancer Group (CCG), les américains d'origine espagnole et africaine ont un taux de survie globale de 35 % alors que qu'il est de 48 % pour les caucasiens [44].

Les enfants porteurs d'une trisomie 21 ont plus de risque de développer une LA que les enfants non trisomiques. Ce risque est estimé à 10 voir 20 fois [51]. La LAM chez les enfants ayant une trisomie 21, particulièrement ceux âgés de moins de 2 ans, est extrêmement sensible à la chimiothérapie cytotoxique. Ils ont ainsi de meilleurs résultats avec une chimiothérapie moins intensive. Leur taux de rémission complète est de 90 % et leur taux de survie globale est de 80 % [45,46,47,48]. Dans notre étude, il n'y a eu qu'un cas de LAM avec un Down syndrome. Il est décédé à J 15 de la première induction pour cause non précisée.

Le poids au moment du diagnostic a été récemment identifié comme un facteur pronostic. Lange et al. [49] ont comparé le taux de survie chez les patients en sous-poids (10th percentile) et en sur poids (> 95th percentile) avec le reste de la population. Ils ont établis que les patients en sous et surpoids ont un risque deux fois plus élevé de mortalité en comparaison avec les patients ayant un poids normal.

D'autres facteurs de risques, pouvant influencer la réponse et/ou la toxicité à la chimiothérapie en intervenant dans les métabolismes des drogues, ont été identifiés. Par exemple, les altérations héréditaires des enzymes de détoxification, glutathione S-transférase theta (GST), sont associées à une durée de survie plus courte vu l'excès de toxicité de la chimiothérapie [50].

La réponse à la chimiothérapie est aussi un important facteur pronostique. Celle-ci est évaluée essentiellement par la réponse à la première induction et la présence de « minimal residual disease » (MRD).

Le Medical Research Council (MRC) a évalué le rôle de la réponse à la chimiothérapie chez les patients traités par les protocoles MRC 10 AML. Ils ont montré que les patients ayant plus de 15 % de blastes dans la moelle osseuse avant le début de la deuxième induction ont un mauvais pronostic par rapport à ceux qui en ont moins [51]. Ils ont choisi le seuil de 15 % pour définir l'échec à la première induction car ils ont constaté que les patients en rémission partielle ayant (5 % à 15 % blastes) avaient un taux de survie identique à ceux ayant moins de 5 % de blastes et meilleur que ceux ayant 15 % à 20 %. Les plus mauvais résultats ont été notés chez les enfants ayant plus de 20 % de blastes. De nombreuses études, y compris ceux du Children's Oncology Group (COG), utilisent maintenant le seuil de 15 % pour définir l'échec de la réponse à la première induction (primary induction failure : PIF). Les patients avec PIF ont un très mauvais pronostic et récemment, le COG étudie l'intérêt de l'allogreffe de la moelle osseuse chez ces patients.

Dans notre contexte, on a choisi le seuil de 20 % pour définir l'échec de la première induction. La survie globale entre le groupe ayant un taux de blaste < 20 % et le groupe ayant un taux de blastes > 20 % n'est pas statistiquement différente ($p = 0,7$). Cependant, d'après la courbe, le taux de survie juste après toutes les cures de chimiothérapie est meilleur chez les patients ayant moins de 20 % de blastes. Après la courbe s'inverse, ce qui souligne la fréquence des rechutes après la chimiothérapie. Le taux de rémission complète chez les enfants ayant moins de 20 % de blastes est de 94 % tandis que pour ceux ayant plus de 20 % de blastes, il est de 53 %.

Après le traitement d'induction, un patient est considéré comme en rémission complète lorsque la moelle est redevenue normale avec moins de 5 % de blastes. Cependant, des cellules leucémiques persistent en nombre variable (pouvant aller jusqu'à 10^{10}), qui pourront être responsables d'une rechute. Ainsi, le but de l'étude de la maladie résiduelle est d'estimer le plus précisément possible le nombre de cellules leucémiques résiduelles, afin de proposer des traitements adaptés et d'augmenter le taux de guérison. Parmi les méthodologies capables de détecter un faible pourcentage de cellules leucémiques au sein des éléments hématopoïétiques normaux, la biologie moléculaire et la cytométrie en flux ont donné les meilleurs résultats [52].

En ce qui concerne la détection de MRD par la biologie moléculaire, la majorité des études ont utilisés la PCR (polymerase chain reaction) en utilisant l'enzyme de transcription inverse (RT)-PCR pour détecter la MRD chez les patients ayant des anomalies cytogénétiques [leucémie myéloïde aigue avec t(8, 21), inv (16) ou t(15; 17)] et ont voulu trouver un lien entre la présence de MRD et le risque de rechute [53,54,55]. Le seul sous-type pour lequel la MRD (détectée par la biologie moléculaire) a une utilité, a été formellement démontré chez les patients ayant une leucémie aigue promyélocytaire avec t(15;17). La détection de la persistance du gène de fusion de la t(15;17) est significativement associée à un risque élevé de rechute. Ainsi, une intervention thérapeutique précoce améliore les résultats [56, 57]. En revanche, le gène de fusion produit par la t(8;21) peut rester positif par PCR de nombreuses années chez les patients atteints de LAM en rémission morphologique [58,59]. Ainsi, la simple détection d'une anomalie de transcription ne peut être cliniquement significative. Des études plus récentes utilisant la PCR quantitative se sont révélées plus importantes dans l'identification des MRD cliniquement pertinente. Schnittger et al. [60] a montré que la mesure quantitative du niveau d'expression anormale de transcription t (8;21) et inv(16) au moment du diagnostic peut prédire le risque de rechute. La question est de savoir si une intervention

thérapeutique précoce par la détection de MRD par la biologie moléculaire peut améliorer les résultats.

Pour ce qui est de la détection de MRD par immunophénotypage, on a utilisé la notion que les cellules leucémiques expriment toujours des antigènes qui diffèrent de ceux des progéniteurs normaux. Ainsi, la cytométrie en flux peut détecter une cellule leucémique parmi 1.000 à 10.000 cellules normales [61]. Ce degré de sensibilité ne peut être atteint qu'avec certaines précautions méthodologiques: fenêtrage optimal des blastes, étude multiparamétrique, la recherche de phénotypes aberrants associés aux cellules leucémiques et l'analyse d'un nombre suffisant de cellules [62]. Ces phénotypes aberrants (CD34+, CD56+ ou CD34-, CD117+, CD15+ pour les blastes myéloïdes) sont très fréquents dans les LAM et permettent une quantification rapide de la maladie résiduelle [63,64]. Cette détection connaît toutefois des limites liées à la possibilité de modification du phénotype des blastes au cours du temps (faux négatifs dus à un switch phénotypique), à l'éventuelle fixation non spécifique des anticorps utilisés par leur fragment Fc et l'expression par un sous-groupe de cellules normales de profils antigéniques identiques à celui des cellules leucémiques [65,66]. Cependant, en utilisant des techniques appropriées (combinaison optimale d'anticorps, étude multiparamétrique faisant appel à 3 ou 4 fluorochromes, quantification antigénique), plusieurs équipes ont montré qu'il est possible de faire le diagnostic différentiel entre cellules leucémiques et hématogonies normales. L'avantage de la cytométrie en flux par rapport à la PCR est qu'elle est applicable chez la majorité des patients atteints de LAM. Plusieurs études récentes ont évalué l'utilité de la cytométrie en flux pour détecter la présence de la MRD chez les patients en rémission morphologique et leur corrélation avec le taux de survie. Dans l'étude de CCG concernant 252 enfants en rémission morphologique, Sievers et al. [67] ont établie que la détection de MRD par la cytométrie en flux permet d'identifier les patients ayant un risque de rechute et que la présence de la maladie résiduelle a une forte corrélation avec la survie sans rechute. Dans cette étude, 16 % des patients en rémission complète ont été identifiés comme ayant une MRD par la

cytométrie en flux. Ces patients ont eu plus de risque de rechute que les patients ayant MRD-négative, avec un taux de survie sans rechute après rémission de 35 %, comparé avec 65 % pour les patients ayant MRD-négative. Ils ont même réussi à établir le délai moyen de rechute pour ceux qui ont une MRD positive: 173 jours. Saint Jude a évalué la survie des patients ayant une MRD positive au 22^{ème} jour de traitement selon le protocole AML 97 et AML 02. Les résultats ont montré la valeur pronostique péjorative de la détection de MRD par la cytométrie en flux (voir diagramme ci-dessous). Cependant, les résultats du rapport de Berlin-Frankfurt-Muenster (BFM) ont démontré que la détection de MRD n'était pas un facteur pronostique indépendant des autres facteurs de risques traditionnels et qu'il n'était pas d'une grande utilité [68]. Aussi, la question qui se pose encore maintenant est de savoir comment utiliser de façon optimale MRD pour une adaptation thérapeutique.

Dans notre formation, la détection de MRD par la biologie moléculaire ou immunophénotypage ne se fait pas. Elle pourrait être utilisée pour différencier les patients à haut risque de rechute des autres patients et permettre ainsi une éventuelle adaptation de traitement.

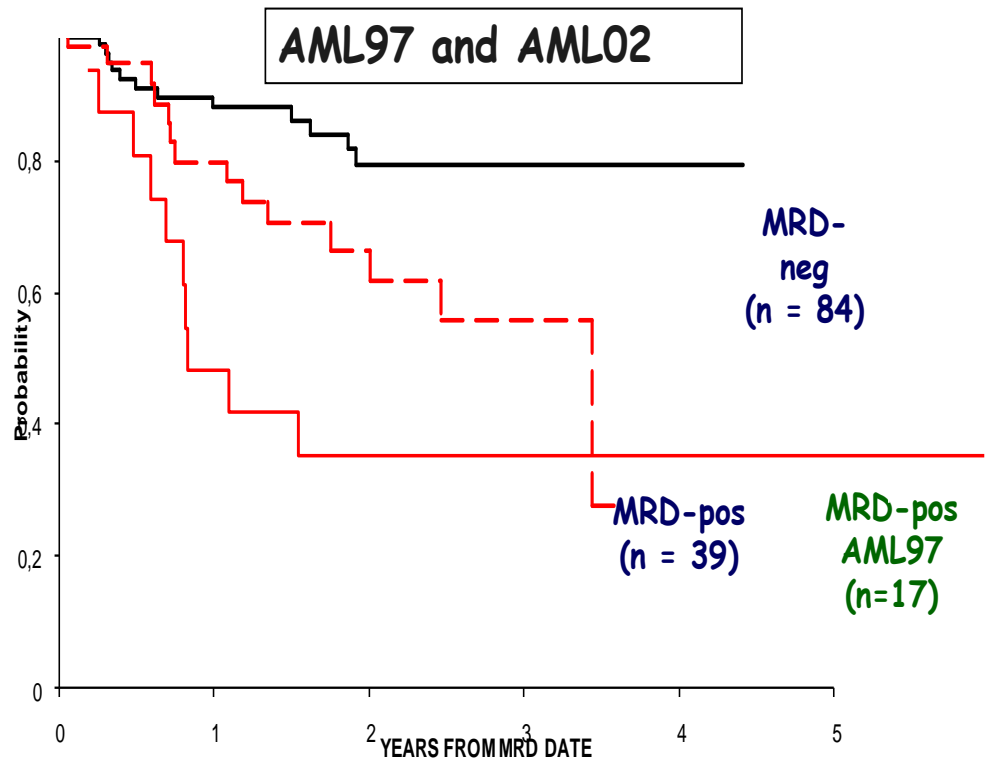


Figure 27 : Courbe de survie en fonction de la MRD détectée à J22 du traitement à Saint Jude

Les caractéristiques biologiques de la leucémie comme le taux de globules blancs, la classification FAB et le profil cytogénétique sont considérés comme des facteurs pronostiques importants.

Ainsi, un taux de globules blancs inférieurs à 20.000 /ml est associé à un bon pronostic alors qu'un taux supérieur à 100.000 /ml est considéré comme un facteur de mauvais pronostic [69]. Cette hyperleucocytose est médiée par différentes anomalies génétiques parmi lesquels FLT3/internal tandem duplication (FLT3/ITD), considéré aussi comme un facteur de mauvais pronostic, responsable de la prolifération leucocytaire et de la réduction du taux de survie. Ainsi, le taux des globules blancs n'est pas un facteur de pronostic indépendant des autres facteurs de risque. Dans notre étude, Le taux des globules blancs ne constitue pas un facteur pronostique statistiquement significatif. La différence de RC après 2 cures des 2 groupes (GB < 100.000 /mm³ versus GB > 100.000 /mm³) n'est pas statistiquement significative ($p = 0,2$). Ceci peut être expliqué par le fait que le nombre des patients ayant un taux de globules blancs excédant 100.000 /mm³ est de 14 % par rapport à l'ensemble de la population. Toutefois, le taux de rémission complète chez les patients non hyperleucocytaires (74 %) est meilleur que chez les patients hyperleucocytaires (50 %). Néanmoins, le délai médian de survie est de 27,6 mois pour le groupe à GB < 100.000 /mm³ et meilleur que pour le groupe à GB > 100.000 /mm³ :12,4 mois.

Pour ce qui est de la classification FAB cytologique des LAM, les variétés cytologiques M0, M6 et M7 sont considérés comme de pronostic particulièrement péjoratif [29,30]. Ceci est dû au fait qu'ils sont associés à un profil cytogénétique défavorable. Dans notre contexte, leur taux est de 15 % à Rabat et de 18 % à Casablanca. Le taux de rémission complète des deux groupes de LAM 1, 2, 4 et le groupe de LAM 0, 5, 6, 7 est différent, mais statistiquement non significatif ($p = 0,3$). Le taux de rémission complète du groupe LAM 1, 2, 4 a été de 71 % et meilleur que celui du groupe LAM 0, 5, 6, 7 (67 %). En outre, on remarque que la

survie du groupe (LAM 1, 2, 4) est meilleure que dans le groupe LAM (0, 5, 6, 7) au cours des 20 premiers mois de traitement, mais pas après.

La cytogénétique est reconnue comme l'un des facteurs pronostiques les plus importants. Elle a été évaluée dans de nombreux essais cliniques afin d'identifier les groupes à pronostic défavorable et favorable. En ce qui concerne les groupes cytogénétiques à pronostic favorable, la t(8;21) et inv(16) sont les translocations les plus communément identifiées et sont utilisées pour la classification OMS de la LAM. Elles sont considérées comme « CBF » du fait de la production du gène de fusion AML1/ETO par la t(8;21) qui intervient dans la régulation de la production du CBF α et du gène de fusion CBF-MYH11 par l'inv(16), qui lui intervient dans la régulation de la transcription du CBF β (voir rappel de LAM) [70,71]. Le CBF est un régulateur transcriptionnel hétérodimérique qui se compose de 2 sous-unités : CBF α et CBF β et qui intervient dans le processus de différenciation au cours de l'hématopoïèse normale. Les essais cliniques conduits par the Cancer and Leukemia Group B (CALGB) chez les adultes et les enfants ont montré que les patients ayant CBF AML ont de meilleurs résultats que les autres LAM et répondent mieux aux hautes doses de cytarabine. La présence de t(8;21) ou inv(16) sont associés à une survie plus longue chez les enfants. Les essais cliniques MRC AML menés chez l'enfant et l'adulte ont démontré que 17 % des enfants ont CBF leukemia, dont 12 % avec t(8;21) et 5 % avec inv(16) [72]. Les patients ayant t(8;21) et inv(16) ont significativement une meilleur rémission après la première induction et un meilleur taux de survie que les patients ayant un caryotype normal. Toutefois, dans MRC 10, cette différence est moins marquée chez les enfants, où le taux de survie sans rechute après rémission pour les patients CBF à risque favorable est similaire à ceux qui ont un risque standard [73]. D'autres études ont montré une différence de résultats entre la t(8;21) et inv(16). L'étude POG (Pediatric Oncology Group) a évalué la valeur pronostique des anomalies cytogénétiques chez 478 enfants atteints de LAM [74]. Les patients ayant une t(8;21) et inv(16) ont significativement une meilleure

rémission que les patients ayant un caryotype normal. Cependant, les résultats après la rémission sont différents entre $inv(16)$ et $t(8;21)$. Les patients avec $inv(16)$ ont un taux de survie de 75 % comparé à 54 % chez les patients ayant un caryotype normal. En contraste, les patients avec $t(8;21)$ ont un taux de rechute plus élevé non différent de celui des enfants ayant un caryotype normal. Toutefois, la durée de survie des patients ayant une $t(8;21)$ est plus longue que pour ceux ayant un caryotype normal. En outre, différentes études ont montré que la greffe de la moelle osseuse n'augmentait pas le taux de survie des patients ayant une $t(8;21)$ ou $inv(16)$ et que celle-ci devrait être réservée aux patients ayant un risque de rechute. L'étude CCG a démontré que parmi les 98 patients en première rémission avec $t(8;21)$ ou $inv(16)$, les résultats sont similaires pour ceux qui ont ou n'ont pas de donneurs (survie sans événement 61 % versus 72 % ; taux de survie 78 % versus 77 %).

Les réarrangements du gène MLL (Mixed lineage leukemia) sont impliqués dans la leucémogénèse myéloïde et ceci a été évalué dans de nombreux essais cliniques [75,76,77]. Même si les récentes études sur la présence des anomalies 11q23 sont associées à des résultats défavorables, d'autres études contemporaines ont montré qu'il n'avait pas de valeur pronostique [72,75]. L'évaluation de 42 patients avec 11q23 traités à St. Jude Children's Research Hospital durant la période 1980–1997 n'a montré aucune différence de résultats chez les patients avec ou sans 11q23. Toutefois, chez les patients ayant une anomalie 11q23, les patients avec $t(9;11)$ ont significativement un taux de survie global et sans événement meilleur que pour les patients ayant un caryotype normal ou autres anomalies du 11q23 [78]. Cependant, de plus larges études MRC, CCG, or POG n'ont pas conclus à des résultats similaires chez les patients avec $t(9;11)$ [72,74]. D'autres évaluations sont nécessaires.

En ce qui concerne les anomalies cytogénétique défavorables, les patients ayant un caryotype défavorable représentent une petite proportion des patients atteints de leucémie aiguë myéloblastique. Les anomalies du chromosome 5 et 7 est associée à de médiocres résultats [72,75]. L'étude MRC 10, a évalué aussi bien les adultes et

les enfants pour l'identification des groupes à risque. Les anomalies du chromosome 3 ont été initialement identifiées comme un caryotype à risque élevé [72]. L'évaluation des enfants a montré que -7 et -5/5q sont des facteurs de mauvais pronostiques chez l'enfant. La prévalence de ces anomalies est de 2 % à 4 % et elles représentent moins de 10 % des patients à haut risque. Ces patients ont un taux de rémission après induction inférieur aux autres et un mauvais taux de survie avec un taux de rémission après induction à 50 %, un taux de rechute élevé et un taux de survie global à moins de 20 % [72,79]. En contraste avec la LAM de l'adulte, l'anomalie du chromosome 3 n'a pas de signification pronostic chez l'enfant [79]. D'autres anomalies cytogénétiques récurrentes, comme t(6;9) est associé à de mauvais résultats. Cependant, du fait de sa prévalence minime et son association significative avec des anomalies moléculaires (FLT3/ITD), la vraie signification pronostique de la t(6;9) n'est pas clairement établie.

La présence d'un caryotype complexe est aussi considérée comme un facteur de mauvais pronostiques. Certaines classifications considèrent que le caryotype complexe est définie par la présence de 5 ou plus d'anomalies [72,80] alors que d'autres le définissent par la présence de 3 ou plus d'anomalies [81,82]. La majorité des études se sont portées sur l'adulte et de rares articles ont été publiés chez l'enfant. Des études valables ont suggéré que les caryotypes complexes, dont une large proportion a des anomalies du chromosome 5 et 7, sont hautement associés à un haut risque [83]. Dans l'étude Farag et al. [83], concernant 94 patients ayant au moins 5 anomalies, 75 ont les anomalies -5/5q et 48 ont -7/7q, et aucun patient n'avait CBF AML. D'autres études ont démontré que les résultats favorables obtenus avec CBF AML ne diminuait pas en présence d'un caryotype complexe [84], mettant en évidence que la présence de translocations spécifiques, et non le nombre de translocations, définit les résultats cliniques. Cette distinction est importante chez les enfants car la prévalence des caryotypes complexes est minime et la prévalence de caryotype de pronostic favorable est plus élevée que chez les adultes. Aussi, même si les caryotypes complexes comprennent le plus souvent des

caryotypes de risque défavorable (-5/15q ou -7/7q), il n'a pas été démontré que la présence de multiples anomalies en l'absence d'une association avec les caryotypes de pronostic défavorable a une signification pronostique. Une récente évaluation de CCG a échoué dans la démonstration de la valeur pronostique de la présence d'au moins 5 anomalies chez les patients ayant un risque standard.

En ce qui nous concerne, le profil cytogénétique ne constitue pas un facteur pronostique statistiquement significatif ($p = 0,7$). Cependant, en analysant les courbes de survie, le taux survie des patients appartenant au groupe de pronostic favorable (dans notre contexte : la t(8,21) et la trisomie 21) est meilleur au cours des 10 premiers mois. Le taux de rémission complète pour les groupes de bon pronostic est de 83 % comparé à 60 % pour les groupes à pronostic intermédiaire (comprenant les patients ayant un caryotype normal et del 11q) et 87 % pour les groupes à pronostic défavorable (comprenant les patients ayant -5/del5q et -7 et les caryotypes complexes). Quarante vingt dix pour cent des patients ayant une t(8;21) étaient en rémission complète après les deux cures de chimiothérapie.

Pour ce qui est de la résistance aux drogues, elle constitue l'obstacle majeur dans le traitement des LAM. Elle est due au gène 1 de résistance aux multidrogues (MDR1) codant pour P-glycoprotein (Pgp), ainsi qu'à l'expression d'autres protéines comme le MDR-associated protein 1 (MRP1) et lung resistance protein (LRP). De nombreuses études ont évalué la signification pronostique de l'expression des gènes MDR avec des conclusions variables [85–88]. Les premières études ont montré que les blastes des cellules leucémiques qui expriment à un très haut degré les gènes MDR sont les plus résistants à la chimiothérapie et ont un faible taux de survie. Cependant, d'autres études contemporaines ont montré qu'avec les protocoles de la chimiothérapie intensive, la présence de MDR1 n'est pas un facteur pronostic indépendant des autres facteurs pronostique comme la cytogénétique [88]. Selon, ces études, le MDR1 était hautement exprimé chez les patients âgés ayant un profil cytogénétique défavorable. L'évaluation des gènes MDR1 chez les enfants a

échoué dans la démonstration de leur signification pronostique [87]. Aussi, d'autres études ont démontré que l'expression de MDR-1 n'est pas élevée chez les enfants en rechute [89]. Sievers et al. [86] ont démontré une prévalence de 13 % pour l'expression de Pgp chez 130 enfants traités par le protocole CCG. Les résultats cliniques étaient similaires entre ceux qui exprimaient Pgp et ceux qui ne l'exprimaient pas. Même si l'expression de MDR1 peut ne pas être un facteur pronostique indépendant. Ceci peut être utilisé pour la thérapie ciblée des LAM. De nombreuses molécules sont capables de désactiver la fonction des protéines codées MRD ce qui peut rendre les cellules plus sensibles aux effets de la thérapie ciblée. En association avec la chimiothérapie conventionnelle, ces agents peuvent augmenter la réponse à la chimiothérapie et augmenter le taux de survie.

Le récepteur de la tyrosine kinase (RTK) et ses effets en aval (RAS, Janus kinase/signal transducteur et activateur de la transcription [JAK/STAT]) sont maintenant reconnus comme des facteurs intervenants dans la pathogénie de plusieurs cancers. L'activation du récepteur par un récepteur intrinsèque muté (FLT3, c-KIT et les mutations de c-Fms), la stimulation autocrine et paracrine du récepteur par un ligand sécrété par la tumeur (vascular endothelial growth factor [VEGF] receptor), l'activation des effecteurs en aval, contribue à la pathogénie de la LAM et la résistance à la chimiothérapie (voir figure1). Les mutations des gènes des récepteurs de FLT3 et c-KIT sont les mutations des RTK les plus communes dans les LAM. Nous allons étudier les mutations de FLT3 et de c-KIT.

L'étude du gène de MDR et de ces mutations ne se fait pas chez nous.

La FLT3 appartient à la classe III de la famille des récepteurs à activité tyrosine kinase. In vivo, après fixation de son ligand, il y a dimérisation du récepteur, phosphorylation des nombreux résidus tyrosine aboutissant au signal de prolifération et d'activation cellulaire. On a démontré que les mutations du récepteur de FLT3 sont les altérations génétiques les plus communément identifiées dans les LAM.

On a décrit deux types de mutations de FLT3 : une duplication en tandem d'une partie du gène FLT3 « FLT3/ITD » (internal tandem duplication) et des mutations ponctuelles au niveau du codon 835 induisant une activation constitutive du récepteur. La détection des duplications du gène FLT3 est très importante en pathologie. Elles semblent constituer un facteur pronostique indépendant, en particulier dans les LAM à caryotype normal (voir figure 28). Ces mutations sont impliquées dans la progression rapide de la maladie et la résistance à la chimiothérapie conventionnelle. FLT3/ITD a une prévalence de 12 à 15 % chez les enfants [90,91], 20 à 25 % chez les adultes jeunes [92] et approximativement 35 % chez les adultes plus âgés [93]. Au début, les études ont montré la corrélation entre la présence de FLT3/ITD avec une hyperleucocytose significative et ont démontré la valeur pronostique médiocre de la présence FLT3/ITD. Dans des études plus récentes utilisant la chimiothérapie contemporaine, la signification pronostique de FLT3/ITD est moins dramatique avec un taux de survie de 30 % approximativement pour la population FLT3/ITD comparé avec 45 % chez les patients sans FLT3/ITD [95-97]. Cependant, ces études ont aussi identifié une sous-classe de patients avec FLT3/ITD chez qui le ratio de ITD sur allèle normal (ITD-allelic ratio [AR]) a une signification pronostique. Le ITD-AR a été ainsi utilisé pour identifier les patients avec FLT3/ITD ayant un risque élevé de rechute et de médiocres résultats dans les essais cliniques [96,98,99]. Thiede et al. [96] ont utilisé ITD-AR pour définir le risque de rechute. Les patients avec un taux ITD-AR moins que la moyenne (0.78) ont un taux de survie de 60 % approximativement alors que ceux ayant ITD-AR > 0.78 ($p = 0,006$) ont un taux de survie globale de 0 %. Chez les enfants traités BFM, les patients avec un taux élevé de ITD-AR (plus que la médiane 0.69) ont un pronostic médiocre, alors que les résultats de ceux ayant un faible taux de ITD-AR (0.69) n'est pas différent de ceux n'ayant pas de FLT3/ITD [98]. Une évaluation plus récente de plus de 630 patient traités par le protocole CCG ont établis qu'un taux ITD-AR inférieur ou égal à 0.4 est cliniquement significatif et permet de distinguer parmi les patients qui ont FLT3/ITD-positive ceux qui ont un

haut risque de rechute. Dans cette étude, ceux qui ont FLT3/ITD avec un taux élevé de ITD-AR (>0.4) ont un risque de rechute de 80 % et un taux de survie < 20 %, en comparaison avec ceux qui ont un taux faible de ITD-AR, ou sans FLT3/ITD (voir figure 29) [95]. Cette limite de 0,4 a été validée par la cohorte européenne. En ce qui concerne les mutations ponctuelles au niveau du codon 835 induisant une activation constitutive du domaine kinase, elle a été identifiée chez 7 % des patients adultes et enfants atteints de LAM. Il a été démontré que les patients ayant cette mutation ont un faible taux de GB, un taux de rémission après induction plus élevé, et un meilleur taux de survie que les patients FLT3/ITD.

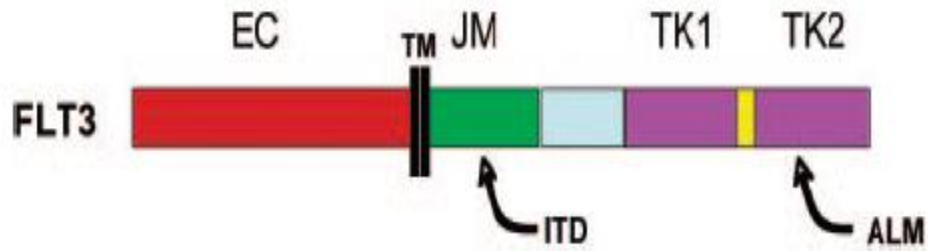


Figure 28 : La structure du récepteur FLT3

Le récepteur FLT3 est composé d'un domaine extracellulaire (ressemblant à l'immunoglobine) (EC), d'un domaine transmembranaire (TM), d'un domaine juxtamembranaire et de deux domaines tyrosine kinases(TK). Les mutations de FLT3 ont été identifiées dans JM domaine (*FLT3/ITD*) et dans TK domaine (*FLT3/ALM*).

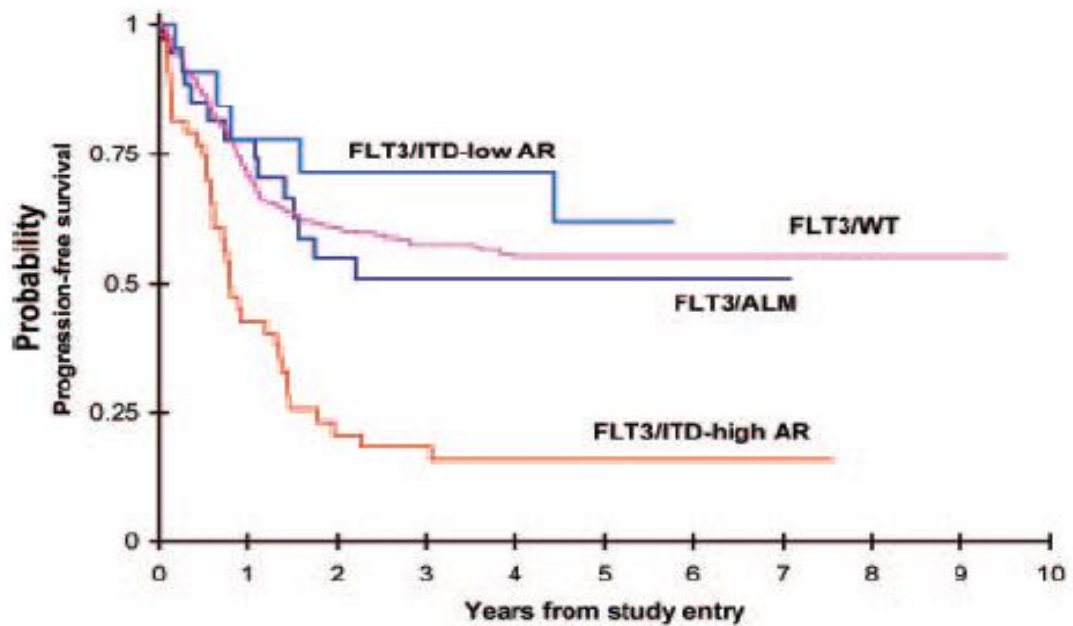


Figure 29 : La signification pronostique de FLT3

Pour ce qui est des mutations du gène du récepteur c-KIT, elle comprend des mutations de la partie juxta membranaire ou du domaine kinase et conduit à l'activation constitutive du récepteur c-KIT. L'activation de la mutation du gène récepteur c-KIT a été identifiée dans 2–15 % des hémopathies myéloïdes [99] comme la mastocytose, le syndrome myélodysplasique et la LAM. Plus récemment, on a démontré que c-KIT mutations est prévalente dans CBF leukemia, avec une prévalence de 40 % chez les patients avec une t(8;21) ou inv(16) atteint de LAM [99]. Même si de récentes études n'ont pas démontré la signification pronostique des mutations de c-KIT, une évaluation des mutations du gène du récepteur c-KIT tout particulièrement les mutations D816 ont suggéré que les patients avec CBF leukemia ayant les mutations D816 ont un taux de rechute plus élevé que ceux qui ne l'ont pas [100-102]. Une autre étude a rapporté que les patients ayant CBF leukemia avec KIT mutation avaient un taux de rechute > 60 %, comparé avec < 30 % pour ceux n'ayant pas de mutations [102]. Aussi, une étude de Shimada et al [103], concernant un plus petit nombre de patients ayant CBF LAM, ont démontré une association entre l'activation de c-KIT mutations et un pronostic médiocre chez l'enfant. L'étude des mutations de RTK a été utilisée dans la thérapie ciblée. De petites molécules inhibant les récepteurs se sont révélées efficaces in vitro et chez les modèles animaux, cependant leur utilisation comme seul produit de chimiothérapie dans les rechutes de LAM n'a pas donné de résultats. Des essais évaluant l'utilité des inhibiteurs de FLT3 en association avec la chimiothérapie conventionnelle aussi bien chez les patients ayant une rechute de LAM ou LAM de novo est en cours. Il apparaît que les inhibiteurs de FLT3 peuvent augmenter la réponse à la chimiothérapie chez les patients ayant des mutations FLT3.

Des investigations ont été conduites afin d'identifier de nouveaux marqueurs plus prédictifs du risque de rechute permettant ainsi d'adapter le traitement. Des mutations des gènes comme CCAAT/enhancer binding protein-alpha (CEBP- α) et nucleophosmin (NPM) régulant l'hématopoïèse ont été identifiées et leur

signification pronostique est en cours d'étude. La présence de mutations CEBP- α , qui module la différenciation des granulocytes et induit une maturation, a été identifié chez 10% des adultes atteints de LAM et leur expression est associée à des résultats cliniques favorables. La prévalence des mutations de CEBP- α chez les enfants atteints de LAM est réduite et sa signification pronostique n'est pas clairement établie. Le NPM, protéine nucléocytoplasmique avec une localisation nucléaire proéminente, régule la voie ADP-Ribosylation Factor (ARF)-p53 tumor-suppressor. Les mutations de ce gène entraînent une localisation cytoplasmique des protéines atteintes. Les mutations NPM ont été rapportées chez 30 à 50 % des adultes atteints de LAM [104] avec une prévalence de 10 % chez l'enfant [105]. L'évaluation de la signification pronostique des mutations de NPM a suggéré que la présence de mutations de NPM est associée à des résultats favorables chez les adultes atteints de LAM ayant un caryotype normal sans FLT3/ITD. Toutefois, l'évaluation de la prévalence et de la signification pronostique des mutations de NPM chez les enfants ayant une LAM traités par le protocole CCG a échoué dans la démonstration de la signification pronostique de cette mutation [106].

D'autres molécules ont été identifiées comme des facteurs pronostiques. L'expression du gène Wilm's tumor (WT1) est impliquée dans la pathogénie et le pronostic des LAM. Des études récentes ont montré que les patients exprimant WT1 à un haut niveau à la fin de l'induction ont des résultats médiocres ce qui suggère son utilité comme le marqueur MRD à la rémission. La télomérase est aussi impliquée dans la leucémogénèse et une étude a suggéré que sa présence pouvait être un facteur pronostique chez les enfants atteints de LAM. BAALC (brain and acute leukemia, cytoplasmic) est un gène dont l'expression à un haut degré a été récemment associée à des résultats médiocres chez les adultes atteints de LAM. L'expression à un haut degré de la mutation AF1q, un gène de fusion MLL qui intervient dans la régulation de l'hématopoïèse, est associée à un phénotype indifférencié et des résultats défavorables. L'expression du ligand VEGF

est élevée dans les leucémies, et une récente étude a montré que l'expression à haut degré du ligand VEGF (et la stimulation autocrine et paracrine) peut être associée à des résultats médiocres.

D'autre part, de nouvelles technologies ont permis de déterminer des gènes et les protéines afin d'affiner le diagnostic des sous types de LAM, d'identifier les facteurs pronostiques, de développer de nouvelles drogues. L'analyse de DNA microarray a permis une classification de la maladie en se basant sur l'expression des gènes. Cette technologie a été récemment développée pour prédire les résultats chez l'adulte [107]. La classification génomique du risque de rechute est en cours d'application chez les enfants atteints de LAM et les résultats récents sont encourageants [108].

Tableau XXII: les facteurs pronostiques de la leucémie aiguë myéloblastique chez l'enfant [35].

Favorable

LAM avec t(15;17)(q22;q12-21)
 LAM avec inv(16)(p13q22) ou t(16;16)(p13;q22)
 LAM avec t(8;21)(q22;q22)*
 LAM avec t(9;11)(p22;q23)*
 LAM chez les enfants ayant un Down syndrome
 LAM chez les enfants âgés de moins de un an *

Intermédiaire ou indéfini

Leucémie aiguë mégacaryoblastique
 LAM sans anomalies chromosomiques randomisées
 LAM avec un caryotype normal
 FLT3 mutations/internal tandem duplications
 L'amplification MLL
 Expression de ATP-binding cassette (ABC) transporters
 mutations du gène CCAAT/enhancer binding protein alpha
 Surexpression de l'ecotropic viral integration site-1 (EVI-1)

Défavorable

LAM avec monosomie 7 or -7(q)
 LAM avec t(6;9)(p23;q34)
 LAM avec caryotype complexe
 LAM secondaire au syndrme myélodysplasique
 Leucémie persistante après deux cures de chimiothérapie intensive
 LAM secondaire à une thérapie
 *groupe pronostic intermédiaire dans certaines études

Abbreviations: FAB, French-British-American classification; FLT3, FMS-like class III tyrosine kinase receptor gene; MLL, mixed-lineage leukemia gene

Tableau XXIII : classification des facteurs pronostiques de la leucémie aigue myéloblastique chez l'enfant [3]

Prognostic factor	High risk		Favorable risk	
	Established	Under study	Established	Under study
Cytogenetics	Deletion chr. 5q Monosomy 5 or 7	Complex cytogenetics t(6;9) Abnormal chr. 3	t(15;17) inv(16) t(8;21)	t(9;11)
Mutations of signal transduction pathways	<i>FLT3/ITD</i> , high ITD-AR	c-KIT c-Fms VEGF receptor N- and K-RAS		<i>CEBP-α</i> mutation <i>NPM</i> mutation
Response to therapy	Poor response to therapy	Minimal residual disease	Rapid response to therapy	
Novel prognostic markers		High WT1 expression High VEGF expression High BAALC expression Telomerase activity Gene expression profile Proteomic signature		Gene expression profile Proteomic signature

Abbreviations: BAALC, brain and acute leukemia, cytoplasmic; CEBP-α, CCAAT/enhancer binding protein-alpha; chr., chromosome; *FLT3/ITD*, FLT3/internal tandem duplication; ITD-AR, internal tandem duplication allelic ratio; NPM, nucleophosmin; VEGF, vascular endothelial growth factor; WT1, Wilms' tumor.

3- Toxicité de la chimiothérapie :

Les effets secondaires de la chimiothérapie sont d'ordre hématologiques (neutropénie, anémie et thrombopénie), digestifs (Nausées, vomissements, diarrhées et constipation), cutanéomuqueuse (mucite, atteinte des phanères, neuropathies périphériques) et cardiaques.

En ce qui concerne les nausées, la chimiothérapie anticancéreuse peut entraîner des nausées et des vomissements d'intensité variable selon les produits et les susceptibilités individuelles. Les nausées et les vomissements sont classés en précoces (au cours des 24 premières heures qui suivent le traitement) et retardées (après 24 heures, jusqu'à 5 jours). Elles peuvent être responsables d'une anorexie, de troubles hydro-électrolytiques, d'une déshydratation avec des conséquences souvent sévères chez l'enfant. Le traitement antinauséeux est basé pour les nausées précoces sur les antagonistes des récepteurs 5HT3 à la sérotonine (Kytril® et Zophren®, vogaset®, ondamsétron®) en association éventuelle avec des corticoïdes pour les plus émétisantes. Pour les nausées retardées, on prescrit : les neuroleptiques, les antagonistes des récepteurs 5HT3 à la sérotonine (Zophren®) +/- des corticoïdes.

Dans notre contexte, la toxicité digestive en particulier les vomissements a été observée dans environ 85 % des cas. Les antiémétiques les plus prescrits dans notre formation sont l'oradexan et/ou les corticoïdes.

La toxicité hématologique est constante, transitoire, dose-dépendante, pouvant toucher les 3 lignées : les globules blancs (la neutropénie qui apparaît 8 à 10j après la chimiothérapie et qui comporte un risque infectieux); la thrombopénie qui comporte un risque hémorragique et l'anémie. La toxicité hématologique après la chimiothérapie a atteint en moyenne 77 % de nos patients. La chimiothérapie au cours de la première consolidation était la plus toxique.

Le syndrome hémorragique constitue 11 % des causes de décès de notre population.

Le taux de nos patients atteints d'infection a été de 82 %. Il s'agit le plus souvent de mucite et d'infection pulmonaire. Le choc septique a constitué 25 % des causes de décès de notre population et l'association du syndrome hémorragique et du choc septique 37 %. Ceci reflète l'intérêt des soins de support « supportive care ». Les soins de support comprennent la prévention et le traitement de l'infection en cas de neutropénie, de la transfusion plaquettaire en cas de thrombopénie et de la transfusion de culot globulaire en cas d'anémie (voir plus bas). Aussi, pour prévenir les complications infectieuses, l'isolement en flux laminaire, qui reste le meilleur moyen de prévention du risque d'aspergillose disséminée, ne se fait pas dans notre unité. D'autre part, le délai entre la fièvre et l'instauration de l'antibiothérapie chez les patients neutropéniques le plus souvent suite ou au cours de chimiothérapie, est long. Ce qui a pour effet de limiter l'efficacité de l'antibiothérapie. En outre, le maintien du patient, ayant une neutropénie fébrile, dans une chambre stérile est difficile à réaliser dans nos conditions. Aussi, les malades ne reçoivent pas d'antibioprophylaxie. (Les mesures de la supportive care sont développées sont ci-dessous).

4 –Les différents protocoles de chimiothérapie

Le schéma général utilisé pour le traitement des LAM comporte des soins de support, un traitement d'induction qui a pour but de réduire la masse tumorale à un niveau de maladie résiduelle imperceptible et restaurer une hématopoïèse normale, une greffe de cellules souches hématopoïétiques autologues ou allogéniques en fonction de l'existence ou non d'un donneur HLA-identique familial et de la réponse à la chimiothérapie d'induction, un traitement de consolidation qui a pour but de réduire la maladie résiduelle et un traitement d'entretien.

Un dossier très détaillé a été publié dans la revue « leukemia » sur ce sujet [113-119]. Treize groupes de traitement ont ainsi publié les résultats qu'ils ont obtenus au

cours des années 1990. Des similitudes très notables existent entre les différentes approches : toutes utilisent une chimiothérapie extrêmement intensive avec des blocs qui utilisent les trois médicaments les plus efficaces contre la maladie : Aracytine à dose conventionnelle et à fortes doses, anthracyclines et VP16. Tous les investigateurs admettent que la maladie est hétérogène, qu'il existe des facteurs pronostiques et qu'il faut modifier le traitement en fonction de la définition des sous groupes. Le meilleur exemple concerne d'ailleurs la LAM3 pour laquelle tous les auteurs utilisent l'ATRA. Des différences de vue existent sur les doses cumulées d'anthracyclines, le nombre de blocs nécessaires, l'intérêt de la greffe de moelle allogénique [120] en première rémission, de l'irradiation cérébrale et du traitement d'entretien. Malgré ces différences, les résultats globaux finissent par être proche : les patients sont mis en rémission complète dans environ 85 %, la probabilité de survie sans rechute à cinq ans est proche de 50 %.

D'importants progrès ont été réalisés dans les différentes phases de traitements (voir tableau XXIV, XXV et XXVI):

4-1 Soins complémentaires ou « supportive care » :

Les mesures de « supportive care » sont importantes dans la prise en charge des LAM justifiant leur transfert rapide en milieu spécialisé [121].

Le syndrome de leucostase peut être au premier plan. Il est aggravé par la lyse cellulaire lors de la chimiothérapie d'induction et particulièrement grave dans les leucémies hyperleucocytaires. Il faut donc le prévenir et le traiter systématiquement avant de débiter la chimiothérapie d'induction. Le traitement comporte une hyperdiurèse (jusqu'à 3l /m²/j) avec une alcalinisation des urines avec du bicarbonate de sodium pour obtenir un pH urinaire > 7 et éviter la précipitation de l'acide urique dans les tubules et de l'allopurinol qui inhibe la xanthine oxydase, enzyme responsable de la transformation de la xanthine en acide urique. Il prévient la formation d'acide urique, mais ne détruit pas ce qui est déjà formé.

L'hyperuricémie est traitée par l'alcalinisation (évite la formation de cristaux d'urate dans les tubules) par la prise d'eau de Vichy par voie orale et/ou la perfusion de bicarbonate de sodium IV (14 ou 42 pour mille) et par l'utilisation d'urate oxydase qui transforme l'acide urique en un produit plus soluble et plus vite excrété dans les urines. L'hyperkaliémie est traitée par l'arrêt des apports, un chélateur du potassium (Kayexalate), du gluconate de calcium si il existe des signes à l'ECG, du bicarbonate de sodium (agit sur l'hyperkaliémie via un transfert intracellulaire de K⁺) et du sérum glucosé hypertonique et insuline (permet de faire pénétrer le potassium dans les cellules). Lorsque le syndrome de lyse conduit à une insuffisance rénale, l'hémodialyse peut être nécessaire. La surveillance de l'hyperdiurèse est clinique (le patient étant hyperhydraté, il est capital de s'assurer de l'absence de signes de surcharge hydrosodée : poids quotidien, diurèse des 6 ou 8 heures, recherche d'œdèmes des membres inférieurs ou dans les zones déclives chez les sujets alités, signes d'insuffisance cardiaque droite ou gauche) et biologique (1 à 2 fois par jour, surveillance du ionogramme sanguin, urée, créatinine, calcémie, phosphorémie, uricémie).

La CIVD s'observe surtout dans les formes hyperleucocytaires. Elle est traitée essentiellement en corrigeant la thrombopénie (transfusion de concentrés plaquettaire) et par l'apport de plasma frais congelé en cas d'hypofibrinogénémie sévère < 1 g/l et/ou d'effondrement du temps de Quick.

Dans le cadre de l'insuffisance médullaire induit par la leucémie aiguë, le malade présente fréquemment une neutropénie sévère voire une agranulocytose au diagnostic. De plus, la chimiothérapie induira une aplasie profonde : moins de 500 /ml de PNN pendant environ 20 jours après le début du traitement d'induction. La prévention des infections consiste en une hospitalisation en chambre seule, en milieu protégé si possible (l'idéal étant un flux laminaire dans une secteur en hyper-pression), l'adoption de mesures de protection : port d'un masque, de blouses, lavage des mains, limitation du nombre de visiteurs, une nourriture stérilisée, une

bonne hygiène buccale associant des bains de bouche antifongiques (antifongiques non absorbables) et brossage dentaire utilisant un dentifrice à la chlorexidine et la prévention de la réactivation herpétique à HSV1 chez les sujets à risque (présence d'anticorps anti-HSV1). En ce qui concerne l'antibioprophylaxie, Saint Jude a évalué son utilité chez 78 patients traités du mois d'Octobre 2002 à Janvier 2007(voir figure 5). Ils ont établis que le nombre de jours d'hospitalisation pour les cures de chimiothérapie a été réduit par l'utilisation de vancomycine (5.7 jours) et de cefepime (4,1 jours) par voie intraveineuse. La céphalosporine prise par voie orale ne réduit pas la durée d'hospitalisation. Mais, le taux des mycoses ne différait pas entre les malades ayant reçu une antibioprophylaxie et ceux n'en ayant pas reçu. Les résultats sont représentés sur le diagramme ci-dessous.

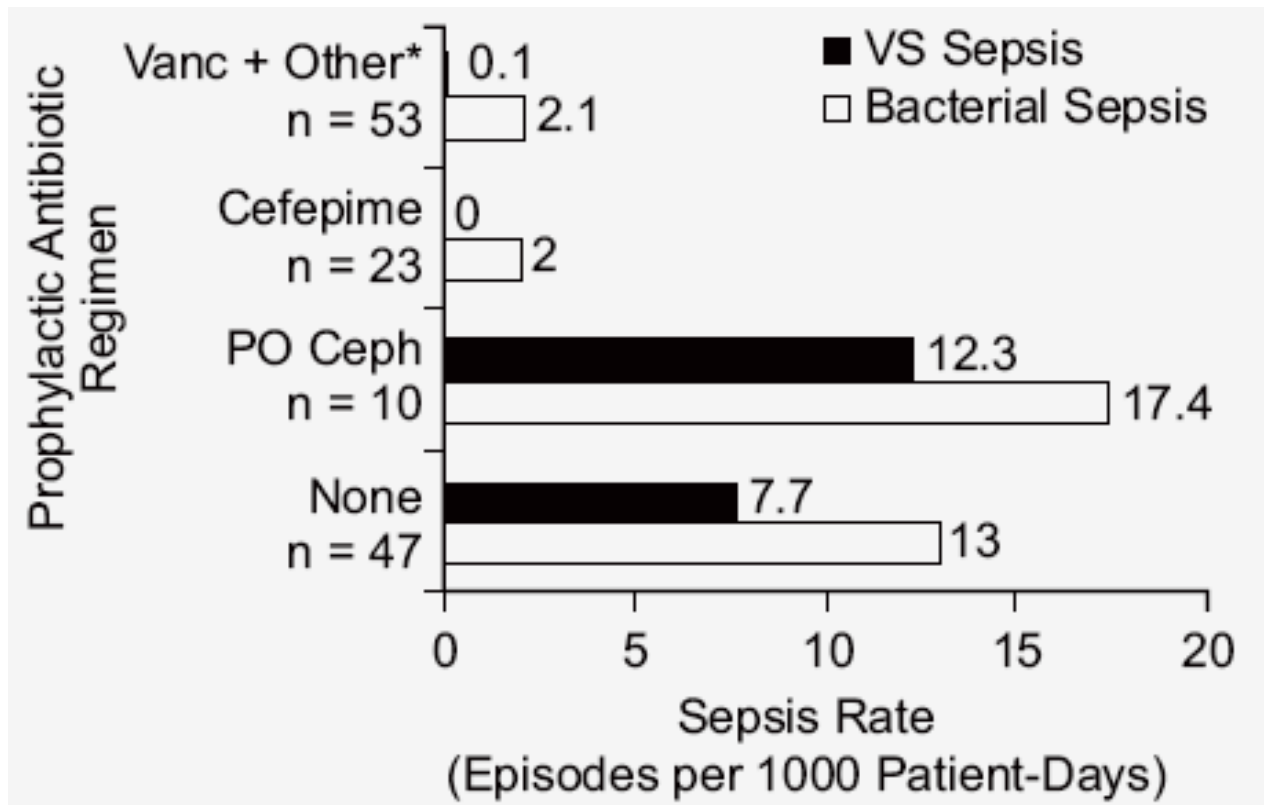


Figure 30 : Antibioprophylaxie dans les LAM (St Jude) [21].

Dans notre contexte, comme on l'a déjà dit, l'isolement en flux laminaire ne se fait pas dans notre unité. Les malades ne reçoivent pas d'antibioprophylaxie. La sortie des malades après les cures de chimiothérapie se fait très tôt ce qui expose les patients aux risques infectieux. D'autre part, une fois la fièvre installée, le délai d'acheminement des enfants à l'hôpital est long alors que l'antibiothérapie doit être débutée précocement pour éviter l'installation d'un choc septique. En outre, le maintien du patient, ayant une neutropénie fébrile, dans une chambre stérile est difficile à réaliser dans nos conditions.

Si la prévention du risque infectieux en cas de neutropénie n'a pas été efficace, s'installe alors l'aplasie fébrile qui constitue une urgence thérapeutique. La gravité est due au risque de choc septique en particulier à bacille Gram Négatif. Les germes impliqués sont le plus souvent les bactéries : les hémocultures ne sont positives que dans 10 à 20 % des cas mettant en évidence dans 70 % des BG positifs (*Staphylocoque*, *Streptocoque* dont le *Pneumocoque*...); dans 30 % BG Négatifs (*E. coli*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*...); dans moins de 1 % des cas des anaérobies. Les champignons et levures : *Candida*, *Aspergillus* sont aussi fréquemment incriminés dans les neutropénies fébriles. D'autres germes sont beaucoup plus rarement retrouvés : parasites (*Pneumocystis caranii*), virus (HSV, CMV...). En cas de neutropénie fébrile, il faut rechercher un foyer infectieux par la clinique (foyer pulmonaire, signes de choc) et par la biologie (hémocultures en aéro et anaérobie sur le cathéter central et en périphérie, ECBU, autres prélèvements orientés par la clinique, la radio du thorax et si besoin tomographie thoracique). Il faut alors débuter l'antibiothérapie sans attendre les résultats des hémocultures ou l'apparition d'un foyer clinique : une bi-antibiothérapie bactéricide à large spectre (de type C3G ou Pénicilline à large spectre + Aminoside) visant les BG négatifs et si inefficace à 48h : ajout d'un anti-staphylococcique (glycopeptide) puis amphotéricine B (qui n'est pas toujours disponible à l'hôpital) à 72 heures si persistance de l'hyperthermie puis ajout d'un anti-viral (aciclovir...).

En cas de syndrome hémorragique, la prise en charge consiste en une transfusion de culots globulaires phénotypés, déleucocytés si Hb < 8 g/dl et culots plaquettaires déleucocytés standards ou d'aphérèse.

4-2 Traitement d'induction :

Pour le traitement d'induction, la combinaison de Cytarabine et Daunorubicine continue à être le traitement de référence des LAM en phase d'induction. Une 3^{ème} drogue, Etoposide ou 6-thioguanine, est souvent associée à cette combinaison [122]. Une étude randomisée a montré qu'il n'y avait pas de différence, en terme de rémission complète et de taux de survie globale, entre les enfants qui recevait Etoposide et ceux qui recevait 6-thioguanine. Avec deux cures de ces 3 drogues et des soins de support adéquats, plus de 90 % des enfants sont en complète rémission; le taux de résistance à la maladie est approximativement de 5 % et le taux de mortalité précoce n'excède pas 2 %. L'intensité de ces 3 drogues au cours de l'induction varie selon les protocoles (Tableau XXIX). Différentes stratégies ont été utilisées pour intensifier l'induction plus dans le but d'améliorer la survie à long terme que l'augmentation du taux de rémission complète. Ces stratégies ont généralement remplacé la daunorubicine avec l'idarubicine [123] ou mitoxantrone [124], augmenté la dose de Cytarabine [125] ou réduit les intervalles entre les cycles de chimiothérapie ("intensive timing") [126]. Le taux de rémission complète obtenu par ces méthodes est le même ou dans certains cas plus mauvais (du fait de la toxicité) que ceux obtenus avec la cytarabine et la daunorubicine plus 6-thioguanine ou Etoposide.

En général, ces études ont montré que la qualité de la rémission améliorerait le taux de survie sans événement, même si la toxicité durant l'induction peut réduire le bénéfice de certaines de ces stratégies. Des alternatives thérapeutiques avec de nouvelles méthodes de sélection des groupes de patients qui pourront bénéficier d'un traitement précoce pourrait améliorer le taux de rémission complète.

Par exemple, les patients avec une maladie résiduelle, qui sont à risque élevé de rechute, peuvent être sélectionnés pour recevoir des drogues comme anti-CD33 antibody-calicheamicin conjugate (gemtuzumab ozogamicin) (voir plus bas : thérapie ciblée).

Dans notre contexte, on utilise l'Aracytine et la Daunorubicine en 2 cycles espacés de 15 ou 28 jours selon les résultats du myélogramme du J15. Le taux rémission complète après la première induction a été de 60 % et le taux de décès 12 %. Après l'intensification, le taux de rémission complète a été de 64 % et le taux de décès est de 36 %. Après la deuxième induction, le taux de rémission complète a été de 92 % et le taux de décès 8 %. Au total, après la première phase de traitement, le taux de rémission complète a été 71 % et le taux de décès a été de 27 %. Ces taux s'approchent de ceux des autres protocoles (voir tableau XXIV).

4-3 Traitement de consolidation :

Pour la chimiothérapie de consolidation, de nombreuses cures de chimiothérapie intensive de consolidation utilisant des agents de chimiothérapie, administrés tous les 4 à 6 semaines, améliorent le taux de survie sans événement. Des doses hautes et intermédiaires de cytarabine ont été utilisées dans différents protocoles, avec ou sans association avec L-asparaginase, mitoxantrone, amsacrine, ou etoposide. Les meilleurs résultats ont été obtenus quand des doses intensives de cytarabine ont été utilisées. Le nombre de cures varie également dans de nombreuses études. Une étude récente randomisée conduite par le MRC group [127] a révélé que deux cures de chimiothérapie étaient aussi efficaces que trois.

Dans notre formation, on utilise la cytarabine à hautes doses en association avec la L Asparaginase. Le taux de rémission complète a été de 86 % et le taux de décès est de 14 % après la première consolidation. Après la deuxième consolidation, le taux de rémission complète a été de 92 % et le taux de décès a été de 8 %. Au total, le taux de rémission complète après toutes les cures ou taux de survie sans

événement a été de 10 %. Ce taux est inférieur au taux de survie sans événement obtenu dans les autres protocoles (voir tableau XXV).

4-4 Traitement d'entretien :

En ce qui concerne la chimiothérapie d'entretien, même si aucune étude rétrospective sur l'impact de la chimiothérapie d'entretien administrée après 2 ou 3 cures d'intensive chimiothérapie de consolidation n'a été conduite, il n'apparaît pas que celle-ci peut améliorer le taux de rémission. Une étude française a montré qu'elle avait un effet délétère sur le taux de survie globale du fait peut-être à une immunosuppression plus prolongée [124]. Dans notre protocole, il n'y a pas de traitement d'entretien.

4-5 Traitement des localisations méningées :

La chimiothérapie prophylactique méningée peut associer la chimiothérapie intrathécale (cytarabine, méthotrexate, ou cytarabine, méthotrexate et hydrocortisone) et l'irradiation cérébrale. Il n'existe pas d'étude randomisée comparant l'efficacité de l'administration intrathécale de la cytarabine ou méthotrexate avec la triple thérapie (méthotrexate, cytarabine et hydrocortisone). Néanmoins, la triple thérapie est associée à un taux de rechute méningée moindre même si la majorité de ces patients ne reçoivent pas l'irradiation cérébrale prophylactique [128]. Quant aux patients ayant une atteinte méningée, la chimiothérapie intrathécale et l'irradiation cérébrale est recommandée. Une récente étude de St. Jude [129] a montré qu'une atteinte du SNC ne constituait pas un facteur de mauvais pronostic et que l'irradiation cérébrale n'était pas indispensable. Dans notre service, on utilise l'aracytine et l'hydrocortisone.

En analysant la courbe de survie sans récurrence de notre protocole, on constate que notre taux de survie sans récurrence s'approche de celui obtenu avec l'ancien protocole VIC utilisé en PIIB. En effet, dans les anciens protocoles utilisés en PIIB, les résultats étaient comme suit :

- en utilisant le protocole LAM90 de la société française d'hématologie (groupe Saint Louis) on a obtenu un faible taux de rémission complète (RC) de 25 % et une survie globale chez moins de 5 % des malades.
- puis, après la mise au point d'un protocole adapté au service, appelé protocole VIC, moins agressif et plus efficace, utilisant les 4 principales drogues de LAM (cytosine-arabine, idarubicine, etoposide et 6-Mercaptopurine), on a obtenu une RC dans 60 % des cas et une survie à 4 ans dans 8 % des cas. La survie globale à 3 mois était de 50 %, à 12 mois de 40 %, à 15 mois de 8 % et à 24 mois de 8 %.

Mais, ces taux restent inférieurs par rapport à ceux de la littérature. Ceci peut être expliqué par le fait que le délai moyen entre le diagnostic et l'instauration du traitement des LAM est long. Ce qui témoigne d'un retard de diagnostic dont les principales causes se résument comme suit : ignorance par les parents des principaux symptômes de la maladie, erreur de diagnostic et difficulté pour la majorité des patients de se déplacer à Rabat (le service d'hématologie et oncologie pédiatrique de Rabat est le seul centre de référence pour le traitement des LAM chez l'enfant pour le nord et l'est du pays).

Une amélioration du taux de mortalité après la chimiothérapie peut être obtenue par l'instauration d'une antibioprophylaxie, un isolement dans une chambre stérile, une bonne surveillance des patients neutropéniques et une antibiothérapie adéquate en cas de neutropénie fébrile instaurée dans les plus courts délais. Aussi, le traitement n'est pas adapté aux facteurs pronostiques comme le profil cytogénétique qui n'est réalisé que dans 72 % des cas. Ceci a aussi comme conséquence la limitation de l'analyse de la corrélation entre les données cytogénétiques et le taux de rémission complète pour une partie de notre population. En outre, le monitoring de MRD n'est pas réalisé du fait de l'inexistence, dans notre pays, de laboratoire équipé.

En ce qui concerne le traitement, les médicaments de la chimiothérapie ne sont pas toujours disponibles. En particulier, l'Aracytine à haute dose n'est pas toujours délivrée. Les patients reçoivent alors une chimiothérapie de débrouillage. Une amélioration des résultats peut être obtenue par l'utilisation dans l'avenir de la greffe de la moelle osseuse chez les patients à haut risque en première rémission complète et la thérapie ciblée qui ouvre des perspectives très vastes pour le traitement de cette maladie (voir en bas).

Tableau XXIV: L'intensité de la dose de cytarabine, daunorubicine et etoposide dans des essais cliniques (AML) [130]

Study	Number of Patients	Number of Cycles	Estimated Time to Assess Remission (weeks)	Cumulative Dose (mg/m ²)			CR Rate (%)	Overall Survival Rate
				Cytarabine	Daunorubicin	Etoposide		
POG 8821 ²⁴	649	2	6-8	18,700	135	—	85	3-yr, 42%
CCG-2891 ²⁵ (intensive timing)	295	4	16-17	3200	320	1600	75	3-yr, 51%
AML-91 ²⁶	73	3-4	8-12	1250-3750	90-270	400-1200	78	5-yr, 53%
MRC-10 ²¹	341	2	8-10	1800	300	0-1000	83	7-yr, 56%
MRC-12 ⁹	564	2	8-10	1800	288-300*	1000	92	5-yr, 68%
BFM-93 ²²	471	4	16-22	21,200-39,200	264-380*	950	82	5-yr, 60%
LAME-89/91 ²³	268	2	6-8	1400-2000	225-315*	—	90	6-yr, 60%
NOPHO-93 ¹⁷	219	2-322	8-6	1600-13,300	150-195*	800-900	91	7-yr, 64%
ANZCCSG ²⁰ (AML-2)	167	2	8-0	12,700-18,700	150	—	91	5-yr, 55%

Some patients received idarubicin (12 mg of idarubicin = 60 mg of daunorubicin) and mitoxantrone (10 mg of mitoxantrone = 40 mg of daunorubicin).

Abbreviations: POG, Pediatric Oncology Group; AML-91, acute myeloid leukemia-91 study (St. Jude Children's Research Hospital); MRC-10/12, Medical Research Council-10/12 study; BFM-93 and Oncology-93 study; ANZCCSG-AML2, Australian and New Zealand Children's Cancer Study Group AML-2 study; BFM, Berlin-Frankfurt-Munster-93 study; LAME89/91, Leucémie Aigue Myeloïde Enfant-89/90 study; NOPHO, Nordic Society for Paediatric Haematology

Tableau XXV : Taux de survie globale et sans événement dans les différents protocoles de LAM chez l'enfant [131]

Study group	Protocol	n	Time period	Follow-up time	pEFS	pOS
AEIOP	AIEOP LAM 92	160	1992-2001	5 years	54%	60%
AML-BFM SG	AML-BFM 93	471	1993-1998	5 years	51%	60%
CCG	CCG 2891	294	1989-1995	3 years	27%	39%
	Standard timing			8 years	—	34%
	CCG 2891	295	1989-1995	3 years	42%	51%
	Intensive timing			8 years	—	49%
DCOG	AML-92/94	78	1992-1998	5 years	42%	42%
EORTC	EORTC 58921	177	1993-2000	5 years	49%	62%
LAME	LAME 89/91	309	1988-1996	6 years	48%	60%
MRC	AML12	529	1995-2002	5 years	58%	68%
NOPHO	AML 93	219	1993-2000	7 years	49%	64%
POG	POG 9421	565	1995-1999	3-years	36%	54%
PPLLSG	AML 98	104	1998-2002	5-years	47%	50%
St. Jude Children's Research Hospital	AML 91	62	1991-1997	5-years	44%	57%
Tokyo CCSG	AML13/14	216	1991-1998	5-years	56%	62%

AIEOP: Associazione Italiana di Ematologia e Oncologia Pediatrica; AML-BFM SG: AML Berlin-Frankfurt-Münster Study Group; CCG: Children's Cancer Group (now with POG the Children's Oncology Group); DCOG: Dutch Childhood Oncology Group; EORTC: European Organization of Research and Treatment of Cancer; LAME: Leucémie Aiguë Myéloblastique Enfant; MRC: Medical Research Council; NOPHO: Nordic Society of Pediatric Hematology and Oncology; POG: Pediatric Oncology Group (now with CCG the Children's Oncology Group); PPLLSG: Polish Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group.

Tableau XXVI: Particularités des différents essais thérapeutiques au cours des différents protocoles de traitement des LAM chez l'enfant[131]

Phase of treatment	Collaborative group	Question
Induction	BFM	Randomized comparison of idarubicin versus liposomal daunorubicin
	COG	Randomized addition of GO to induction regimen
	MRC/DCOG	Randomized comparison of FLAG-Ida versus ADE
	St. Jude	Randomized comparison between low and high dose cytarabine during induction. Poor responders are treated with a 2 nd block containing GO
Consolidation	BFM	Randomized addition of 2-CdA to consolidation, in high-risk patients only
	COG	Addition of GO to consolidation chemotherapy (extension of initial randomization, meaning patients either get GO (at both induction and consolidation) or no GO at all
	MRC/DCOG	Randomized comparison of anthracycline based consolidation versus high-dose cytarabine courses, and the addition of a 5 th course of chemotherapy (the latter by the MRC only)
	NOPHO	Randomized post-consolidation addition of GO in minimal residual disease setting, for all non-SCT patients
	St. Jude	MRD stratified consolidation with GO for MRD-positive patients and 2-CdA for inv(16) and t(9;11) cases.
	Several groups	Non-randomized risk-group stratified chemotherapy
CNS-directed therapy	BFM	Randomized comparison of 12 versus 18 Gy cranial irradiation
Maintenance	BFM	All patients to receive 1 year of maintenance therapy
	ELAM	IL-2 in patients without allo-SCT
	Other groups	No maintenance
Stem cell transplantation	Several groups	Genetic assignment to MSD- or MUD-SCT for intermediate and/or high-risk patients
	AIEOP	Genetic assignment of autologous versus allogeneic SCT in all HR patients

Information was provided by several colleagues representing their study groups, as mentioned in the acknowledgements. GO: gemtuzumab ozogamicin; ADE: cytarabine, daunorubicin and etoposide; FLAG-Ida: fludarabine, cytarabine, granulocyte colony stimulating factor and idarubicin; 2-CdA: 2-chloro-deoxycytidine; SCT: stem cell transplant; MRD: minimal residual disease; APL: acute promyelocytic leukemia; MSD: matched sibling donor; MUD: matched unrelated donor. For collaborative group names: see Tables 2 and 4.

5- Perspectives au MAROC

5.1 la greffe de la moelle osseuse :

En effet au Maroc, l'allogreffe de moelle osseuse n'est pas encore réalisée. Le principe de la greffe de la moelle osseuse est de réimplanter chez le malade des cellules jeunes hématopoïétiques capables de « prendre la place » des cellules malades que l'on aura préalablement détruites par chimiothérapie (plus éventuellement radiothérapie) et de repeupler la moelle du receveur avec ces cellules saines. De plus, la greffe de moelle a une action antileucémique par elle-même, du fait des propriétés de défense immunitaire des cellules injectées.

Les transplantations de moelle osseuse peuvent être allogéniques ou autologues. Pour ce qui est de la greffe allogénique, la moelle est prélevée chez un donneur pour être réinjectée à un receveur, dont les cellules sont antigéniquement identiques ou proches. Le donneur sera hospitalisé durant 48 heures au total pour les prélèvements qui seront effectués sous une brève anesthésie générale. Aussi, la réalisation d'une allogreffe implique l'administration d'un conditionnement qui permet l'immunosuppression de l'hôte nécessaire à la prise de greffon et à la prévention du rejet de greffe et la destruction des cellules hématopoïétiques de l'hôte, visant à supprimer un clone malin potentiel et éventuellement à assurer la « vacuité » médullaire. Afin que le receveur ne rejette pas la moelle greffée, il doit recevoir un traitement immunodépresseur, qui va par ailleurs le rendre plus sensible aux infections. D'où cette période difficile de post-greffe, d'une durée de 6 à 8 semaines durant lesquelles le patient extrêmement fatigué, fébrile, est exposé aux infections. Pour ce qui est de la transplantation de moelle autologue : la moelle est prélevée chez le patient alors qu'il est en rémission complète. Elle est ensuite congelée et injectée de nouveau après un traitement « myélo-ablatif » par chimiothérapie (\pm radiothérapie). Il existe aussi un autre type plus récent de greffe de moelle osseuse: les greffes de cellules souches autologues. Elle consiste à recueillir des cellules

souches grâce à l'injection de «facteurs de croissance hématopoïétiques». Ces cellules sont prélevées chez le patient alors qu'il est en rémission complète, par une prise importante de sang prélevé par circulation extracorporelle de sang; les cellules souches provenant de la moelle sont alors recueillies grâce à un séparateur de cellules qui restitue ensuite le reste du sang au patient. Cette technique est également applicable aux donneurs sains. Les cellules souches prélevées seront conservées au grand froid, jusqu'à leur utilisation. La greffe de ces cellules souches, une fois décongelées, se fait par une simple perfusion intraveineuse.

Même si la greffe de la moelle osseuse présente plusieurs avantages, elle est associée à plusieurs complications. Les complications initiales majeures sont liées à l'aplasie due à la chimiothérapie réalisée juste avant la greffe (que l'on appelle le conditionnement myélo-ablatif). En effet, entre la greffe et la restauration sanguine, il se passe un certain temps (2 à 6 semaines suivant le type de greffe). Durant cette période, le malade reste très fragile et vulnérable à toutes les infections, bactériennes, virales ou fongiques. Il doit donc être mis en milieu protégé : chambre et environnement stérile sous flux laminaire, isolement, alimentation stérile, souvent par voie veineuse. Il reçoit aussi une antibiothérapie massive et multiple. Mais un autre type de complications guette les patients qui ont reçu une greffe allogénique : c'est la réaction des cellules immunitaires greffées qui réagissent contre les cellules du receveur dues à la disparité des groupes tissulaires entre le donneur et le receveur. Il s'agit principalement de la réaction du greffon contre l'hôte (GVHD : graft versus host disease) et du rejet de greffe (réaction de l'hôte contre le greffon [HVG : host versus graft]). Dans des conditions habituelles de greffe, la fréquence de la réaction du greffon contre l'hôte est beaucoup plus élevée que celle du rejet. La GVHD est due à la reconnaissance d'alloantigènes (majeurs ou mineurs d'histocompatibilité) du receveur par les lymphocytes T du donneur. Si l'activation de ces lymphocytes peut provoquer des réactions délétères au niveau de certains organes cibles du receveur, elle peut aussi être responsable de la reconnaissance et de la destruction des cellules

tumorales résiduelles du receveur (effet greffon contre leucémie [GVL (graft versus leukemia)]). C'est cet effet qui justifie principalement la réalisation d'allogreffes de CSH dans les hémopathies malignes.

Pour ce qui est des indications de la greffe allogénique [121], les résultats de la chimiothérapie ont conduit à proposer la réalisation systématique d'une allogreffe de moelle en première RC (RC1) chez les enfants disposant d'un donneur dans leur fratrie (soit en moyenne 1 enfant sur 4). Les progrès réalisés dans la pratique de la greffe de moelle, en ce qui concerne la prévention et la prise en charge des complications infectieuses et de la réaction du greffon contre l'hôte (GVH) autorisaient cette option. Les résultats des études françaises sont particulièrement bons. Le GEGMO (groupe d'études de la greffe de moelle osseuse) a rapporté une série de 74 enfants greffés en RC1 objectivant l'amélioration des résultats de la greffe, avec, pour la période 1987-1990, une probabilité de survie sans événement de 82 %. Ces résultats sont renforcés par ceux du protocole LAME90, en cours actuellement, et ceux d'une étude récente du CCSG (« Children Cancer Study Group »), qui confirment que la greffe est le meilleur traitement de la LAM chez l'enfant. L'efficacité de l'allogreffe est expliquée, au moins en partie, par l'effet « graft versus leukemia » (GVL) associé à la GVH. Les mauvais résultats des greffes syngéniques (avec un jumeau vrai) sont en faveur du rôle de cet effet GVL. Certains groupes, allemands et américains en particulier, préconisent la réalisation de la greffe uniquement si existent des critères pronostiques péjoratifs ou après une rechute. La greffe à partir de donneurs non apparentés est, elle, difficile et source d'une toxicité majeure avec une mortalité toxique des 3 premiers mois qui dépasse 50 %. Ceci justifie la pratique de ces greffes uniquement en cas de rechute. Les indications en RC1 doivent rester exceptionnelles. Les greffes à partir de sang de cordon HLA identique intrafamilial, en revanche, ne posent pas de problème particulier. La conservation du sang du cordon d'un enfant dont un membre de la fratrie est atteint de LA doit être systématiquement envisagée. Une banque de sang

de cordon, comprenant d'une part des cordons « familiaux », et d'autre part des cordons prélevés de façon systématique dans certaines maternités, s'est mise en place à l'hôpital Saint-Louis et dans d'autres villes européennes.

En ce qui concerne l'autogreffe de moelle osseuse (AGM), deux études récentes, australienne et américaine, sont en faveur de cette option thérapeutique chez l'enfant avec des survies respectives de 87 et de 51 %. L'intérêt d'une purge du greffon médullaire et celui d'une immunothérapie post autogreffe par interleukine 2, sont les principaux points discutés pour améliorer les résultats de l'AGM. En l'absence de greffe en RC1, le prélèvement systématique d'une moelle et sa cryopréservation, permettant une greffe en RC2, sont justifiés chez les enfants n'ayant pas de donneur intrafamilial.

La faisabilité médiocre de l'autogreffe de moelle, ainsi que la morbidité et la mortalité associées à l'aplasie de longue durée ont conduit à la recherche de l'amélioration de la qualité des greffons autologues. Les facteurs de croissance granulocytaire (GM, G-CSF) disponibles depuis 1990, maintenant recommandés après les cures de consolidation, permettent par ailleurs une démargination des progéniteurs ou cellules souches hématopoïétiques de la moelle vers le sang périphérique. Ils autorisent, 3 à 4 semaines après de hautes doses de cytarabine, la collecte de cellules souches hématopoïétiques dites périphériques (CSP) par cytophèreses répétées 2 à 4 jours consécutifs. Cette technique conduit à une augmentation de la quantité de cellules souches injectées et permet une reconstitution neutrophile et surtout plaquettaire plus rapide (j15 - j20 après CSP contre j30 – j40 post greffe de moelle). Cela se traduit par une hospitalisation de durée réduite, à moindre coût, et surtout par une diminution de la mortalité de l'autogreffe à moins de 5 % en première ligne. Ces avantages ont induit le remplacement complet, depuis 1995, des greffons autologues médullaires par des CSP malgré l'absence d'essais contrôlés. Il ne semble pas que le risque de récurrence soit influencé par l'origine médullaire ou périphérique des greffons. En revanche, il

semble que l'on assiste à l'amélioration de l'accès à l'autogreffe : 70 à 80 % des patients atteints de LAM en première RC possédant un greffon de CSP satisfaisant.

5.2 La thérapie ciblée :

La thérapie ciblée peut offrir de nouvelles perspectives au Maroc. Son développement s'est fait grâce à la compréhension des mécanismes d'oncogenèse mais également de résistance aux traitements. Dans un modèle de leucémogénèse myéloïde à deux évènements « two-hit », les anomalies moléculaires responsables, d'une part, de l'arrêt de différenciation des progéniteurs hématopoïétique et d'autre part, d'un excès de prolifération, pourraient coopérer pour aboutir à la leucémie. Les thérapeutiques ciblant ces mécanismes d'oncogenèse ont principalement pour objectif de rétablir cette différenciation ou d'inhiber le signal de prolifération. Deux thérapeutiques sont à cet égard exemplaires (qui ne sont pas traitées dans cette thèse): l'acide tout-trans rétinoïque (ATRA, Vesanoid®) rétablit la différenciation bloquée par une anomalie du récepteur à l'acide rétinoïque dans les leucémies aiguës promyélocyaires, l'Imatinib mésylate (Glivec®) inhibe l'activité spontanée de la kinase BCR-ABL responsable du signal de prolifération dans la leucémie myéloïde chronique mais également dans les LAL porteuses de la même anomalie cytogénétique, le chromosome Philadelphie (t(9;22)).

Parmi les agents utilisés dans la thérapie ciblée, les agents différenciants occupent une place primordiale. Ils bloquent l'inactivation de la différenciation induite par des anomalies de facteurs de transcription impliqués dans l'hématopoïèse normale. C'est le cas des principales translocations récurrentes des LAM : la translocation t(15;17) des LA promyélocyaires (LAP, LAM 3) touche le récepteur à l'acide rétinoïque (RAR), la translocation t(8;21) et l'inversion du chromosome 16 altèrent la fonction de facteurs de transcription de la famille des core binding factors (CBF). Ces anomalies entraînent un défaut de transcription de facteurs impliqués dans l'hématopoïèse principalement par le biais du recrutement d'histones

désacétylases (HDAC) qui bloquent l'accès des complexes de transcription à l'ADN. Aussi parmi les agents différenciants, on retrouve les histones désacétylases et les inhibiteurs des protéosomes. Pour comprendre leur mécanisme d'action, il faut savoir que la transcription de l'ADN nécessite l'acétylation des histones de la chromatine. Les histones désacétylases bloquent l'acétylation des histones et donc la transcription de l'ADN. Les inhibiteurs des histones désacétylases (HDAC) induisent donc une différenciation des cellules malignes en bloquant les histones désacétylases permettant ainsi la transcription de l'ADN. Plusieurs produits incluant l'acide suberoylanilide hydroxamic (SAHA), l'acide valproïc (2-propylpentanoïc acid), depsipeptide et MS-275 sont en cours d'évaluation seuls ou en association avec d'autres agents. Un groupe américain teste en ce moment le bénéfice de l'association de MS-275 et de petites doses de 5-azacytidine. Les inhibiteurs de protéosomes (bortezomib) ont un effet *in vitro* synergique avec les HDAC inhibiteurs. Le bortezomib est en cours d'évaluation.

Parmi les agents impliqués dans la prolifération cellulaire dans les LAM, on a identifié les anomalies de récepteurs à tyrosine kinase (RTK) et les anomalies de la voie RAS et des kinases mTOR.

Les mutations des récepteurs à tyrosine kinase touchent principalement les RTK de classe III particulièrement impliqués dans l'hématopoïèse (FLT3, KIT, FMS et PDGF-R). Plusieurs inhibiteurs de FLT3 sont actuellement en cours d'évaluation : PKC-412, CEP-710, MLN518, SU11248. Ces inhibiteurs ont montré une activité modérée en monothérapie. L'efficacité n'est pas toujours corrélée avec le statut mutationnel de FLT3. Des résultats préliminaires d'association avec la chimiothérapie sont plus encourageants.

La transduction du signal par la voie RAS est dérégulée dans de nombreux cancers. Cette dérégulation intervient dans la prolifération des cellules leucémiques. Cette voie est notamment mise en jeu par l'oncogène BCR-ABL ou les RTK. Environ 15 % des LAM présentent une mutation activatrice de RAS, principalement de N-RAS. Les inhibiteurs de farnesyl transférase (FTI) modulent la signalisation par cette voie

en empêchant la farnesylation de RAS. Le tipifarnib (Zarnestra®) est le premier de ces inhibiteurs évalué en clinique et notamment dans les LAM chez l'adulte. Des études randomisées chez les patients adultes non éligibles pour la chimiothérapie intensive d'une part et en consolidation chez les patients ayant reçu une chimiothérapie intensive sont en cours.

La kinase mTOR (mammalian target of rapamycin) impliquée dans la voie PI3K/Akt de la transduction du signal est activée dans de nombreux cancers y compris les LAM et des LAL. Elle contrôle la traduction de nombreux ARN et est impliquée dans la progression dans le cycle cellulaire. La rapamycine (Rapamune®) est évaluée en combinaison à la chimiothérapie en première ligne dans la LAM et à la rechute dans la LAL.

D'autres agents ont été élaborés pour un traitement plus ciblé des LAM. Parmi lesquels, les anticorps anti CD33, des agents agissant sur la résistance de la chimiothérapie, des agents agissant sur l'angiogénèse médullaire, des agents antiapoptotiques et des analogues des purines.

Pour ce qui est des antiCD33, la création par génie génétique d'anticorps humanisés a permis le développement de nombreux anticorps monoclonaux à la fois plus adaptés à l'homme dans leurs propriétés effectrices mais également mieux tolérés. Leur mode d'action est souvent complexe. Ils recrutent des effecteurs cytotoxiques de l'immunité comme le complément et les cellules impliquées dans la cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps (ADCC) que sont les macrophages et les cellules NK. Ils peuvent également déclencher directement l'apoptose par stimulation du récepteur cible. Enfin, certains d'entre eux peuvent être conjugués à une toxine, une chimiothérapie ou un radioélément. L'intérêt de ce couplage est de cibler l'action de l'agent toxique (diminution des effets secondaires systémiques) et d'entraîner, notamment dans le cas des radioéléments, une destruction du tissu tumoral adjacent. De nombreux anticorps monoclonaux ayant pour cible des antigènes leucocytaires ont été développés. Les principales cibles sont, pour la lignée

myéloïde, les CD33 et CD66. L'anticorps le mieux évalué à l'heure actuelle dans les LAM est l'anti-CD33 couplé à la calicheamicine (gemtuzumab ozogamicine, OG, Mylotarg®). Après liaison au CD33 qui est exprimé par 90 % des LAM, l'anticorps est internalisé et l'agent cytotoxique est libéré et l'apoptose est déclenchée par coupure du double brin de l'ADN. Jusqu'ici, l'efficacité de l'OG a été évaluée dans des protocoles non randomisés. Le taux de rémission en monothérapie dans la LAM de l'adulte en première rechute est d'environ 25 - 30 %. Dans la moitié des cas, cette rémission n'est pas complète car le taux de plaquette reste inférieur à $100 \times 10^9/L$. Ces résultats sont bien meilleurs dans les LAM3. L'association de l'OG avec des chimiothérapies conventionnelles est faisable et a conduit à l'évaluation randomisée de cet anticorps en première ligne dès l'induction ou en cours de consolidation de la rémission. Les effets secondaires immédiats lors de l'injection sont généralement transitoires et bien tolérés, à type de réaction d'hypersensibilité. Les autres complications sont la myélosuppression, la toxicité hépatique et la maladie veino-occlusive (MVO) dont le risque est d'autant plus élevé que le traitement par GO est réalisé avant ou après une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques. Ce risque pourrait être plus faible lors de schéma d'administration fractionnée de l'anticorps.

En ce qui concerne la P-glycoprotéine (Pgp), elle est physiologiquement exprimée à la surface des cellules souches hématopoïétiques et a pour fonction d'effluer certaines substances du cytoplasme vers l'extérieur de la cellule. L'expression de la Pgp par les cellules leucémiques induit une résistance à la chimiothérapie. Cette expression est particulièrement retrouvée chez le sujet âgé ou en rechute. Des inhibiteurs de la Pgp comme la quinine, la ciclosporine ou le PSC-833 (valsopodar) ont été évalués en association à la chimiothérapie dans les LAM. Les résultats de ces essais sont divergents. Ces traitements s'accompagnent fréquemment d'une toxicité accrue et nécessitent souvent de diminuer les doses de chimiothérapie administrées. Le zosuquidar (Kanisa) est un inhibiteur de nouvelle génération en cours d'évaluation.

Pour ce qui est de l'angiogénèse médullaire, il a été établi que le développement des hémopathies notamment myéloïdes s'accompagne d'un excès d'angiogénèse médullaire. Le vascular endothelium growth factor (VEGF) est par ailleurs capable de stimuler la croissance de certains blastes et de diminuer la réponse immunitaire antitumorale. Une hyperexpression de VEGF est de mauvais pronostic dans les LAM. Les thérapeutiques antiangiogéniques évaluées dans les LAM font essentiellement appel à un anticorps anti-VEGF, le bevacuzimab (Avastin®, Genentech) ou à des inhibiteurs du récepteur au VEGF comme le SU5416 (Sugen), qui inhibe également les RTK KIT et FLT3. Les essais de phase II sont en cours et ont montré une faible toxicité de ces agents.

Aussi comme c'est le cas pour d'autres cancers, l'activation de voies antiapoptotiques comme celle de BCL-2 peut induire une résistance à la chimiothérapie. L'hyperexpression de BCL-2 est associée à un mauvais pronostic dans les LAM. L'utilisation d'oligonucléotides anti sens anti-BCL2 in vitro majore la sensibilité de cellules tumorales à la chimiothérapie. L'Oblimersen (Genasense®) est un antisens qui a montré une efficacité en monothérapie dans les LAM réfractaires ou en rechute. Il est bien toléré en association avec la chimiothérapie et est actuellement évalué en phase III en induction et en consolidation.

La Clofarabine a été synthétisée pour profiter des avantages d'autres analogues des nucleosides: fludarabine and cladribine. Cet agent est hautement résistant au clivage par la purine nucleoside phosphorylase bactérienne et à la désamination par adénosine désaminase. Aussi, cet agent n'entraîne pas de neurotoxicité comme c'est le cas pour les autres analogues. Des études en phase II ont été menés chez les patients en rechute ayant une LAM et d'autres hémopathies malignes. Le taux de réponse est de 48 % avec un taux de rémission complète 32 %. Dans des essais phase I-II menés chez les patients en rechute surtout ayant une LAM, la clofarabine a été combinée à la cytarabine dans le but de pouvoir moduler l'accumulation de cytarabine triphosphate. La réponse a été de 38 % avec un taux de rémission complète de 22 %. Burnett et ses collègues ont utilisé cet agent dans les traitement

des sujets âgés pour lesquels la chimiothérapie intensive est délétère. Le taux de rémission complète est de 60 %. Même si, la plupart des patients ont profil cytogénétique de risque intermédiaire et de ce fait ont un pronostic meilleur que les autres, mais les résultats restent encourageants.

Therapeutic Targets in Leukemia

Proliferation/survival mutations,
do not affect differentiation

Mutations associated with impaired
differentiation, self-renewal

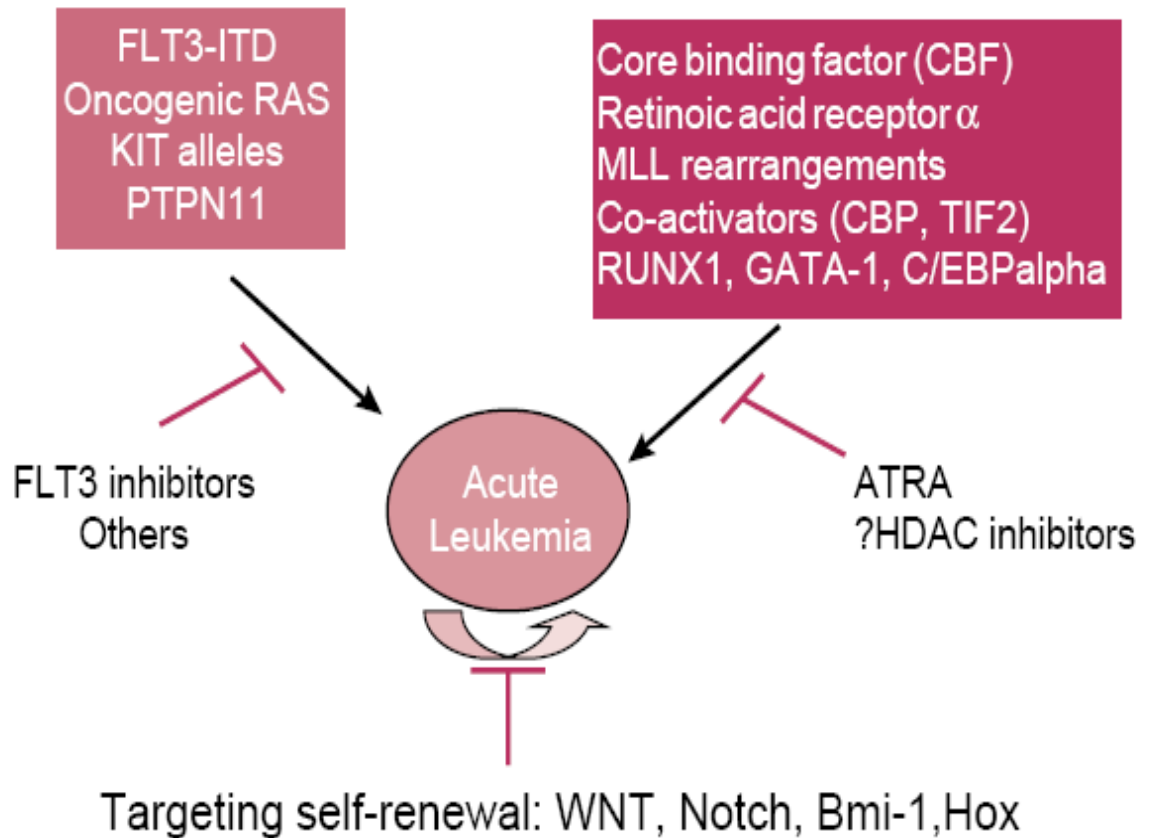


Figure 31 : la thérapie ciblée dans les leucémies [132]

Tableau XXVI : Nouveaux agents développés dans la thérapie ciblée des LAM [132].

Class	Drug	Phase/disease
Direct drug-resistance modulation	Cyclosporine A	Ph III in older AML pts
Drug Resistance Modulators	zosiquidar	Ph III in older AML pts
	oblimersen (18 mer anti-bcl-2 oligo)	Ph III in older AML pts
Proteasome inhibitors	bortezomib	Ph I/relapsed-older AML
DNA methyltransferase inhibitors	5-azacitidine	
Histone deacetylase inhibitors	Decitabine	Ph II in AML (planned)
	depsipeptide	Ph II +/- other (MDS)
	SAHA	Ph II +/- other (MDS)
Antiangiogenesis agents	LBH 589	Ph I
	lenalidomide	Ph II (MDS); 5q- AML
	Bevacizumab	Ph I with chemo
Tyrosine kinase inhibitors	PTK 787 (RTK inhib; anti-VEGFR)	Ph II in MDS
	PKC412	I-II AML
	CEP701	AML
	MLN518	AML
Immunotherapy	Gemtuzumab Ozagamicin Anti-CD33 Anti-GM-CSF receptor	Approved, rel older AML Ph I
Novel chemotherapeutic agents	Clofarabine	Ph II/III
	Troxacitabine	Ph II
	Cloretazine	Ph II/III
Farnesyltransferase inhibitors	tipifarnib	Ph I-III

R/R — Relapsed/Refractory.
 gemtuzumab ozogamicin, multidrug resistance inhibitors, farnesyl transferase inhibitors, histone deacetylase and proteasome inhibitors, antiangiogenesis agents, Fms-like tyrosine kinase 3 (*FLT3*) inhibitors, and apoptosis inhibitors.

New agents	Targets	Comments
All- <i>trans</i> retinoic acid	PML-RAR α	Has changed standard of care in APL; improves DFS and OS in newly diagnosed patients.
Arsenic trioxide	PML-RAR α	Has changed standard of care in relapsed APL; induces high rate of hematologic and molecular CR; may cure some patients.
Gemtuzumab ozogamicin	CD33	Modestly effective in patients with relapsed AML; role as additional agent in standard therapy currently being investigated.
Farnesyltransferase inhibitor	Farnesylation of Ras, lamin A and HJJ-2	Modestly effective in high-risk patients newly diagnosed; role as adjunct to standard therapy under investigation.
<i>FLT3</i> tyrosine kinase inhibitors	Internal tandem duplications of <i>FLT3</i>	Most common gene mutation in AML. Some biologic activity in relapsed patients. Trials in combination with chemotherapy under way.
MDR modulators: cyclosporine, PSC833, zosuquidar	P-glycoprotein and other multidrug resistance proteins	In general, results disappointing.
Histone deacetylase inhibitors: phenylbutyrate, depsipeptide	Histone deacetylase	Clinical trials under way.
<i>BCL-2</i> antisense deoxynucleotide	<i>BCL-2</i> protein	Clinical trials under way.
Antiangiogenic agents	Vascular endothelial growth factor	Clinical trials under way.

FLT3 indicates Fms-like tyrosine kinase 3; MDR, multidrug resistance; *BCL-2*, B-CLL/lymphoma 2.

Conclusion

La LAM est une hémopathie maligne qui n'est pas fréquente chez l'enfant (15 à 20 % des LA), et dont le traitement n'a pas énormément avancé par rapport aux leucémies aiguës lymphoblastiques au cours des deux dernières décades.

L'objectif de notre protocole a été :

- D'obtenir un taux de rémission complète au moins de 70 % après la fin de l'induction (Le taux de RC sera considéré après les 2 cures d'induction ou après intensification).
- De réduire le taux de mortalité avant et pendant l'induction à 10 % sous le nouveau protocole de traitement de LAM.
- Et d'améliorer le taux de survie sans événement (EFS) de 5 ans à 40 % pour tous les patients sous le nouveau protocole.

Nous avons évalué le devenir de 70 enfants traités selon le protocole AML-MA 03 du mois de septembre 2003 au mois de septembre 2007. Nos résultats étaient come suit :

- Un taux de rémission complète de 71 %.
- Un taux de mortalité avant et pendant l'induction de 12 %.
- Un taux de survie sans événement de 10 %.

Ainsi, nous avons réalisé notre objectif en terme de rémission complète mais pas en terme de taux de mortalité avant et pendant l'induction et en taux de survie sans événement. Ces résultats s'approchent de ceux du protocole VIC antérieur de PIIB mais sont en deçà de ceux de la littérature. De notre point de vue, le faible taux de rémission complète est du au taux élevé de mortalité. Celle-ci a été en rapport avec le retard de diagnostic, la carence en moyens de « supportive care », le manque de lit, les sorties en pleine phase d'aplasie médullaire, l'intensité de la

chimiothérapie et la non disponibilité temporaire de l'Aracytine à haute dose pour certains patients.

Aussi, le traitement n'est pas adapté aux facteurs pronostiques, comme le profil cytogénétique qui n'a été réalisé que dans 72 % des cas. Ceci a aussi comme conséquence la limitation de l'analyse de la corrélation entre les données cytogénétiques et le taux de rémission complète pour une partie de notre population. En outre, le monitoring de MRD n'est pas réalisé du fait de l'inexistence, dans notre pays, de laboratoire équipé. Le délai moyen entre le diagnostic et l'instauration du traitement des LAM est long.

Une amélioration des résultats peut être obtenue par l'utilisation dans l'avenir de la greffe de la moelle osseuse chez les patients à haut risque en première rémission complète. La thérapie ciblée ouvre aussi des perspectives très vastes pour le traitement de LAM chez nos enfants.

Résumés

Résumé : Résultats du traitement des leucémies aiguës myéloblastiques de l'enfant par le protocole national AML-MA 03.

D'importants progrès ont été réalisés ces deux dernières décades dans le traitement des LAM chez l'enfant mais ils restent modestes en particulier par rapport aux leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL). Le taux de rémission complète est environ de 85 %, le taux de survie prolongée sans rechute à 5 ans proche de 50 %.

Dans le service de PII B, on a distingué 3 périodes dans la prise en charge des LAM : La 1^{ère} : utilisait un traitement palliatif à base de purinethol en continu plus ou moins d'autres produits. La 2^{ème} : utilisait le protocole LAM90 de la société française d'hématologie (groupe Saint louis) qui a donné un faible taux de rémission complète (RC) de 25 % et une survie globale chez moins de 5 % des malades. La 3^{ème} : mise au point d'un protocole adapté au service, appelé protocole VIC, moins agressif et plus efficace, utilisant les 4 principales drogues de LAM (cytosine-arabinoside, idarubicine, etoposide et 6- Mercaptopurine). L'étude de ce protocole a montré une RC dans 60 % des cas et une survie à 4ans dans 8 % des cas.

Le nouveau protocole (AML-MA 03) du traitement de la LAM a été instauré pour obtenir un taux de rémission complète (RC) au moins de 70 % après la fin de l'induction (Le taux de RC sera considéré après les 2 cures d'induction ou après intensification), un taux de mortalité avant et pendant l'induction réduit à 10 % et un taux de survie sans événement (EFS) à 5 ans à 40 %. Notre étude prospective a porté sur 70 enfants atteints d'une leucémie aiguë myéloblastique de novo traités selon le nouveau protocole de traitement des LAM (AML-MA 03) sur une durée de 4 ans (du 1er septembre 2003 au 1er septembre 2007) dont 58 ont été inclus. Parmi les 58 patients inclus, 5% des patients ont un âge inférieur à 1an, 14 % une hyperleucocytose à plus de 100.000/ml, 11 % un type de LAM (M0, M6 et M7). Les caryotypes ont été réalisés chez 72 % de notre population. La plus grande proportion est représentée par les caryotypes de mauvais pronostic (42 %). Trente deux pour cent sont de bon pronostic et 26 % sont de pronostic intermédiaire. La t(8;21) a été l'anomalie la plus fréquemment retrouvée, 29 % des

cas et 92 % des caryotypes de bon pronostic. Le taux de rémission complète après deux cures de 71 %, le taux de mortalité avant et pendant l'induction de 12 % et le taux de survie sans événement de 10 %. Ainsi, nous avons réalisé notre objectif en terme de rémission complète mais pas en survie globale et en taux de mortalité après l'induction. D'où l'intérêt de l'adaptation du traitement aux facteurs pronostiques en particulier le profil cytogénétique et la MRD (minimal residual disease), réduire la toxicité de la chimiothérapie par une « supportive care » adéquate et la réalisation dans l'avenir de la greffe de la moelle osseuse.

Summary : Results of national protocol of treatment of acute myeloid leukemia AML-MA 03.

Acute myeloid leukemia (AML) is defined as a malignant clonal proliferation that has a point of departure immature myeloid cells in bone marrow blocked at an early stage of their differentiation (blasts) and caused a bone marrow failure syndrome and tumor syndrome. Significant progress has been made over the past two decades in the treatment of AML in children but it is still modest compared with acute lymphoblastic leukemia (ALL). The complete remission rate is about 85 %, the rate of prolonged survival without relapse at 5 years close to 50 % and overall survival rates generally exceeding 10 %.

In the service PII B was distinguished 3 periods in the care of LAM:
The 1st: using a palliative treatment based on continuous purinethol and other medicines. 2nd: LAM90 used the protocol of the French Society of Hematology (group Saint Louis) with a low rate of complete remission (CR) of 25 % and overall survival in less than 5 % of patients. The 3rd: developing a protocol adapted to the service, called VIC protocol, less aggressive and more effective, using the 4 major drugs LAM (cytosine-arabioside, idarubicine, etoposide and 6 - mercaptopurine). the CR was 60 % and survival at 4 years was 8 % of cases.

The new protocol (AML-MA 03) of the treatment of LAM was set to have a rate of complete remission (CR) at least 70 % after the induction (CR rates will be considered after the 2 treatments Induction or after intensification), a mortality rate before and during induction reduced to 10 % and a rate of event-free survival (EFS) to 5 years to 40 %. Our retrospective study concerned on 70 children with acute myeloblastic leukemia de novo treated with new protocol of LAM (AML MA-03) during 4 years (from 1 September 2003 to 1 September 2007). 58 have been included. Among the 58 patients, 5 % of patients were younger than 1 year, 14 % had a hyperleukocytosis more than 100.000/ml and 11 % a type of AML (M0, M6 and M7). The karyotypes were achieved in 72 % of our population. The greatest

proportion is represented by the karyotypes of poor prognosis (42 %). Thirty two percent are good prognosis and 26 % are intermediate prognosis. The t (8; 21) was the most common abnormality found, 29 % and 92 % of good prognosis karyotypes. The rate of complete remission after two treatments was 71 %, the mortality rate before and during induction was 12 % and the rate of event-free survival was 10 %. Thus, we have achieved our goal in terms of complete remission but not in overall survival and mortality rates after induction. Hence, the importance of adapting treatment prognostic factors in the particular cytogenetic profile and MRD (minimal residual disease), reduce the toxicity of chemotherapy by appropriate supportive care and realisation in the future the bone marrow transplantation.

ملخص : نتائج معالجة الإبيضاض الحاد بأرومة النقوية للطفل بالبروتوكول الوطني

AML-MA 03

قد أحرز تقدم كبير خلال العقدين الماضيين في معالجة الإبيضاض بأرومة النقوية لكن لا يزال متواضعا بالمقارنة مع الإبيضاض بأرومة اللمفاوية. إن معدل الشفاء الكامل هو 85 %، معدل البقاء على قيد الحياة دون نسكة لمدة 5 سنوات هو 50 %.

في قسم العلاج PII B، مرة ثلاثة فترات في معالجة الإبيضاض الحاد بأرومة النقوية: الأولى باستخدام العلاج الملطف (بورينيتول مع أو بدون أدوية أخرى)، الثانية باستخدام بروتوكول LAM90 للجمعية الفرنسية للدمويات (مجموعة سان لوي) والتي أعطت معدل الشفاء الكامل 25 %، معدل البقاء على قيد الحياة على الأقل لـ 5 % من المرضى، والثالثة استعمال بروتوكول مناسب لنا المسمى بروتوكول VIC أقل خطورة وأكثر فعالية وذلك باستخدام أربعة أدوية (سيتوزين أرابينوزيد، إيداروبسين، إكتوبوزيد و 6 - ميركبتوبورين). دراسة هذا البروتوكول أظهرت معدل الشفاء الكامل لـ 60 % ومعدل البقاء على قيد الحياة لمدة 4 سنوات لـ 8 %.

أقيم البروتوكول الجديد AML-MA03 لمعالجة الإبيضاض الحاد بأرومة النقوية للحصول على معدل الشفاء الكامل على الأقل 70 % بعد الإستقراء (معدل الشفاء الكامل يعتبر بعد الإستقراءين ومرحلة التشديد) معدل الشفاء الكامل بعد وقبل الإستقراء 10 % ومعدل البقاء على قيد الحياة بدون نسكة لمدة 5 سنوات 40 %. درسنا بصفة رجعية مسار 70 طفلا مصابا بالإبيضاض الحاد بأرومة النقوية عولجوا بهذا البروتوكول لمدة 4 سنوات (من 1 شتنبر 2003 إلى 1 شتنبر 2007). من بينهم 58 مريضا قد أدرجوا في هذه الدراسة. 5 % من المرضى يقل عمرهم عن سنة واحدة، 14 % لديهم فرط في الكريات البيضاء أكثر من 100000/مل، 1 % لديهم النوع 0، 6 و 7. 72 % لهم دراسة نووية أكبر نسبة ممثلة بالنوع السيئ الإنذار، 42 % نوع جيد الإنذار و 26 % نوع وسيط الإنذار. $t(8,21)$ تمثل النوع الأكثر شيوعا، 29 % من الحالات و 92 % من النوع الجيد الإنذار. معدل الشفاء الكامل بعد الإستقراء هو 71 %، معدل الوفاة بعد وقبل الإستقراء هو 12 %، معدل البقاء على قيد الحياة بدون نسكة هو 10 %. هكذا حققنا هدفنا من حيث معدل الشفاء الكامل ولكن ليس من حيث البقاء على قيد الحياة ومعدل الوفاة

بعد وقبل الإستقراء. من هذا تأتي أهمية تكيف العلاج لعوامل الإنذار وبالخصوص الدراسة النووية، الحد من سمية العلاج الكيميائي والإنجاز في المستقبل لطعم نخاع العظمي.

Bibliographie

Par ordre d'apparition dans le texte:

1. RE. Gale, H. Wheadon. Frequency of clonal remission in acute myeloid leukemia. *Lancet* 1993; 341 p: 138-142.
2. JP. Neglia, LL. Robinson. Epidemiology of the childhood acute leukemias. *Pediatr Clin North Am* 1988; 35p: 675-692.
3. JH. Weinstein. Acute Myeloid Leukemia In Childhood leukemias, edited by Ching Hong Pui, Cambridge university press 2000, p: 322-335.
4. G. Michel, V. Barlogis. Leucémies aiguës myéloïdes de l'enfant. *Oncologie* 2006 8 : 533-536.
5. JH. Kersey. Fifty years of studies of the biology and therapy of childhood leukemia. *Blood* 1997; 90:4243–4251.
6. C. Benett, K. Hsu. Myeloid leukaemia, myelodysplasia, and myeloproliferative disease in children. *Hematology of infancy and childhood* 2003.p : 1167-1209.
7. Tr. Golub. The molecular basis of hematologic malignancies. *Hematology of infancy and childhood* 2003 p :1219-1258.
8. Tr. Golub, RJ. Areci. Acute myelogenous leukemia. *Principles and practice of pediatric oncology* 2006 p: 591-644.
9. G. Leverger, G. Shaison. Leucémies aiguës myéloblastiques. *Hématologie pédiatrique*. Flammarion. Edition 1995.p :330-336.
10. L. Pechansky, S. Taylor, JR. Krause. Three infants with acute megacaryoblastic leukemia simulating metastatic tumor. *Cancer* 1989 ; 64 p: 1366-1371.
11. N. Sepp, T. Radasiewicz, CJ. Meijer, et al. Specific skin manifestation in acute leukemia with monocytic differentiation. *Cancer* 1993; 71 p: 124-132.
12. MS. Tallman, D. Hakimian, JM. Shaw, et al. Granulocytic sarcoma is associated with the (8; 21) translocation in acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 1993; 11 p: 690-697.
13. F. Dharmasena, N.Wickham, PJ. Mchugh, et al. Osteolytic tumors in acute megacaryoblastic leukemia. *Cancer* 1986; 58 p: 2273-2277.

14. D.A.G. Galton, H.R. Gralnick, C. Sultan, Proposals for the classification of the myelodysplastic syndromes, *Br. J. Haematol.* 51 (1982) p :189-199.
15. D. Catovsky, E. Matutes. The classification of acute leukemia. *Leukemia* 1992, 6, p: 1-6.
16. D. Nguyen, W. Lawrence. MD. Diamond, C. Raul C. Flow Cytometry in Hematopathology. 2003 Humana Press Inc, p; 188 – 192.
17. JM. Bennett, D. Catovsky, MT. Daniel, et al. Proposals for the classification of the acute leukemias. *Br J Haematol* 1976; 33, p: 451–458.
18. JM. Bennett, D. Catovsky, M.T Daniel, et al. Proposed revised criteria for the classification of acute myeloid leukemia. A report of the French American British Cooperative Group. *Ann Intern Med*, 1985, 103 : 626-629
19. JW. Vardiman, NL. Harris, RD. Brunning. The World Health Organization (WHO) classification of the myeloid neoplasms. *Blood* 2002; 100: 2292–2302.
20. F. Mugneret, P. Callier, B. Favre-Audry. Anomalies chromosomiques dans les leucémies aiguës myéloïdes. *Pathologie Biologie* 51 (2003) 314–328.
21. Service d'Hématologie et Oncologie Pédiatrique de Casablanca. Les Leucémies Aigues Myeloblastiques de l'enfant Evaluation du protocole AML03. Congrès SMH Rabat, 24 Novembre 2007.
- 21^{BIS} C. Jubert, B. Georger. Thérapies ciblées en oncologie pédiatrique : nouvelle approche thérapeutique. *Archives de pédiatrie*; February 2006, p : 189-194.
22. RC. Ribeiro, BI. Razzouk, S. Pounds, N. Hijjiya, C-H. Pui and JE. Rubnitz. Successive clinical trials for childhood acute myeloid leukemia at St Jude Children's. Research Hospital, from 1980 to 2000. *Leukemia* (2005) 19, 2125–2129.
23. MA. Smith, LA. Gloeckler-Ries, JG. Gurney. Leukemia. incidence and survival among children and adolescents: United States SEER Program 1975–1995. Vol. No. 99-4649.
24. SI. Choi, JV. Simone. Acute nonlymphocytic leukemia in 171 children. *Med Pediatr Oncol* 1976; 2 : 119–146.
25. S. Meshinchi, J. Robert. Prognostic Factors and Risk-Based Therapy in Pediatric Acute Myeloid Leukemia. *The Oncologist*, Vol. 12, No. 3, 341-355, March 2007.

26. U. Creutzig, T. Büchner, MC Sauerland. Significance of age in acute myeloid leukemia patients younger than 30 years: a common analysis of the pediatric trials AML-BFM 93/98 and the adult trials AMLCG 92/99 and AMLSG HD93/98A. *Cancer* 2008 Feb.
27. U. Creutzig, J. Ritter, M. Budde et al. Early deaths due to hemorrhage and leukostasis in childhood acute myelogenous leukemia. Associations with hyperleukocytosis and acute monocytic leukemia. *Cancer* 1987; 60: 3071–3079.
28. NJ. Bunin, K. Kunkel, TR. Callihan. Cytoreductive procedures in the early management in cases of leukemia and hyperleukocytosis in children. *Med Pediatr Oncol* 1987; 15: 232–235.
29. A. Françoise Valensi. Classification des leucémies aiguës nouvelles propositions de l'OMS. *Revue Française des Laboratoires*, juin 2002, N° 344, p : 19-24.
30. H. Walker, FJ. Smith, DR. Betts. Cytogenetics in acute myeloid leukaemia. *Blood Rev* 1994; 8:30–36.
31. A. Colita, A. Belharbi. Prognostic factors and treatment effects on survival in acute myeloid leukemia of M6 subtype: a retrospective study of 54 cases. *Annales Oncol* 2001 ;12(4) :451-5.
32. F. Mugneret, P. Callier, B. Favre-Audry. Anomalies chromosomiques dans les leucémies aiguës myéloïdes. *Pathologie Biologie* 51 (2003) 314–328.
33. GFCH and N. Dastugue. Introduction aux recommandations pour la prise en charge cytogénétique des hémopathies. *Pathologie Biologie*, Vol 52, I 5, June 2004, Pages 235-237.
34. GFCH. Recommandations pour la prise en charge cytogénétique des leucémies aiguës myéloïdes établies par le Groupe Français de Cytogénétique Hématologique (GFCH). *Pathologie Biologie*, Vol 52, Issue 5, June 2004, Pages 248-250.
35. C. Preudhomme. Biologie moléculaire et leucémies aiguës. *Revue Française des Laboratoires*, juin 2002, N° 344, p : 41-46.
36. C-H. Pui, M. Schrappe, R.C. Ribeiro, and C.M. Niemeyer. Childhood and Adolescent Lymphoid and Myeloid Leukemia. *Hematology* 2004 (American Society of Hematology) p : 118-145.

37. S. Meshinchia, R. J. Arceci. Prognostic Factors and Risk-Based Therapy in Pediatric Acute Myeloid Leukemia. *The Oncologist*, Vol. 12, No. 3, 341-355, March 2007.
38. DK. Webb, K. Wheatley, G. Harrison et al. Outcome for children with relapsed acute myeloid leukaemia following initial therapy in the Medical Research Council (MRC) AML 10 trial. MRC Childhood Leukaemia Working Party. *Leukemia* 1999;13 : 25–31.
39. K. Wheatley, AK. Burnett, AH. Goldstone et al. A simple, robust, validated and highly predictive index for the determination of risk-directed therapy in acute myeloid leukaemia derived from the MRC AML 10 trial. United Kingdom Medical Research Council's Adult and Childhood Leukaemia Working Parties. *Br J Haematol* 1999; 107 : 69 –79.
40. U. Creutzig , T. Büchner , MC. Sauerland . Significance of age in acute myeloid leukemia patients younger than 30 years: a common analysis of the pediatric trials AML-BFM 93/98 and the adult trials AMLCG 92/99 and AMLSG HD93/98A. *Cancer*. 2008 Feb 1;112 (3):562-71.
41. RJ. Mayer, RB. Davis, CA. Shiffer. Intensive post remission chemotherapy in adults with acute myeloid leukemia. Cancer and Leukemia Group B. *N Engl Med* 1994; 331(14): 896-903.
42. RA. Zittoun, F. Mandelli, R. Willemze. Autologous or allogenic bone marrow transplant ation compared with intensive chemotherapy in acute myeloid leukemia. European Organization for research and treatment of cancer (EORTC) and the gruppo italiano Malattie Ematologiche Maligne dell' adulto (GIMEMA) Leukemia cooperative groups. *N Engl J Med* 1995; 332 (4): 217-223.
43. JK. Weick, JK. Kopecky, FR. Appelbaum. A randomized investigation of high dose versus standard dose cytosine arabinoside with daunorubicine in patients with previously untreated acute myeloid leukemia: a southwest oncology group study. *Blood* 1996; 88 (8): 2841-2851.
44. R. Aplenc, TA. Alonzo, RB. Gerbing et al. Ethnicity and survival in childhood acute myeloid leukemia: A report from the Children's oncology. Group. *Blood* 2006; 108 : 74–80.
45. AS. Gamis. Acute myeloid leukemia and Down syndrome evolution of modern therapy–state of the art review. *Pediatr Blood Cancer* 2005;44:13–20.

46. HA. Drabkin, P. Erickson. Down syndrome and leukemia, an update. *Prog Clin Biol Res* 1995; 393: 169–176.
47. U. Creutzig, J. Ritter, WD. Ludwig et al. Acute myeloid leukemia in children with Down syndrome. *Klin Padiatr* 1995; 207:136–144; German.
48. Y. Ravindranath, E. Abella, JP. Krischer et al. Acute myeloid leukemia (AML) in Down's syndrome is highly responsive to chemotherapy: Experience on Pediatric Oncology Group AML Study 8498. *Blood* 1992; 80: 2210–2214.
49. BJ. Lange, RB. Gerbing, J. Feusner et al. Mortality in overweight and underweight children with acute myeloid leukemia. *JAMA* 2005; 293:203–211.
50. SM. Davies, S. Bhatia, JA. Ross et al. Glutathione S-transferase genotypes, genetic susceptibility, and outcome of therapy in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2002; 100: 67–71.
51. LC. Riley, IM. Hann, K. Wheatley et al. Treatment-related deaths during induction and first remission of acute myeloid leukaemia in children treated on the Tenth Medical Research Council acute myeloid leukaemia trial (MRC AML10). The MCR Childhood Leukaemia Working Party. *Br J Haematol* 1999; 106: 436–444.
52. D. Campana, C.H. Pui, Detection of minimal residual disease in acute leukemia: methodologic advances and clinical significance, *Blood* 85 (1995) 1416-1434.
53. S. Viehmann, A. Teigler-Schlegel, Bruch J et al. Monitoring of minimal residual disease (MRD) by real-time quantitative reverse transcription PCR (RQ-RT-PCR) in childhood acute myeloid leukemia with AML1/ETO rearrangement. *Leukemia* 2003; 17: 1130–1136.
54. Tobal K, Pagliuca A, Bhatt B et al. Mutation of the human FMS gene (M-CSF receptor) in myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia. *Leukemia* 1990; 4 : 486–489.
55. S. Buonamici, E. Ottaviani, N. Testoni et al. Real-time quantitation of minimal residual disease in inv(16)-positive acute myeloid leukemia may indicate risk for clinical relapse and may identify patients in a curable state. *Blood* 2002 ; 99 : 443–449.
56. WH Jr. Miller, K. Levine, A. De Blasio et al. Detection of minimal residual disease in acute promyelocytic leukemia by a reverse transcription polymerase chain reaction assay for the PML/RAR-alpha fusion mRNA. *Blood* 1993;82:1689–1694.

57. F. Mandelli, D. Diverio, G. Avvisati et al. Gruppo Italiano-Malattie Ematologiche Maligne dell'Adulto and Associazione Italiana di Ematologia ed Oncologia Pediatrica Cooperative Groups. Molecular remission in PML/RAR alpha-positive acute promyelocytic leukemia by combined all-trans retinoic acid and idarubicin (AIDA) therapy. *Blood* 1997; 90: 1014–1021.
58. D. Grimwade, F. Lo Coco. Acute promyelocytic leukemia: A model for the role of molecular diagnosis and residual disease monitoring in directing treatment approach in acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2002; 16: 1959–1973.
59. J. Basecke, L. Cepek, C. Mannhalter et al. Transcription of AML1/ETO in bone marrow and cord blood of individuals without acute myelogenous leukemia. *Blood* 2002;100:2267–2268.
60. G. Nucifora, RA. Larson, JD. Rowley. Persistence of the 8;21 translocation in patients with acute myeloid leukemia type M2 in long-term remission. *Blood* 1993; 82 : 712–715.
61. S. Schnittger, M. Weisser, C. Schoch et al. New score predicting for prognosis in PML-RARA+, AML1-ETO+, or CBFMBYH11+ acute myeloid leukemia based on quantification of fusion transcripts. *Blood* 2003; 102: 2746–2755.
62. E. Ferrara, R. Di Noto, M. Annunziata, C. Copia. Immunophenotypic analysis enables the correct prediction of t(8;21) in acute myeloid leukaemia, *Br. J. Haematol.* 102 (1998) 444-448.
63. San Miguel J.E, Martinez A., Macedo A. Immunophenotyping investigation of minimal residual disease is a useful approach for predicting relapse in acute myeloid leukemia patients, *Blood* 1997: 2465-2470.
64. E. Griesinger, M. Piro-Noack, N. Kaib. Leukaemia-associated immunophenotypes (LAIP) are observed in 90 % of adult and childhood acute lymphoblastic leukaemia : detection in remission marrow predicts outcome, *Br. J. Haematol.* 105 (1999) 241-255.
65. C.L Reading, E.H. Estey, Y.O. Huh, Claxton D.E. Expression of unusual immunophenotype combinations in acute myelogenous leukaemia, *Blood* 81 (1993) 3083-3090.
66. J.A. Liu Yin, K. Tobat, Detection of minimal residual disease in acute myeloid leukemia: Methodologies, clinical and biological significance, *Br. J. Haematol.* 106 (1991) 588-590.

67. JF. San Miguel, MB. Vidriales, C. Lopez-Berges et al. Early immunophenotypical evaluation of minimal residual disease in acute myeloid leukemia identifies different patient risk groups and may contribute to postinduction treatment stratification. *Blood* 2001; 98 : 1746–1751.
68. EL. Sievers, RA. Larson, EA. Stadtmauer et al. Efficacy and safety of gemtuzumab ozogamicin in patients with CD33-positive acute myeloid leukemia in first relapse. *J Clin Oncol* 2001; 19 : 3244–3254.
69. C. Langebrake, U. Creutzig, M. Dworzak et al. Residual disease monitoring in childhood acute myeloid leukemia by multiparameter flow cytometry: the MRD-AML-BFM Study Group. *J Clin Oncol* 2006; 24 : 3686–3692.
70. U. Creutzig, M. Zimmermann, J. Ritter et al. Definition of a standard-risk group in children with AML. *Br J Haematol* 1999; 104 : 630–639.
71. DK. Kalwinsky, SC. Raimondi, Schell MJ et al. Prognostic importance of cytogenetic subgroups in de novo pediatric acute nonlymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 1990; 8 : 75–83.
72. B. Lowenberg, JR. Downing, A. Burnett. Acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 1999; 341 : 1051–1062.
73. D. Grimwade, H. Walker, F. Oliver et al. The importance of diagnostic cytogenetics on outcome in AML: Analysis of 1,612 patients entered into the MRC AML 10 trial. The Medical Research Council Adult and Children's Leukaemia Working Parties. *Blood* 1998; 92 : 2322–2333.
74. RF. Stevens, IM. Hann, K. Wheatley et al. Marked improvements in outcome with chemotherapy alone in paediatric acute myeloid leukemia: Results of the United Kingdom Medical Research Council's 10th AML trial. MRC Childhood Leukaemia Working Party. *Br J Haematol* 1998;101:130–140
75. SC. Raimondi, MN. Chang, Y. Ravindranath et al. Chromosomal abnormalities in 478 children with acute myeloid leukemia: Clinical characteristics and treatment outcome in a cooperative Pediatric Oncology Group study-POG 8821. *Blood* 1999 ; 94 : 3707–3716
76. JA. Martinez-Climent, MJ. Thirman, R. Espinosa et al. Detection of 11q23/MLL rearrangements in infant leukemias with fluorescence in situ hybridization and molecular analysis. *Leukemia* 1995; 9 : 1299–1304

77. JM. Hilden, FO. Smith, JL. Frestedt et al. MLL gene rearrangement, cytogenetic 11q23 abnormalities, and expression of the NG2 molecule in infant acute myeloid leukemia. *Blood* 1997; 89 : 3801–3805.
78. E. Coustan-Smith, J. Sancho, ML. Hancock et al. Clinical importance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2000; 96 : 2691–2696.
79. JE. Rubnitz, SC. Raimondi, X. Tong et al. Favorable impact of the t(9;11) in childhood acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2002; 20 : 2302–2309.
80. C Harrison, A Moorman, R Hills et al. Cytogenetics of childhood AML from UK Medical Research Council Treatment Trials, AML10 12. *Blood* 2003 ; 102.
81. D. Grimwade, H. Walker, G. Harrison et al. The predictive value of hierarchical cytogenetic classification in older adults with acute myeloid leukemia (AML): Analysis of 1065 patients entered into the United Kingdom Medical Research Council AML11 trial. *Blood* 2001; 98 : 1312–1320.
82. ML. Slovak, KJ. Kopecky, PA. Cassileth et al. Karyotypic analysis predicts outcome of preremission and postremission therapy in adult acute myeloid leukemia: A Southwest Oncology Group/Eastern Cooperative Oncology Group study. *Blood* 2000; 96 : 4075–4083.
83. K. Mrozek, NA. Heerema, CD. Bloomfield. Cytogenetics in acute leukemia. *Blood Rev* 2004; 18 : 115–136.
84. SS. Farag, KJ. Archer, K. Mrozek et al. Pretreatment cytogenetics add to other prognostic factors predicting complete remission and long-term outcome in patients 60 years of age or older with acute myeloid leukemia: Results from Cancer and Leukemia Group B 8461. *Blood* 2006; 108 : 63–73.
85. JC. Byrd, K. Mrozek, RK. Dodge et al. Pretreatment cytogenetic abnormalities are predictive of induction success, cumulative incidence of relapse, and overall survival in adult patients with de novo acute myeloid leukemia: Results from Cancer and Leukemia Group B (CALGB 8461). *Blood* 2002; 100:4325–4336.
86. DH. Kim, NY. Lee, WJ. Sung et al. Multidrug resistance as a potential prognostic indicator in acute myeloid leukemia with normal karyotypes. *Acta Haematol* 2005; 114 : 78–83.
87. EL. Sievers, FO. Smith, WG. Woods et al. Cell surface expression of the multidrug resistance P-glycoprotein (P-170) as detected by monoclonal antibody

MRK-16 in pediatric acute myeloid leukemia fails to define a poor prognostic group: A report from the Children's Cancer Group. *Leukemia* 1995; 9 : 2042–2048.

88. CP. Leith, KJ. Kopecky, IM. Chen et al. Frequency and clinical significance of the expression of the multidrug resistance proteins MDR1/P-glycoprotein, MRP1, and LRP in acute myeloid leukemia: A Southwest Oncology Group Study. *Blood* 1999; 94 : 1086–1099.[Abstract/Free Full Text]

89. CL. Willman. The prognostic significance of the expression and function of multidrug resistance transporter proteins in acute myeloid leukemia: Studies of the Southwest Oncology Group Leukemia Research Program. *Semin Hematol* 1997; 34 (suppl 5):25–33.

90. ML. den Boer, R. Pieters, KM. Kazemier et al. Relationship between major vault protein/lung resistance protein, multidrug resistance-associated protein, P-glycoprotein expression, and drug resistance in childhood leukemia. *Blood* 1998; 91 : 2092–2098.

91. S. Meshinchi, WG. Woods, DL. Stirewalt et al. Prevalence and prognostic significance of Flt3 internal tandem duplication in pediatric acute myeloid leukemia. *Blood* 2001; 97 : 89–94.

92. S. Meshinchi, FO. Smith, RJ. Arceci. Prognostic factors and risk-based therapy in pediatric acute myeloid leukemia. *Curr Oncol Rep* 2003 ; 5 : 489–497.

93. Kiyoi H, Naoe T, Nakano Y et al. Prognostic implication of FLT3 and N-RAS gene mutations in acute myeloid leukemia. *Blood* 1999 ; 93 : 3074–3080.

94. DL. Stirewalt, KJ. Kopecky, S. Meshinchi et al. FLT3, RAS, and TP53 mutations in elderly patients with acute myeloid leukemia. *Blood* 2001 ; 97 : 3589–3595.

95. S. Meshinchi, TA. Alonzo, DL. Stirewalt et al. Clinical implications of FLT3 mutations in pediatric AML. *Blood* 2006; 108: 3654–3661.

96. C. Thiede, C. Steudel, B. Mohr et al. Analysis of FLT3-activating mutations in 979 patients with acute myelogenous leukemia: Association with FAB subtypes and identification of subgroups with poor prognosis. *Blood* 2002; 99: 4326–4335.

97. PD. Kottaridis, RE. Gale, ME. Frew et al. The presence of a FLT3 internal tandem duplication in patients with acute myeloid leukemia (AML) adds important prognostic information to cytogenetic risk group and response to the first cycle of

chemotherapy: Analysis of 854 patients from the United Kingdom Medical Research Council AML 10 and 12 trials. *Blood* 2001; 98: 1752–1759.

98. CM. Zwaan, S. Meshinchi, JP. Radich et al. FLT3 internal tandem duplication in 234 children with acute myeloid leukemia: Prognostic significance and relation to cellular drug resistance. *Blood* 2003; 102: 2387–2394.

99. C. Thiede, C. Steudel, B. Mohr et al. Analysis of FLT3-activating mutations in 979 patients with acute myelogenous leukemia: Association with FAB subtypes and identification of subgroups with poor prognosis. *Blood* 2002; 99: 4326–4335.

100. BF. Goemans, CM. Zwaan, Miller M et al. Mutations in KIT and RAS are frequent events in pediatric core-binding factor acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2005; 19: 1536–1542

101. S. Schnittger, TM. Kohl, T. Haferlach et al. KIT-D816 mutations in AML1-ETO positive AML are associated with impaired event-free and overall survival. *Blood* 2006; 107: 1791–1799.

102. R. Cairoli, A. Beghini, G. Grillo et al. Prognostic impact of c-KIT mutations in core binding factor leukemias: An Italian retrospective study. *Blood* 2006; 107: 3463–3468.

103. A. Shimada, T. Taki, K. Tabuchi et al. KIT mutations, and not FLT3 internal tandem duplication, are strongly associated with a poor prognosis in pediatric acute myeloid leukemia with t(8;21): A study of the Japanese Childhood AML Cooperative Study Group. *Blood* 2006; 107: 1806–1809

104. P. Paschka, G. Marcucci, AS. Ruppert et al. Adverse prognostic significance of KIT mutations in adult acute myeloid leukemia with inv(16) and t(8;21): A Cancer and Leukemia Group B Study. *J Clin Oncol* 2006; 24: 3904–3911.

105. S. Schnittger, C. Schoch, W. Kern et al. Nucleophosmin gene mutations are predictors of favorable prognosis in acute myelogenous leukemia with a normal karyotype. *Blood* 2005; 106: 3733–3739.

106. G. Cazzaniga, MG. Dell'Oro, C. Mecucci et al. Nucleophosmin mutations in childhood acute myelogenous leukemia with normal karyotype. *Blood* 2005; 106: 1419–1422.

107. P. Brown, E. McIntyre, R. Rau et al. Incidence and clinical significance of Nucleophosmin mutations in childhood AML. A Children's Oncology Group study. *ASH Annual Meeting Abstracts* 2006; 108:221.

108. LJ. van 't Veer, H. Dai, MJ. van de Vijver et al. Expression profiling predicts outcome in breast cancer. *Breast Cancer Res* 2003; 5: 57–58.
109. T. Yagi, A. Morimoto, M. Eguchi et al. Identification of a gene expression signature associated with pediatric AML prognosis. *Blood* 2003; 102: 1849–1856.
110. NJ. Lacayo, S. Meshinchi, P. Kinnunen et al. Gene expression profiles at diagnosis in de novo childhood AML patients identify FLT3 mutations with good clinical outcomes. *Blood* 2004; 104: 2646–2654.
111. CS. Wilson, GS. Davidson, SB. Martin et al. Gene expression profiling of adult acute myeloid leukemia identifies novel biologic clusters for risk classification and outcome prediction. *Blood* 2006; 108: 685–696.
112. PJ. Valk, RG. Verhaak, MA. Beijen et al. Prognostically useful gene-expression profiles in acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2004; 350: 1617–1628.
113. U. Creutzig, M. Zimmermann, J. Ritter. Treatment strategies and long-term results in paediatric patients treated in four consecutive AML-BFM trials. *Leukemia* (2005) 19, 2030–2042.
114. Y. Perel, A. Auvrignon, T. Leblanc, Treatment of childhood acute myeloblastic leukemia: dose intensification improves outcome and maintenance therapy is of no benefit – multicenter studies of the French LAME (Leucémie Aigue Myéloblastique Enfant) Cooperative Group *Leukemia* (2005) 19, 2082–2089.
115. A. Pession, R Rondelli, G Basso .Treatment and long-term results in children with acute myeloid leukaemia treated according to the AIEOP AML protocols *Leukemia* (2005) 19, 2043–2053.
116. A. Dluzniewska, W Balwierz, J Armata. Twenty years of Polish experience with three consecutive protocols for treatment of childhood acute myelogenous leukemia. *Leukemia* (2005) 19, 2117–2124.
117. Y. Ravindranath, M. Chang, CP. Steuber. Pediatric Oncology Group (POG) studies of acute myeloid leukemia (AML): a review of four consecutive childhood AML trials conducted between 1981 and 2000 *Leukemia* (2005) 19, 2101–2116.
118. D-C. Liang, T-T. Chang, K-H Lin. Improved treatment results for childhood acute myeloid leukemia in Taiwan. *Leukemia* (2006) 20, 136–141.

119. FO. Smith, TA. Alonzo, RB. Gerbing. Long-term results of children with acute myeloid leukemia: a report of three consecutive Phase III trials by the Children's Cancer Group: CCG 251, CCG 213 and CCG 2891 Leukemia (2005) 19, 2054–2062.
120. U. Creutzig, D. Reinhardt. Current controversies: which patients with acute myeloid leukemia should receive a bone marrow transplantation? A European view. *B J Haematol* 118: 365-377.
121. A. Stoppa, N. Vey: Pronostic et traitement des leucémies aiguës myéloblastiques. EMC 2004
122. IM. Hann, RF. Stevens, AH. Goldstone, et al. Randomized comparison of DAT versus ADE as induction chemotherapy in children and younger adults with acute myeloid leukemia. Results of the Medical Research Council's 10th AML trial (MRC AML10). Adult and Childhood Leukaemia Working Parties of the Medical Research Council. *Blood*. 1997; 89: 2311–2318.
123. U. Creutzig, J. Ritter, M. Zimmermann, et al. Improved treatment results in high-risk pediatric acute myeloid leukemia patients after intensification with high-dose cytarabine and mitoxantrone: results of Study Acute Myeloid Leukemia-Berlin-Frankfurt-Munster 93. *J Clin Oncol*. 2001; 19: 2705–2713.
124. Y. Perel, A. Auvrignon, T. Leblanc, et al. Impact of addition of maintenance therapy to intensive induction and consolidation chemotherapy for childhood acute myeloblastic leukemia: results of a prospective randomized trial, LAME 89/91. *Leucémie Aigue Myeloïde Enfant*. *J Clin Oncol*. 2002; 20: 2774–82.
125. Y. Ravindranath, AM. Yeager, MN. Chang, et al. Autologous bone marrow transplantation versus intensive consolidation chemotherapy for acute myeloid leukemia in childhood. Pediatric Oncology Group. *N Engl J Med*. 1996; 334:1428–1434.
126. WG. Woods, N. Koblinsky, JD. Buckley, et al. Timed-sequential induction therapy improves postremission outcome in acute myeloid leukemia: a report from the Children's Cancer Group. *Blood*. 1996; 87: 4979–4989.
127. IM. Hann, DK. Webb, BE. Gibson, CJ. Harrison. MRC trials in childhood acute myeloid leukaemia. *Ann Hematol*. 2004; 83 Suppl 1:S108–S112.
128. RA. Krance, CA. Hurwitz, DR. Head, et al. Experience with 2-chlorodeoxyadenosine in previously untreated children with newly diagnosed acute myeloid leukemia and myelodysplastic diseases. *J Clin Oncol*. 2001; 19: 2804–2811.

129. BL. Abbott, JE. Rubnitz, X. Tong, et al. Clinical significance of central nervous system involvement at diagnosis of pediatric acute myeloid leukemia: a single institution's experience. *Leukemia*. 2003; 17: 2090–2096.

130. *P. Ching-Hon, M. Schrappe, R. C. Ribeiro*. Childhood and Adolescent Lymphoid and Myeloid Leukemia. American society of hematology 2004.

131. J.L Gertjan, Kaspers, M.Christian Zwaan. Pediatric acute myeloid leukemia towards high-quality cure of all patients the Pediatric. *Oncology/Hematology* December 29 2006.

132. S. Tallman MD. New agents for the treatment of acute myeloid leukemia. *Best Practice & Research Clinical Haematology* Volume 19, Issue 2, June 2006, P: 311-320.