

DÉTECTION DE 14 TRANSLOCATIONS À PRONOSTIC DÉFAVORABLE DANS LES LEUCÉMIES MYÉLOÏDES AIGÜES PÉDIATRIQUES (RÉFÉRENCE – 2014.02.16)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

1.1 Demandeur : CHU Sainte-Justine

1.2 Date de transmission de l'avis au ministre : 20 décembre 2016

1.3 Date de publication de l'avis : 17 février 2017

Mise en garde

Le présent avis est fondé sur l'information déposée par le demandeur ainsi que sur une recherche documentaire complémentaire selon les données disponibles au moment de l'évaluation de l'analyse par l'INESSS.

Conflit d'intérêts

Tous les membres du comité ont participé aux délibérations et aucun ne s'est retiré au moment de formuler la recommandation.

Lecture externe et accompagnement scientifique

La lecture externe et l'accompagnement scientifique sont des mécanismes utilisés par l'INESSS pour assurer la qualité de ses travaux. Les lecteurs externes et les experts accompagnateurs valident les aspects méthodologiques de l'évaluation, de même que l'exactitude du contenu, en fonction de leur domaine d'expertise respectif.

Aux fins de validation du présent avis, les experts consultés sont :

- D^r Olivier LaRoche, hémato-oncologue au CHU de Québec-Université Laval.
- D^r Thai Hoa Tran, hémato-oncologue pédiatrique au CHU de Québec-Université Laval a été consulté afin d'obtenir des précisions sur les standards de pratique relativement à la prise en charge des LMA chez l'enfant.

2 ANALYSE ET TECHNIQUE ÉVALUÉE

2.1 Nom de l'analyse

Analyse par panel de 14 translocations chromosomiques associées à un pronostic défavorable dans les cas pédiatriques de leucémies myéloïdes aiguës (LMA).

2.2 Description brève de l'analyse et précisions techniques et cliniques

La recherche des translocations sera effectuée par transcription inverse et réaction en chaîne par polymérase (RT-PCR) suivie d'une PCR nichée spécifique à chaque translocation. La réaction de RT-PCR consiste en premier lieu à convertir l'ARN isolé des cellules en un brin d'ADN complémentaire (ADNc) à l'aide d'une transcriptase inverse. Par la suite, l'ADNc sert de matrice à une réaction PCR dite nichée (de l'anglais, *nested-PCR*) afin d'augmenter la sensibilité de l'analyse. Deux couples d'amorces sont utilisés, dont un vise l'amplification d'une séquence interne à celle ciblée par l'autre couple d'amorces (amorces externes). La réaction est d'abord débutée avec le couple d'amorces externes pour dix cycles d'amplification. Un excès d'une ou deux amorces « internes » est par la suite ajouté à la réaction afin de prolonger l'amplification pour encore 25 cycles. Les résultats obtenus sont qualitatifs.

La présente analyse permettra de préciser le diagnostic de LMA et d'effectuer la stratification pronostique initiale des patients afin d'offrir un traitement adapté à l'anomalie cytogénétique détectée. Les translocations chromosomiques qui seront recherchées sont regroupées en 3 panels selon les résultats initiaux des analyses cytologiques et cytogénétiques. Dans le tableau 1 sont présentées les 14 translocations incluses dans les 3 panels ainsi que les gènes de fusion qui en découlent.

Tableau 1 Panel de translocations à pronostic défavorable dans les leucémies myéloïdes aiguës pédiatriques

PANEL	TRANSLOCATION	FUSION (ALIAS†)
Translocations impliquant le gène <i>MLL</i> (<i>KMT2A</i> *)	t(1;11)(q21;q23)	KMT2A-MLLT11 (AF1Q)
	t(1;11)(p32;q23)	KMT2A-EPS15 (AF1P)
	t(11;17)(q23;q12-21)	KMT2A-LASP1
	t(11;19)(q23;p13.1)	KMT2A-ELL
	t(11;19)(q23;p13.3)	KMT2A-MLLT1 (ENL)
	t(6;11)(q27;q23)	KMT2A-MLLT4 (AF6)
	t(9;11)(p22;q23)	KMT2A-MLLT3 (AF9)
	t(10;11)(p12;q23)	KMT2A-MLLT10 (AF10)
Translocations n'impliquant pas le gène <i>MLL</i>	t(5;11)(q35;p15.5)	NUP98-NSD1
	t(6;9)(p23;q34)	DEK-NUP214
	t(10;11)(p13;q14-21)	PICALM-MLLT10
Translocations associées à la leucémie mégacaryoblastique	t(11;12)(p15;p13)	NUP98-KDM5A
	t(1;22)(p13;q13)	RBM15-MKL1
	inv(16)(p13.3;q24.3)‡	CBFA2T3-GLIS2

* Le gène *KMT2A* (histone-lysine N-méthyltransférase 2A) est également connu sous le nom de gène *MLL* (*mixed-lineage leukemia*) [Rao et Dou, 2015].

† L'alias présenté entre parenthèses est une autre appellation utilisée pour le gène partenaire du gène *KMT2A* (*MLL*). Par exemple, le gène *MLLT11* est aussi appelé *AF1Q*.

‡ Il s'agit d'une translocation distincte de l'inversion 16 (CBFβ-MYH11) de la LMA de l'adulte qui, elle, confère un pronostic favorable [Creutzig *et al.*, 2012].

2.3 Modalités d'administration du test

Les échantillons de sang ou de moelle osseuse seront acheminés au laboratoire central du CHU Sainte-Justine puis au laboratoire de diagnostic moléculaire (agrée par le CCMG et Agrément Canada) où l'ARN sera extrait et les analyses par RT-PCR réalisées. Le temps de réponse est de 1 à 2 semaines. Les translocations à analyser seront sélectionnées selon les résultats de cytologie, des analyses cytogénétiques préliminaires par hybridation *in situ* en fluorescence (FISH, de l'anglais *fluorescence in situ hybridization*) et le tableau clinique.

- Lorsque les résultats d'analyse par FISH indiqueront qu'il y a un réarrangement avec le gène *MLL*¹, les 8 translocations du panel *MLL* seront analysées afin d'identifier le gène partenaire de la translocation en cause. Une fois le gène partenaire identifié, seule cette translocation sera analysée pour le suivi du patient.
- Le panel de translocations n'impliquant pas le gène *MLL* est constitué de trois translocations qui sont associées à un risque élevé de récurrence. Les trois translocations ne seront pas analysées d'emblée. Les translocations NUP98-NSD1 et

¹ Gène *MLL* : de l'anglais *mixed-lineage leukemia*, gène localisé sur le chromosome 11 en position 23 du bras long (11q23) [Rao et Dou, 2015].

DEK-NUP214 seront recherchées lorsque les résultats du panel LMA classique^{2, 3} (PCR et cytogénétique) seront négatifs et que le patient présentera une LMA. Quant à la translocation PICALM-MLLT10, elle sera recherchée dans le contexte d'une leucémie indifférenciée ou à cellules pré-T.

- Lorsqu'une leucémie mégacaryoblastique aiguë (LMCA) sera suspectée, seules les trois translocations de ce panel seront analysées pour le diagnostic puis seulement celle qui aura été détectée pour le suivi du patient.

Lorsqu'une translocation sera détectée par RT-PCR lors du diagnostic, elle sera systématiquement analysée par séquençage à des fins de confirmation.

2.4 Société ou concepteur

Protocole maison

2.5 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA)

Cette analyse et les technologies utilisées n'ont fait l'objet d'aucune homologation auprès de Santé Canada ou de la FDA.

2.6 Valeur pondérée :

- Une translocation : 143,68
- Panel impliquant *MLL* (8 translocations) : 319,36
- Panel n'impliquant pas *MLL* (3 translocations) : 181,59
- Panel LMCA (3 translocations) : 181,59

3 CONTEXTE

3.1 Patients ciblés

Patients pédiatriques atteints de LMA primaire ou secondaire aux traitements de chimiothérapie.

3.2 Description des maladies visées

Leucémie myéloïde aiguë

La leucémie myéloïde aiguë (LMA) est une maladie hématologique maligne hétérogène comptant pour 15 % à 20 % des cas de leucémies aiguës pédiatriques [De Rooij *et al.*, 2015]. Elle est caractérisée par la prolifération clonale de précurseurs myéloïdes avec une capacité réduite à se différencier en cellules plus matures. Par conséquent, il se produit une accumulation de cellules immatures (myéloblastes) dans le sang, dans la moelle osseuse et

² Le panel LMA classique comprend les quatre translocations les plus fréquentes : t(9;11) MLL-AF9 (incluse dans le panel *MLL* présenté au tableau 1), t(8;21) RUNX1-RUNX1T1, t(15;17) PML-RARA et inv (16) CBFβ-MYH11. Ces trois dernières constituent des entités distinctes dans la classification de l'OMS et sont associées à des leucémies à pronostic plus favorable [Arber *et al.*, 2016; Creutzig *et al.*, 2012].

Information transmise par Virginie Dormoy-Raclet, Ph.D. (CHU Sainte-Justine), communication électronique du 2 mai 2016.

³ Parmi les quatre translocations du panel LMA classique, sont inscrites dans le *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale* 2016-2017, la translocation t(8;21) (code 65084), la translocation t(15;17) pour la leucémie promyélocytaire aiguë FAB-M3 (codes 65094 et 65096) et l'inv(16) (code 65086) pour laquelle les gènes impliqués ne sont pas spécifiés. La translocation t(9;11) incluse dans le panel *MLL* présenté au tableau 1 ne se trouve pas dans le *Répertoire*.

parfois dans d'autres tissus, accompagnée d'une diminution variable du nombre de cellules matures.

La majorité des leucémies aiguës pédiatriques (lymphoïdes ou myéloïdes) sont caractérisées par la présence de réarrangements (translocations) entre deux chromosomes qui génèrent des gènes de fusion ou qui dérèglent l'expression normale de gènes impliqués dans l'hématopoïèse [Pui *et al.*, 2011].

Dans les LMA, les translocations impliquant le gène *MLL* (aussi appelé *KMT2A*) sont parmi les anomalies les plus prévalentes. Elles sont présentes dans 15 % à 24 % des cas de LMA pédiatriques [Balgobind *et al.*, 2011; Pui *et al.*, 2011; Von Neuhoff *et al.*, 2010; Balgobind *et al.*, 2009] et dans 70 % des leucémies des nourrissons [Cerveira *et al.*, 2012]. Ces translocations sont généralement associées à un risque élevé de récurrence, et ce risque dépend du gène partenaire du gène *MLL* [Pigazzi *et al.*, 2011; Balgobind *et al.*, 2009]. Parmi les 121 réarrangements du gène *MLL* récemment rapportés, 79 gènes partenaires ont été caractérisés au niveau moléculaire. De ces réarrangements, sept sont présents dans 90 % des cas de LMA pédiatriques, soient les translocations impliquant les gènes partenaires *AF4*, *AF6*, *AF9*, *AF10*, *ENL*, *ELL* et les duplications partielles en tandem (*MLL PTDs*) [Meyer *et al.*, 2013]. Parmi ceux-ci, la translocation t(9;11)(p22;q23) (fusion *MLL-AF9*) est la plus fréquente [Pui *et al.*, 2011; Harrison *et al.*, 2010]. La survie globale à 5 ans des LMA présentant ce type de translocations varie selon le gène partenaire impliqué [Balgobind *et al.*, 2009].

Outre les translocations impliquant le gène *MLL*, trois translocations sont également rapportées comme étant associées aux LMA à risque élevé de récurrence : t(5;11)(q35;p15.5) (fusion *NUP98-NSD1*), t(6;9)(p23;q34) (fusion *DEK-NUP214*) et t(10;11)(p13;q14-21) (fusion *PICALM-MLLT10*). Il s'agit de translocations rares associées à un pronostic défavorable [Sandahl *et al.*, 2014; Tarlock *et al.*, 2014; Akiki *et al.*, 2013; Hollink *et al.*, 2011; Borel *et al.*, 2010; Savage *et al.*, 2010].

Leucémie mégacaryoblastique aiguë

La leucémie mégacaryoblastique aiguë (LMCA) est un sous-type cytologique de LMA caractérisé par la présence de mégacaryoblastes anormaux et de myélofibrose de la moelle osseuse compliquant le prélèvement d'échantillons pour l'analyse cytogénétique [De Rooij *et al.*, 2016; Gruber et Downing, 2015; De Rooij *et al.*, 2013]. Selon la classification morphologique Franco Américano Britannique (FAB) qui comporte 7 sous-groupes allant de M0 à M7 [Bennett *et al.*, 1985], la LMCA constitue le type M7 (FAB-M7 ou LMA-M7). La LMCA, plus fréquente chez le très jeune enfant, représente 7 % à 10 % des cas de LMA pédiatriques sans syndrome de Down [Schweitzer *et al.*, 2015; Reinhardt *et al.*, 2005]. L'âge au diagnostic (âge médian 1,44 ans) est significativement inférieur à celui des autres sous-types LMA (9,98 ans, $p < 0,0001$) [Schweitzer *et al.*, 2015]. Plus particulièrement, les patients présentant la translocation t(1;22)(p13;q13) *RMB15-MKL1* sont significativement plus jeunes au diagnostic que les autres cas de LMCA (âge médian 0,5 an c. 1,6 ans; $p < 0,01$) [De Rooij *et al.*, 2013].

Chez les enfants, deux sous-groupes de LMCA ont été décrits : avec ou sans syndrome de Down. Contrairement au groupe avec syndrome de Down, le groupe sans syndrome de Down est hétérogène et généralement associé à un mauvais pronostic comparativement aux autres types de LMA [Schweitzer *et al.*, 2015; Takeda *et al.*, 2014; Thiollier *et al.*, 2012]. On observe chez les patients atteints de LMCA sans syndrome de Down une survie globale à 5 ans allant de 42 % à 60 % [Inaba *et al.*, 2015; Schweitzer *et al.*, 2015; De Rooij *et al.*, 2013] ainsi qu'une piètre réponse aux traitements [De Rooij *et al.*, 2016]. Une grande proportion des cas de LMCA sans syndrome de Down est caractérisée par la présence des

translocations t(1;22)(p13;q13) (fusion RBM15-MKL1), inv(16)(p13.3;q24.3) (fusion CBFA2T3-GLIS2) ou t(11;12)(p15;p13) (fusion NUP98-KDM5A) ainsi que des réarrangements du gène *MLL* [Gruber et Downing, 2015; De Rooij *et al.*, 2013; Gruber *et al.*, 2012].

3.3 Nombre prévu d'analyses et de patients visés

La LMA représente 20 % des cas de leucémie chez l'enfant, soit 15 à 20 nouveaux cas par année au Québec. Les patients reçoivent en moyenne 5 cycles de chimiothérapie et sont suivis à intervalles réguliers au cours de l'année qui suit la fin des traitements. En considérant le diagnostic et le suivi, une translocation peut être analysée en moyenne entre 5 et 10 fois par année par patient, pour un total de 75 à 200 analyses par année.

3.4 Spécialités médicales concernées

Hématologie, oncologie, génétique.

3.5 Brève description de la situation actuelle

Une approche diagnostique multimodale permet d'effectuer la recherche d'anomalies génétiques associées à certains types de leucémies. Les méthodes suivantes sont utilisées selon le type d'information recherché : cytomorphologie, cytométrie de flux (immunophénotypage), analyse du caryotype, FISH, analyse moléculaire (techniques PCR et séquençage) [Creutzig *et al.*, 2012; Haferlach *et al.*, 2007].

L'analyse cytogénétique des cellules blastiques de la moelle osseuse ou du sang (analyse classique du caryotype) permet de détecter les anomalies perceptibles afin d'établir le diagnostic et le pronostic initial de la leucémie. La RT-PCR et/ou le FISH sont utiles pour détecter les anomalies cytogénétiques cryptiques non détectables par l'analyse classique du caryotype [Haferlach *et al.*, 2007]. Au cours du suivi thérapeutique, la RT-PCR permet d'évaluer le niveau de maladie résiduelle. L'identification des points exacts de cassure des translocations chromosomiques permet, dans certains cas, une meilleure stratification pronostique [Haferlach *et al.*, 2007]. Par exemple, dans le cas des translocations impliquant le gène *MLL*, l'analyse par FISH permet de confirmer l'implication de ce gène mais l'identification du gène partenaire en RT-PCR permet d'effectuer la stratification pronostique de la LMA [Balgobind *et al.*, 2009].

Utilisation actuelle de l'analyse des translocations

À Toronto, le Hospital for Sick Children (SickKids) offre l'analyse par PCR en temps réel des translocations t(10;11)(p13;q14-21) PICALM-MLLT0, t(11;19)(q23;p13.3) KMT2A-ENL, t(1;22)(p13;q13) RBM15-MKL1 (pour la LMCA) et de la t(6;9)(p23;q34) DEK-NUP214 (méthode non mentionnée).

Aux États-Unis, le MD Anderson Cancer Center (Texas, USA), un panel de 14 transcrits de fusion associés à la leucémie aiguë peut être analysé par RT-PCR et sondes TaqMan. Ce panel comprend la t(6;9)(p23;q34) DEK-NUP214 qui est incluse au panel du demandeur.

Selon la banque de données Orphanet, l'analyse moléculaire des LMA par PCR est réalisée aux endroits suivants :

- Klinisches Institut für Laormedizin (Autriche) : panel de 25 translocations dont 7 incluses dans le panel du demandeur (t(6;11), t(11;19), t(10;11), t(1;11), t(11;17), t(9;11), inv (16)).
- Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt (Allemagne) : investigation des réarrangements du gène *MLL* par LDI-PCR (PCR inverse longue distance).

- National Institute of Legal Medicine (Roumanie) : diagnostic moléculaire des altérations chromosomiques des leucémies aiguë et chronique.

3.6 Données médico-administratives

Envois hors Québec pour 2013-2014 :

Concernant l'évaluation de la maladie résiduelle par PCR en temps réel, 13 demandes d'analyse de translocations ont été effectuées chez Hematologics Inc. (Seattle, WA)⁴. Ces 13 demandes d'analyses totalisaient 6 870 \$ (5 à 654 \$ et 8 à 450 \$).

Envois hors Québec pour 2014-2015 :

Aucune demande n'a été repérée concernant la détection de translocations associées à la LMA.

3.7 Brève description des avantages allégués de l'analyse proposée

Selon le demandeur, l'identification des translocations chromosomiques associées à la LMA est importante pour préciser le diagnostic de LMA et effectuer la stratification pronostique initiale des patients.

Cette analyse permettra également de faire le suivi des patients par :

- la surveillance de la réponse au traitement (quantification de la maladie résiduelle en rémission hématologique complète pour orienter adéquatement le traitement);
- le suivi de l'évolution et la documentation d'une rémission moléculaire (ex. absence de maladie avant la greffe de cellules souches); et
- la détection précoce de la réapparition de la maladie (récidive moléculaire).

Pour un patient ayant atteint une rémission moléculaire, la détection du transcrit de fusion lors de son suivi (patient négatif qui redevient positif en RT-PCR) est fortement prédictive d'une récidive à court terme.

La détection de translocations associées à un pronostic défavorable permettra d'offrir un traitement adapté au profil génétique des cellules leucémiques de chaque patient (stratification du risque prétraitement).

- Le choix d'offrir une greffe de cellules souches, ou la détermination du meilleur moment pour réaliser la greffe, sera adapté selon le type de translocation et la réponse au traitement.
- Une intensification du traitement⁵ sera considérée chez un patient qui n'obtient pas de rémission moléculaire.
- Chez un patient qui présente une récidive moléculaire, la recherche de donneurs pour une greffe de cellules souches ou l'immunothérapie pourront être envisagés.

3.8 Assurance qualité

Des lignées cellulaires exprimant la translocation recherchée (ou à défaut l'ARN d'un patient déjà testé positif) seront utilisées comme témoins internes positifs pour chaque

⁴ L'évaluation de la maladie résiduelle pour la LMA est réalisée, entre autres, par l'analyse de 3 translocations incluses dans le panel proposé par le centre demandeur : t(9;11) MLL-AF9, t(1;11) MLL-AF1, t(11;19) MLL-ENL/ELL. Ces analyses sont réalisées par PCR quantitatif en temps réel. L'information est tirée de Hematologics Inc., Molecular Analysis [site Web], disponible à : <http://www.hematologics.com/services/molecular-analysis/> (consulté le 4 avril 2016).

⁵ L'intensification du traitement est soit l'administration d'un traitement de chimiothérapie de deuxième ligne ou, la plupart du temps, une greffe de cellules souches (information transmise par le demandeur, Dre Sonia Cellot, communication téléphonique du 15 juillet 2016).

translocation (annexe A). Des témoins normaux (patients négatifs pour la translocation à valider) seront également utilisés.

Un contrôle de qualité du College of American Pathologists (CAP) n'étant pas disponible pour les translocations des panels proposés, un échange de cas à l'aveugle avec le laboratoire de cytogénétique du CHU Sainte-Justine sera fait deux fois par année. Par ailleurs, les contrôles de qualité du CAP sont actuellement rigoureusement utilisés plusieurs fois par année pour la recherche d'autres transcrits de fusion.

3.9 Remplacement d'un autre test

Il s'agit d'une nouvelle analyse.

4 DONNÉES PROBANTES

4.1 Valeur diagnostique

Aucune étude n'a été retenue puisque l'analyse proposée par le centre demandeur n'a pas pour objectif d'établir un diagnostic de LMA.

4.2 Valeur pronostique

La valeur pronostique des 14 translocations énumérées dans le tableau 1 est présentée ci-dessous selon les 3 sous-groupes suivants : translocations impliquant le gène *MLL*, translocations n'impliquant pas le gène *MLL* et translocations associées à la LMCA.

4.2.1 Translocations impliquant le gène *MLL*

Le pronostic des patients qui ont une translocation impliquant le gène *MLL* est considéré défavorable tant chez les enfants, chez les adultes que dans les cas de leucémie secondaire à un traitement [Ney Garcia *et al.*, 2016; Cerveira *et al.*, 2012; Dohner *et al.*, 2010; Von Neuhoﬀ *et al.*, 2010]. Toutefois, l'impact pronostique spécifique des translocations impliquant le gène *MLL* dépend du gène partenaire de ces translocations [Pigazzi *et al.*, 2011; Balgobind *et al.*, 2009]. Dans les tableaux 2 et 3 sont résumées les données pronostiques issues des études retenues concernant les 8 translocations du panel impliquant le gène *MLL*.

Translocation t(10;11) KMT2A-MLLT10

La valeur pronostique de la translocation t(10;11) KMT2A-MLLT10 a été principalement décrite dans deux études de cohortes rétrospectives [Von Neuhoﬀ *et al.*, 2010; Balgobind *et al.*, 2009] et dans une étude de cohorte prospective [Harrison *et al.*, 2010] (tableau 2).

L'étude rétrospective de Balgobind et ses collaborateurs [2009] avait pour objectif d'étudier les différences pronostiques associées à 9 partenaires de translocation du gène *MLL* afin d'optimiser la stratification du risque et le traitement des patients atteints d'une LMA. Les données de survie de 756 patients âgés de moins de 18 ans et atteints de LMA avec anomalie du chromosome 11q23 ou avec réarrangement du gène *MLL* ont été obtenues. Chez 376 patients, la présence d'un réarrangement du gène *MLL* avait été évaluée uniquement par analyse cytogénétique classique. Pour les 380 autres cas, le réarrangement du gène *MLL* détecté par analyse cytogénétique classique avait été confirmé par FISH ou par RT-PCR. Chez les patients qui avaient la translocation t(10;11), le pronostic était plutôt défavorable. La survie sans événement (SSE) et la survie globale (SG) à 5 ans étaient de 31 % ± 5 % et de 45 % ± 5 % respectivement. De plus, en analyse multivariée, la t(10;11)

s'avère être un indicateur indépendant de pronostic défavorable, avec un rapport de risque instantané (RRI) associé à la SSE de 1,5 (IC95 1,1 à 2,1; $p = 0,004$) et un RRI associé à la SG de 1,9 (IC95 1,3 à 2,6; $p < 0,001$), et ce indépendamment de l'âge, de la concentration en leucocytes et du moment où la greffe de cellules souches a été réalisée. Les auteurs concluent que la t(10;11) devrait être incluse dans la stratification du risque des patients pédiatriques atteints de LMA.

L'étude rétrospective de Von Neuhoff et ses collaborateurs [2010] portait sur l'évaluation de la fréquence et de la valeur pronostique de différents caryotypes, incluant certaines translocations impliquant le gène *MLL*, chez des patients pédiatriques atteints de LMA ayant participé à l'étude clinique AML-BFM 98. Au total, 454 patients dont les données cytogénétiques étaient complètes ont été inclus. Une analyse par FISH et une RT-PCR ont été effectuées chez les patients qui avaient une translocation afin de confirmer les résultats des analyses cytogénétiques ou chez les patients présentant un caryotype normal avec morphologie révélatrice. Les résultats obtenus pour la translocation t(10;11) sont similaires à ceux de l'étude de Balgobind bien que non significatifs comparativement aux autres patients dont les données cytogénétiques avaient été obtenues, probablement en raison du faible nombre de patients ($N = 11$). Les auteurs affirment que les patients présentant la t(10;11) appartiennent au sous-groupe de patients avec réarrangement du gène *MLL* autre que t(9;11) et t(11;19) avec une SSE et une SG à 5 ans significativement inférieures comparativement au reste de la cohorte, les situant ainsi dans la catégorie à risque défavorable.

L'étude de Harrison et ses collaborateurs [2010] regroupe 729 enfants inclus dans deux essais cliniques menés par le Medical Research Council au Royaume-Uni au cours d'une période de 14 ans, soit AML 10 (1988 à 1995) et AML 12 (1994 à 2002). Cette étude avait pour objectif d'évaluer l'incidence et le risque associé à 22 sous-groupes d'anomalies chromosomiques. L'analyse cytogénétique a pu être complétée chez 633 patients et les anomalies chromosomiques courantes ont pu être analysées par FISH au cours des dernières années de l'étude. Les résultats de SSE (64 %) et de SG (64 %) à 10 ans obtenus pour la translocation t(10;11) sont supérieurs à ceux des deux études décrites ci-dessus mais sont non significatifs comparativement aux patients qui n'ont pas cette translocation. Globalement, les auteurs concluent que les réarrangements du gène *ML* confèrent un pronostic intermédiaire.

Translocation t(6;11) KMT2A-MLLT4

La valeur pronostique de la translocation t(6;11) KMT2A-MLLT4 serait le plus défavorable parmi les translocations *MLL* étudiées dans l'étude de cohorte de Balgobind et ses collaborateurs [2009], avec une SSE à 5 ans de 11 % $\pm$ 5 % et une SG à 5 ans de 22 % $\pm$ 7 %. De plus, comme pour la translocation t(10;11), l'analyse multivariée a révélé que la translocation t(6;11) est un indicateur indépendant de pronostic défavorable, avec un RRI associé à la SSE de 2,3 (IC95 1,5 - 3,4; $p < 0,001$) et un RRI associé à la SG de 2,5 (IC95 1,6 - 4,0; $p < 0,001$). Les auteurs concluent que la t(6;11) devrait être incluse dans la stratification du risque des patients pédiatriques atteints de LMA. Par ailleurs, l'étude de Von Neuhoff et ses collaborateurs [2010] portant sur 454 patients âgés de moins de 18 ans a montré que les 5 cas (1,1 %) présentant la translocation t(6;11) avaient survécu en moyenne 1,92 ans, corroborant ainsi l'impact pronostique défavorable observé dans l'étude de Balgobind.

Translocations t(11;19) KMT2A-ELL, t(11;19) KMT2A-MLLT1 (ENL) et t(11;17) KMT2A-LASP1

La valeur pronostique des translocations t(11;19) KMT2A-ELL, t(11;19) KMT2A-MLLT1 (ENL) et t(11;17) KMT2A-LASP1 a été rapportée par Balgobind et ses collaborateurs [2009] (tableau 2). Les résultats de SSE et de SG à 5 ans ne sont pas significativement différents de ceux des patients de la cohorte qui avaient une SSE à 5 ans de 44 % ± 2 % et une SG à 5 ans de 56 % ± 2 %. Contrairement aux translocations t(10;11) et t(6;11) discutées précédemment, le pronostic des patients n'est pas aggravé par la présence des translocations t(11;19) ou t(11;17). Aucune conclusion spécifique n'a été amenée par les auteurs relativement à ces trois translocations. La t(11;19) a toutefois été considérée à risque intermédiaire dans l'étude multicentrique AML-BFM 98 [Von Neuhoff *et al.*, 2010].

Translocation t(1;11) KMT2A-MLLT1 (AF1Q)

Concernant l'influence de la translocation t(1;11) KMT2A-MLLT1 (AF1Q) sur le pronostic des cas de LMA pédiatriques, Busson-Le Coniat et ses collaborateurs [1999] ont rapportés 6 cas dont 4 avaient été décrits antérieurement. Parmi ces 6 patients, 4 étaient âgés de 12 mois ou moins au moment du diagnostic. En moyenne 12,2 mois après l'atteinte d'une rémission complète, 5 patients avaient subi une récurrence et 1 patient était toujours en rémission complète 15 mois à la suite d'une autogreffe de moelle osseuse. Suite à une rémission complète d'une durée moyenne de 19 mois, 3 patients étaient décédés. L'étude de Balgobind et ses collaborateurs [2009], portant sur 756 cas de LMA dont 25 (3,3 %) avaient la translocation t(1;11) KMT2A-AF1Q, a démontré que cette translocation avait l'impact pronostique le plus favorable comparativement à l'ensemble des translocations étudiées, avec une SSE à 5 ans de 92 % ± 5 % (effet significatif en analyse multivariée) et une SG à 5 ans de 100 %. Les auteurs concluent que les patients présentant la t(1;11) KMT2A-AF1Q devraient être inclus dans le groupe à risque faible des protocoles de traitement.

Un cas de LMA congénitale avec t(1;11) KMT2A-MLLT1 (AF1Q) a récemment été décrit par Reynaert et ses collaborateurs [2014]. Le décès de ce nouveau-né est survenu à 16 jours de vie suivant 11 jours de chimiothérapie, de multiples complications et de défaillance de nombreux systèmes organiques. Selon les auteurs, cette translocation n'avait jamais été associée à la LMA congénitale. En absence de données chez les nouveau-nés et en raison des résultats de Balgobind et ses collaborateurs [2009] chez des enfants plus âgés (plus de 6 semaines au moment du diagnostic), le pronostic de cette translocation demeure incertain. Selon ces mêmes auteurs, plus de données sont requises pour déterminer si cette translocation est associée à un pronostic plus défavorable chez les nouveau-nés que chez les enfants plus âgés.

Translocation t(1;11) KMT2A-EPS15 (AF1P)

La valeur pronostique de la translocation t(1;11) KMT2A-EPS15 (AF1P)⁶ a également été très peu étudiée. Von Neuhoff et ses collaborateurs [2010] ont rapporté un cas présentant cette translocation parmi les 454 patients de la cohorte, pour lequel le décès est survenu précocement.

⁶ Cette translocation est principalement détectée dans les cas de leucémie des nourrissons (âgés de moins de 1 an) et est associée à une mauvaise réponse au traitement. Au cours des trois dernières années, deux patients présentant cette translocation ont été traités au CHU Ste-Justine (information transmise par le demandeur, Dre Sonia Cellot, communication téléphonique du 15 juillet 2016).

Tableau 2 Valeur pronostique associée aux translocations impliquant le gène *MLL* (*KMT2A*) dans les leucémies myéloïdes aiguës pédiatriques

ÉTUDE	N, DIAG.	PRÉVALENCE N (%)	SSE *	SG *
t(10;11)(p12;q23) KMT2A-MLLT10				
Balgobind <i>et al.</i> , 2009	756 LMA-MLL†	98 (13,0)	31 % RRI 1,5 (IC95 : 1,1 - 2,1) p = 0,004 (multivarié)	45 % RRI 1,9 (IC95 : 1,3 - 2,6) p < 0,001 (multivarié)
Von Neuhoff <i>et al.</i> , 2010	454 LMA	11 (2,4)	20 % c. 48 % (cohorte) p = NS	50 % c. 62 % (cohorte) p = NS
Harrison <i>et al.</i> , 2010	633 LMA	22 (3,5)	SSE 10 ans : 64 % RRI 0,70 (IC99 : 0,33 - 1,49)	SG 10 ans : 64 % RRI 0,85 (IC99 : 0,36 - 1,99)
t(6;11)(q27;q23) KMT2A-MLLT4				
Balgobind <i>et al.</i> , 2009	756 LMA-MLL†	35 (4,6)	11 % RRI 2,3 (IC95 : 1,5 - 3,4) p < 0,001 (multivarié)	22 % RRI 2,5 (IC95 : 1,6 - 4,0) p < 0,001 (multivarié)
t(11;19)(q23;p13.1) KMT2A-ELL				
Balgobind <i>et al.</i> , 2009	756 LMA-MLL†	34 (4,5)	46 % RRI 1,1 (IC95 : 0,7 - 1,8) p = 0,77 (multivarié, NS)	61 % RRI 0,9 (IC95 : 0,5 - 1,7) p = 0,83 (multivarié, NS)
t(11;19)(q23;p13.3) KMT2A-MLLT1 (ENL)				
Balgobind <i>et al.</i> , 2009	756 LMA-MLL†	25 (3,3)	46 % RRI 1,1 (IC95 : 0,6 - 1,9) p = 0,85 (multivarié, NS)	47 % RRI 1,5 (IC95 : 0,8 - 2,7) p = 0,17 (multivarié, NS)
t(11;17)(q23;q12-21) KMT2A-LASP1				
Balgobind <i>et al.</i> , 2009	756 LMA-MLL†	12 (1,6)	42 % RRI 1,0 (IC95 : 0,5 - 2,2) p = 0,94 (multivarié, NS)	67 % RRI 1 (IC95 : 0,4 - 2,6) p = 0,94 (multivarié, NS)
t(1;11)(q21;q23) KMT2A-MLLT11 (AF1Q)				
Busson-Le Coniat <i>et al.</i> , 1999	6 LMA §	s.o.	n.d.	moy. 19 mois après RÉM-C (3 cas)
Balgobind <i>et al.</i> , 2009	756 LMA-MLL†	25 (3,3)	92 % RRI 0,1 (IC95 : 0,0 - 0,6) p = 0,007 (multivarié)	100 %
Reynaert <i>et al.</i> , 2014	1 LMA	s.o.	n.d.	16 jours de vie
t(1;11)(p32;q23) KMT2A-EPS15 (AF1P)				
Von Neuhoff <i>et al.</i> , 2010	454 LMA	1 (0,2)	n.d.	Décès précoce ‡

Abréviations : diag. : diagnostic; IC95 : intervalle de confiance à 95 %; IC99 : intervalle de confiance à 99 %; LMA : leucémie myéloïde aiguë; moy. : moyenne; N : nombre de patients; n.d. : donnée non disponible; NS : non significatif; RÉM-C : rémission complète; RRI : rapport des risques instantanés (en anglais *Hazard ratio*); SG : survie globale (en anglais *overall survival*); s.o. : sans objet; SSE : survie sans événements (en anglais *event-free survival*).

* Les valeurs de SSE et de SG présentées sont à 5 ans sauf si indication contraire.

† Cette étude inclut 756 cas de LMA pédiatrique avec anomalie du chromosome 11q23 ou avec réarrangement du gène *MLL*.

‡ Les décès précoces incluent tous les décès ayant lieu avant ou au cours des 6 premières semaines de traitement.

§ Parmi ces 6 cas, 4 avaient été décrits précédemment.

Translocation t(9;11) KMT2A-MLLT3

Le pronostic des patients présentant la translocation t(9;11) KMT2A-MLLT3 ne fait pas consensus [Abildgaard *et al.*, 2013](tableau 3). Les quatre études consécutives du St-Jude Children's Research Hospital [Rubnitz *et al.*, 2002] et l'étude de la Nordic Society for Pediatric Haematology and Oncology (NOPHO)-AML93 [Lie *et al.*, 2003] ont rapporté que les patients qui avaient la translocation t(9;11) KMT2A-MLLT3 avaient un meilleur pronostic que les patients dont la translocation du gène *MLL* était associée à un gène partenaire différent. Par ailleurs, trois études n'ont rapporté aucun impact significatif de la translocation t(9;11) sur le pronostic des patients [Harrison *et al.*, 2010; Von Neuhoff *et al.*, 2010; Balgobind *et al.*, 2009]. Parmi les études n'ayant rapporté aucun impact significatif, les résultats ont montré que la présence d'anomalies cytogénétiques supplémentaires [Von Neuhoff *et al.*, 2010] avait un impact défavorable significatif sur la survie globale associée à la translocation t(9;11) et que le type leucémique FAB-M5 [Balgobind *et al.*, 2009] avait un impact favorable significatif sur le pronostic associé à la translocation t(9;11).

Les caractéristiques cytogénétiques et moléculaires de 295 nourrissons et enfants atteints de LMA ont été rapportées dans l'étude de Rubnitz et ses collaborateurs [2002] (tableau 3). Ces patients avaient été traités dans le cadre de quatre études cliniques consécutives menées par le St-Jude Children's Research Hospital de 1980 à 1997. Chez les patients présentant la translocation t(9;11), en majorité de type leucémique M5⁷ (91,3 %), la SSE à 5 ans était significativement supérieure à celle des autres sous-groupes cytogénétiques (64,9 % ± 11,1 %; $p = 0,003$) et à celle des patients ayant un autre réarrangement du gène *MLL* ou une anomalie du chromosome 11q23 (24,2 % ± 9,4 %; $p = 0,00075$). Considérant les 63 patients atteints de LMA de type M5 de cette cohorte, la SSE à 5 ans était également significativement supérieure chez les 21 patients chez qui la translocation t(9;11) avait été détectée (71,1 % ± 11 %) comparativement aux patients de type M5 qui en étaient dépourvus (25,8 % ± 7,9 %; $p = 0,0004$). Les auteurs ont conclu que la translocation t(9;11) avait un impact pronostique favorable chez les patients pédiatriques atteints de LMA.

Les résultats de l'étude NOPHO-AML93 constituée de 207 patients pédiatriques, présentés par Lie et ses collaborateurs [2003], ont également montré un impact pronostique favorable de la translocation t(9;11) comparativement aux autres groupes cytogénétiques (tableau 3). Les 16 patients (7,7 %) présentant la translocation t(9;11) avaient une SSE à 7 ans significativement supérieure (86 % ± 9 % c. 47 % ± 4 %; $p < 0,01$) et une SG à 7 ans de 94 % ± 6 %. Comparativement aux patients traités dans l'étude NOPHO-AML88, une diminution significative des décès précoces et une augmentation significative de la SG à 7 ans ont été observées en raison de l'administration d'un traitement individualisé selon la réponse initiale du patient.

L'étude rétrospective multicentrique de Balgobind et ses collaborateurs [2009] constituée de 328 patients porteurs de la translocation t(9;11) n'a pas confirmé l'issue favorable décrite précédemment dans de plus petites cohortes [Lie *et al.*, 2003; Rubnitz *et al.*, 2002] (tableau 3). Les résultats de SSE et de SG à 5 ans (50 % ± 3 % et 63 % ± 3 % respectivement) ne sont pas significativement différents de ceux des autres patients de la cohorte (44 % ± 2 % et 56 % ± 2 % respectivement). Il a été suggéré que la forte dose cumulative de

⁷ Selon la classification morphologique Franco Américano Britannique (FAB), on distingue 7 sous-groupes de leucémies myéloïdes aiguës, soit M0 à M7 [Bennett *et al.*, 1985]. La leucémie de type M5 ou leucémie monoblastique est caractérisée par la présence dans la moelle osseuse de plus de 80 % de cellules monocytaires (Hematocell.fr, Laboratoire d'hématologie du CHU d'Angers. Leucémies aiguës myéloïdes [site Web], disponible à : <http://hematocell.univ-angers.fr/index.php/enseignement-de-lhematologie-cellulaire/hematologie-et-pathologie-generale/28-leucemies-aigues-myeloides>).

cytarabine administrée dans les protocoles de la NOPHO et du St-Jude Children's Research Hospital aurait contribué à l'impact favorable observé mais cette association n'a pas pu être confirmée dans l'étude de Balgobind. En effet, dans les protocoles NOPHO seulement, les patients présentant la t(9;11) avaient une meilleure SSE à 5 ans que ceux qui avaient d'autres réarrangement du gène *MLL* ($77 \% \pm 8 \%$ c. $38 \% \pm 9 \%$, $p = 0,006$). Par ailleurs, le type cellulaire à l'origine de la leucémie, en l'occurrence le type M5 ou la leucémie aiguë monoblastique, souvent associé à la translocation t(9;11) [Harrison *et al.*, 2010; Balgobind *et al.*, 2009; Rubnitz *et al.*, 2002] aurait une influence significative sur le pronostic des patients.

Parmi les patients présentant la translocation t(9;11), ceux dont la LMA était de type M5 (81,2 %) avaient une SSE et une SG à 5 ans significativement plus élevées comparativement aux autres sous-types de LMA (tableau 3). De plus, l'analyse multivariée a effectivement confirmé que le type M5 en présence d'une t(9;11) est un facteur pronostique favorable indépendant pour la SSE et la SG (RRI = 0,4; $p < 0,001$). Cet impact favorable du type M5 observé chez les patients présentant la translocation t(9;11) est en accord avec les résultats de l'étude de Rubnitz et ses collaborateurs [2002] dans laquelle le type M5 était fréquemment associé à la t(9;11) (21 des 23 cas, soit 91,3 %). Les deux cas non-M5 sont décédés avant l'atteinte d'une rémission complète. Les auteurs affirment que l'impact favorable de la t(9;11) observé dans cette étude serait lié à la prévalence des patients atteints de LMA de type M5. Selon ces mêmes auteurs, puisque la translocation t(9;11) constitue un sous-groupe hétérogène, une stratification précise du risque peut être effectuée en tenant compte du type leucémique FAB.

L'étude rétrospective de Von Neuhoff et ses collaborateurs [2010] a démontré que les patients présentant la translocation t(9;11) avaient une SSE et une SG à 5 ans similaires à celles des autres patients de la cohorte pour lesquels la SSE était de $48 \pm 2 \%$ et la SG de $62 \pm 2 \%$. Par contre, lorsque des anomalies cytogénétiques supplémentaires à la t(9;11) étaient détectées, la SG à 5 ans était significativement inférieure comparativement aux autres patients de la cohorte ($30 \% \pm 14 \%$; $p = 0,042$) contrairement à la SSE à 5 ans pour laquelle aucune différence significative n'a été observée ($31 \% \pm 14 \%$; $p = 0,23$). Selon les auteurs, les patients présentant la t(9;11) sans anomalies supplémentaires appartiennent à la catégorie de risque intermédiaire puisque leur SSE et SG étaient, contrairement aux patients présentant d'autres réarrangements du gène *MLL*, comparables à celles des autres patients. Par ailleurs, les patients présentant la t(9;11) avec anomalies supplémentaires appartiennent à la catégorie de risque élevé, au même titre que ceux qui ont un caryotype complexe⁸.

Dans l'étude prospective de Harrison et ses collaborateurs [2010] décrite précédemment, les patients présentant la t(9;11) n'étaient pas plus à risque que les autres patients de la cohorte en termes de SSE et de SG à 10 ans (62 % et 68 % respectivement). Selon les auteurs, bien que la majorité des patients (77,5 %) chez qui on avait détecté la t(9;11) était de type leucémique M5, l'association entre l'impact favorable du type M5 et cette translocation qui avait été observée dans les études antérieures [Balgobind *et al.*, 2009; Rubnitz *et al.*, 2002] n'a pas pu être vérifiée en raison du faible nombre de patients non-M5 (9 des 40 patients dont le type FAB était connu).

⁸ Trois anomalies ou plus, au moins une anomalie de structure, sans cytogénétique favorable ni réarrangement du gène *MLL* [Von Neuhoff *et al.*, 2010].

Tableau 3 Valeur pronostique associée à la translocation t(9;11)(p22;q23) KMT2A-MLLT3 dans les leucémies myéloïdes aiguës pédiatriques

ÉTUDE	N, DIAG.	PRÉVALENCE t(9;11) N (%)	TYPE FAB (%)	SSE *	SG *
Rubnitz <i>et al.</i> , 2002	295 LMA	23 (7,8)	Cohorte : M4 (17) M5 (21) M7 (7) t(9;11) : M5 (91,3)	t(9;11) : 64,9 % p = 0,003 c. autres s-gr. M5-t(9;11) c. M5 sans t(9;11) : 71,1 % c. 25,8 %; p = 0,0004	n.d.
Lie <i>et al.</i> , 2003	207 LMA	16 (7,7)	Cohorte : M4 (20) M5 (20) M7 (6)	SSE 7 ans : 86 % c. 47 % p < 0,01	SG 7 ans : 94 % ± 6 %
Balgobind <i>et al.</i> , 2009	756 LMA- MLL†	328 (43,4)	Cohorte : M4 (19) M5 (64) M7 (2,8) t(9;11) : M5 (81,2)	t(9;11) : 50 % c. 44 %; p = NS M5 t(9;11) c. non-M5 t(9;11) : 59 % c. 31 %; p = 0,002	t(9;11) : 63 % c. 56 %; p = NS M5 t(9;11) c. non-M5 t(9;11) : 70 % c. 40 %; p = 0,001
Von Neuhoff <i>et al.</i> , 2010	454 LMA	t(9;11) : 32 (7) t(9;11) + AS : 13 (2,9)	s-gr. r-MLL : M4 (17) M5 (67) M7 (2)	t(9;11) : 42 % c. 48 % (cohorte); p = NS t(9;11) + AS : 31 % c. 48 % (cohorte); p = NS	t(9;11) : 51 % c 62 %. (cohorte); p = NS t(9;11) + AS : 30 % c. 62 % (cohorte); p = 0,042
Harrison <i>et al.</i> , 2010	633 LMA	47 (7,4)	t(9;11) : M5 (77,5)‡	SSE 10 ans : 62 % RRI 0,89 (IC99 : 0,39 - 2,04) p = NS	SG 10 ans : 68 % RRI 0,70 (IC99 : 0,30 - 1,66) p = NS

Abréviations : AS : anomalie cytogénétique supplémentaire; diag. : diagnostic; M4: leucémie de type M4 selon la classification FAB (Franco Américano Britannique); M5: leucémie de type M5 selon la classification FAB (Franco Américano Britannique); M7: leucémie de type M7 selon la classification FAB (Franco Américano Britannique); IC99 : intervalle de confiance à 99 %; LMA : leucémie myéloïde aiguë; N : nombre de patients; n.d. : donnée non disponible; NS : non significatif; r-MLL : réarrangement du gène *MLL*; RRI : rapport des risques instantanés (en anglais *Hazard ratio*); SG : survie globale (en anglais *overall survival*); s-gr. : sous-groupe; SSE : survie sans événements (en anglais *event-free survival*)

* Les valeurs de SSE et de SG présentées sont à 5 ans sauf si indication contraire.

† Cette étude inclut 756 cas de LMA pédiatrique avec anomalie du chromosome 11q23 ou avec réarrangement du gène *MLL*.

‡ La proportion de patients ayant une leucémie de type M5 et présentant la translocation t(9;11) a été calculée sur 40 patients dont le type FAB était connu (31 sur 40, soit 77,5 %).

En résumé, les translocations impliquant le gène *MLL* sont historiquement associées à un pronostic défavorable chez les patients pédiatriques atteints de LMA [Ney Garcia *et al.*, 2016; Meyer *et al.*, 2013; Burmeister *et al.*, 2012]. Toutefois, l'impact pronostique varie selon le gène partenaire impliqué. Selon les études retenues pour la présente évaluation, deux translocations ont été rapportées comme étant des indicateurs indépendants de pronostic défavorable [t(6;11), t(10;11)] et trois n'ont montré aucun impact significatif sur le pronostic des patients [t(11;19) ELL, t(11;19) ENL, t(11;17)]. Par ailleurs, l'impact pronostique de la translocation t(1;11) pour les fusions impliquant les gènes *AF1P* et *AF1Q* est très peu documenté et s'avère incertain. Finalement, l'impact pronostique de la translocation t(9;11) ne semble pas faire consensus, bien qu'associée à la catégorie de risque intermédiaire selon l'European LeukemiaNet (ELN) et le National Comprehensive Cancer Network (NCCN). Deux études ont rapporté un impact pronostique favorable et trois études n'ont rapporté aucun impact significatif pour cette translocation. Toutefois, il a été

démontré que le type leucémique M5 avait un impact significativement favorable chez les patients présentant la t(9;11), mais que la présence d'anomalies cytogénétiques supplémentaires altérait significativement le pronostic.

4.2.2 Translocations n'impliquant pas le gène *MLL* (*KMT2A*)

L'impact pronostique des trois translocations n'impliquant pas le gène *MLL* incluses dans le panel proposé par le centre demandeur est présenté au tableau 4.

Translocation t(5;11) NUP98-NSD1

La t(5;11) est issue de la fusion des gènes *NUP98* et *NSD1*, tous deux situés dans la région télomérique des chromosomes 11 et 5 respectivement [Ostronoff *et al.*, 2014], ce qui en fait une translocation dite cryptique⁹ souvent présente chez les patients atteints de LMA à caryotype normal [Hollink *et al.*, 2011]. Deux études de cohorte portant sur l'impact pronostique de cette translocation ont été retenues [Ostronoff *et al.*, 2014; Hollink *et al.*, 2011]. La présence concomitante fréquente d'une mutation du gène *FLT3* (duplication interne en tandem du gène *FLT3* ou *FLT3*-ITD¹⁰) [Akiki *et al.*, 2013] a été évaluée relativement à sa contribution au pronostic de la translocation t(5;11) (tableau 4).

L'étude de Hollink et ses collaborateurs [2011] avait pour objectif de déterminer la fréquence et l'impact pronostique de la translocation t(5;11) dans une cohorte de 313 patients pédiatriques atteints de LMA (tableau 4). Parmi ceux-ci, 12 (3,8 %) avaient la t(5;11) dont 11 en cooccurrence avec la mutation *FLT3*-ITD. Les résultats ont révélé que les patients qui présentaient à la fois la t(5;11) et la mutation *FLT3*-ITD, avaient une SSE et une SG à 4 ans significativement plus faibles comparativement aux patients qui présentaient uniquement la mutation du gène *FLT3*. Les auteurs ont conclu que la détection de routine de la translocation t(5;11) sera essentielle afin de repérer et classer adéquatement ce groupe de patients dont le pronostic est défavorable.

L'étude d'Ostronoff et ses collaborateurs [2014], bien que non strictement pédiatrique, avait pour objectif d'évaluer la signification pronostique de la translocation t(5;11) dans un contexte de mutation *FLT3*-ITD et ainsi déterminer si l'impact pronostique défavorable rapporté dans la littérature était associé à la t(5;11) ou à la cooccurrence t(5;11) / *FLT3*-ITD (tableau 4). Un total de 461 patients (âgés de 0 à 30 ans) atteints de LMA ont été traités selon un des 4 protocoles de LMA pédiatriques suivants : CCG-2941/2961, COG-AAML03P1 (patients âgés de 21 ans et moins) et COG-AAML0531 (patients âgés de 30 ans et moins). Parmi ceux-ci, 54 patients présentaient la translocation t(5;11) dont 32 avec la présence concomitante de *FLT3*-ITD. Les résultats d'analyse multivariée ont montré que la présence concomitante de *FLT3*-ITD et de la t(5;11) était un indicateur pronostique défavorable indépendant comparativement à la seule présence de *FLT3*-ITD (tableau 4). Par contre, la t(5;11) en absence de *FLT3*-ITD perd sa signification pronostique en terme de SSE et de SG à 3 ans. Les résultats ont également montré que la cooccurrence de ces deux anomalies génétiques est associée à un risque très élevé d'échec à la chimiothérapie d'induction. En effet, une plus faible proportion de patients (27 %) ont atteint une rémission complète comparativement à ceux qui n'avaient pas la t(5;11) (69 %, $p < 0,001$). Ainsi, les auteurs

⁹ Une translocation cryptique est une anomalie chromosomique non détectable par l'analyse classique du caryotype [De Rooij *et al.*, 2013]. Des techniques moléculaires supplémentaires sont requises afin de détecter ce type d'anomalie [Ostronoff *et al.*, 2014; Hollink *et al.*, 2011].

¹⁰ La duplication interne en tandem du gène *FLT3* (*FLT3*-ITD) est une des mutations somatiques les plus communes dans les cas de LMA, présente chez 12 % des cas pédiatriques. Elle est associée à un pronostic défavorable (diminution de la survie et augmentation de la fréquence de récurrence) [Meshinchi *et al.*, 2006].

concluent qu'un protocole de traitement différent devrait être considéré en première intention pour ces patients étant donné leur faible réponse.

Translocation t(6;9) DEK-NUP214

La translocation t(6;9) DEK-NUP214 est présente chez moins de 2 % des cas de LMA pédiatrique (tableau 4) et est fréquemment associée à la présence de la mutation *FLT3*-ITD. Cette mutation est présente dans environ 10 % des cas de LMA pédiatrique et jusqu'à 70 % des cas t(6;9) positifs [Slovak *et al.*, 2006]. Une étude de cohorte prospective [Harrison *et al.*, 2010] et trois études rétrospectives [Sandahl *et al.*, 2014; Tarlock *et al.*, 2014; Slovak *et al.*, 2006] ont été retenues relativement à l'impact pronostique de la translocation t(6;9) chez des patients pédiatriques atteints de LMA.

Dans l'étude prospective de Harrison et ses collaborateurs [2010] décrite précédemment, un pronostic défavorable a été observé chez les 10 patients présentant la t(6;9). Ces patients avaient une SSE à 10 ans significativement inférieure à celle des autres patients de la cohorte. Par contre, ils n'étaient pas plus à risque que les autres patients de la cohorte en termes de survie globale (SG à 10 ans de 50 %). Considérant les résultats obtenus, les investigateurs de cette étude envisagent de modifier le traitement des patients qui ont la translocation t(6;9).

L'étude rétrospective de Slovak et ses collaborateurs [Slovak *et al.*, 2006] a permis d'effectuer l'analyse des données de 4 groupes de recherche (SWOG, CALBG, ECOG, COG) recueillies de 1987 à 2002 afin de pallier la rareté de cette translocation. Cette étude a ainsi porté sur 2 236 patients pédiatriques dont 31 (1,4 %) avaient la t(6;9) avec ou sans anomalie génétique supplémentaire. La proportion de patients en vie à 5 ans postdiagnostic était de 28 %, avec une survie globale médiane de 12,5 mois (IC95 % 8,2 à 19,5).

Une étude de cohorte rétrospective multicentrique a également permis d'associer un pronostic défavorable à la translocation t(6;9) [Sandahl *et al.*, 2014]. Cette étude portant sur 7 363 patients pédiatriques atteints de LMA avait pour objectif d'étudier les caractéristiques cliniques des 54 patients qui présentaient la t(6;9) ainsi que les caractéristiques génétiques et morphologiques tumorales. Une SSE et une SG à 5 ans de 28 % et 50 % respectivement ont été observées. De plus, la présence de la mutation *FLT3*-ITD avait eu un impact négatif mais non significatif sur ces deux paramètres.

Des résultats similaires ont été obtenus dans l'étude rétrospective de Tarlock et ses collaborateurs [2014] menée par le Children's Oncology Group. Les résultats de 6 études cliniques (1988-2010) incluant 3 790 patients pédiatriques dont 2 839 avec données cytogénétiques complètes ont été inclus dans cette analyse. La SG à 5 ans était significativement inférieure à celle des patients qui n'avaient pas cette translocation (39 % ± 15 % et 57 % ± 2 % respectivement, $p = 0,03$), et ce indépendamment de la présence de la mutation *FLT3*-ITD. Les auteurs concluent que les patients présentant la t(6;9) devraient être considérés à risque élevé d'échec de traitement et pourraient tirer avantage d'une greffe de cellules souches en première rémission complète.

Translocation t(10;11) PICALM-MLLT10

La translocation t(10;11) PICALM-MLLT10 est présente chez 0,3 % à 2 % de tous les cas de LMA selon l'âge [Borel *et al.*, 2012]. Bien que plus fréquemment associée à la leucémie lymphoïde aiguë à lymphocytes T (LLA-T), on la retrouve également dans les cas de leucémie aiguë peu différenciée (type FAB M0 et M1) et de LMA [Borel *et al.*, 2010; Savage *et al.*, 2010]. Ce type de leucémie est caractérisée par un phénotype mixte (multilignée) avec

expression aberrante des marqueurs de différenciation (marqueurs CD, de l'anglais *cluster of differentiation*), une morphologie cellulaire immature, ainsi qu'une présentation clinique mixte souvent accompagnée d'une masse médiastinale [Savage *et al.*, 2010].

Les cas de leucémie aiguë présentant le gène de fusion PICALM-MLLT10 sont principalement rapportés dans des études de cas. Ces études n'ont pas été retenues en raison de leur faible niveau de preuve et du manque d'informations pronostiques. Par ailleurs, deux études portant sur un plus grand nombre de patients ont aussi été retenues [Borel *et al.*, 2012; Kumon *et al.*, 1999].

L'étude cas-témoin de Borel et ses collaborateurs [2012] comportait 18 patients atteints de LMA et présentant la translocation t(10;11) PICALM-MLLT10. Ces patients, en majorité de type leucémique FAB M0, M1 ou M2, étaient âgés de 15 ans à 77 ans (médiane 27,5 ans). Cette étude avait pour objectif d'évaluer et de comparer les caractéristiques cliniques et le pronostic de ces patients à ceux d'une cohorte témoin appariée selon l'âge, constituée de 72 patients recrutés au cours de la même période (tableau 4). La SSE et la SG à 2 ans était de 39 % et 36 % respectivement, mais non significative comparativement au groupe témoin sans t(10;11).

L'étude de Kumon et ses collaborateurs [1999] portait sur l'évaluation du pronostic et des caractéristiques cliniques de 11 patients présentant la translocation t(10;11) PICALM-MLLT10. Parmi ces patients, 4 étaient âgés de moins de 18 ans, 6 étaient atteints de LMA, 4 de LLA et un de sarcome granulocytique. Le décès des patients est survenu après quelques mois à la suite de l'absence de réponse au traitement, d'une rémission partielle ou d'une récurrence.

Tableau 4 Valeur pronostique de translocations n'impliquant pas le gène *MLL* dans les leucémies myéloïdes aiguës pédiatriques

ÉTUDE	N, DIAG.	PRÉVALENCE N (%)	SSE *	SG *
t(5;11)(q35;p15.5) NUP98-NSD1				
Hollink <i>et al.</i> , 2011	313 LMA	t(5;11) : 1 (0,3) FLT3-ITD : 41 (13,1) t(5;11) et FLT3-ITD : 11 (3,5)	SSE 4 ans : <u>t(5;11) et FLT3-ITD</u> 9 % c. 46 % FLT3-ITD seul p < 0,001	SG 4 ans : <u>t(5;11) et FLT3-ITD</u> 20 % c. 56 % FLT3-ITD seul p = 0,006
Ostronoff <i>et al.</i> , 2014	461 LMA	t(5;11) : 22 (4,8) FLT3-ITD : 162 (35,1) t(5;11) et FLT3-ITD : 32 (6,9)	SSE 3 ans : † <u>t(5;11)</u> : RRI 1,16 (IC95 : 0,42 - 3,22) p = NS c. DN‡ (multivarié) <u>FLT3-ITD</u> : RRI 1,43 (IC95 : 1,07 - 1,91) p = 0,015 c. DN‡ (multivarié) <u>t(5;11) et FLT3-ITD</u> : RRI 2,34 (IC95 : 1,45 - 3,78) p < 0,001 c. DN‡ (multivarié)	SG 3 ans : † <u>t(5;11)</u> : RRI 0,34 (IC95 : 0,05 - 2,5) p = NS c. DN‡ (multivarié) <u>FLT3-ITD</u> : RRI 1,39 (IC95 : 0,99 - 1,95) p = 0,055 c. DN‡ (multivarié) <u>t(5;11) et FLT3-ITD</u> : RRI 2,05 (IC95 : 1,19 - 3,53) p = 0,01 c. DN‡ (multivarié)
t(6;9)(p23;q34) DEK-NUP214				
Harrison <i>et al.</i> , 2010	633 LMA	10 (1,6)	SSE 10 ans : 10 % RRI 3,38 (IC99 : 1,00 - 11,49) p = 0,01 c. sans t(6;9)	SG 10 ans : 50 % c. 59 % RRI 1,49 (IC99 : 0,43 - 5,21) p = NS
Slovak <i>et al.</i> , 2006	2236 LMA	t(6;9) : 27 (1,2) t(6;9) + AS : 4 (0,2)	n.d.	28 % (IC95 : 12 - 44)
Sandahl <i>et al.</i> , 2014	7363 LMA	54 (0,7)	28 % c. 37 % avec AS p = NS	50 % c. 55 % avec AS p = NS
Tarlock <i>et al.</i> , 2014	2839 LMA	48 (1,7)	32 % c. 45 % sans t(6;9) p = NS	39 % c. 57 % sans t(6;9) p = 0,03
t(10;11)(p13;q14-21) PICALM-MLLT10				
Borel <i>et al.</i> , 2012	18 LMA t(10;11)	s.o.	SSE 2 ans : 39 % (IC95 : 13 - 65) c. 46 % (IC95 : 32 - 60) p = NS	SG 2 ans : 36 % (IC95 : 15 - 58) c. 47 % (IC95 : 35-58) p = NS

Abréviations : AS : anomalie supplémentaire; diag. : diagnostic; DN: double négatif; IC95 : intervalle de confiance à 95 %; IC99 : intervalle de confiance à 99 %; LMA : leucémie myéloïde aiguë; N : nombre de patients; n.d. : donnée non disponible; nég.: négatif; NS : non significatif; RRI : rapport des risques instantanés (en anglais *Hazard ratio*); SG : survie globale (en anglais *overall survival*); s.o. : sans objet; SSE : survie sans événements (en anglais *event-free survival*)

* Les valeurs de SSE et de SG présentées sont à 5 ans sauf si indication contraire.

† Les résultats d'analyse multivariée sont basés sur l'ensemble de la cohorte incluant des patients de plus de 18 ans ainsi que les patients adultes de l'étude S0106 du SWOG (âgés de 18 ans à 60 ans). Parmi ces patients, 4 (2,5 %) avaient la t(5;11), 54 (34,0 %) avaient la mutation FLT3-ITD et 5 (3,1 %) avaient la t(5;11) et FLT3-ITD.

‡ Les doubles négatifs (DN) sont les cas sans t(5;11) et sans FLT3-ITD (N = 245).

En résumé, un impact pronostique défavorable est associé aux translocations t(5;11) NUP98-NSD1, t(6;9) DEK-NUP214 et t(10;11) PICALM-MLLT10. La présence de la mutation *FLT3*-ITD est fréquente chez les patients qui ont la t(5;11) ou la t(6;9). Concernant la t(5;11), le pronostic associé à sa cooccurrence avec la mutation *FLT3*-ITD est pire que celui associé à la mutation *FLT3*-ITD seule. Selon une des deux études retenues [Ostronoff *et al.*, 2014], cet impact pronostique défavorable serait dû à la cooccurrence des deux anomalies et non à la t(5;11). Contrairement à la t(5;11), la mutation *FLT3*-ITD n'aurait pas d'impact significatif sur le pronostic des patients présentant la t(6;9). Par ailleurs, l'impact pronostique défavorable de la translocation t(10;11) PICALM-MLLT10 rapporté dans une étude de cohorte n'est toutefois pas significativement différent comparativement au groupe témoin.

4.2.3 Translocations associées à la LMCA

La valeur pronostique des trois translocations du panel proposé associées à la LMCA est présentée au tableau 5. Deux études de cohorte dont une rétrospective portant, entre autres, sur la valeur pronostique des trois translocations du panel LMCA ont été retenues [De Rooij *et al.*, 2016; De Rooij *et al.*, 2013]. De plus, deux études de cohorte portant sur l'inv(16) CBFA2T3-GLIS2 [Masetti *et al.*, 2013; Gruber *et al.*, 2012] et deux études portant sur la translocation t(1;22) RMB15-MKL1 [Inaba *et al.*, 2015; Schweitzer *et al.*, 2015] ont également été retenues.

Inversion du chromosome 16, inv(16) CBFA2T3-GLIS2

La valeur pronostique de l'inv(16) CBFA2T3-GLIS2 a été étudiée par Gruber et ses collaborateurs [2012] dans une cohorte de 48 patients pédiatriques atteints de LMCA sans syndrome de Down. L'objectif de cette étude était de définir la gamme de mutations associées à la LMCA et d'en évaluer les conséquences fonctionnelles et pronostiques. Les données de survie étaient accessibles chez 40 de ces patients. Bien que ceux-ci aient été traités dans divers établissements selon des protocoles variés, la présence de l'inv(16) CBFA2T3-GLIS2 a permis de révéler que ces patients avaient une SG à 5 ans significativement inférieure à celle des patients qui n'avaient pas l'inv(16) (28,1 % c. 41,9 %, $p = 0,05$) constituant ainsi, selon les auteurs, un sous-type agressif de LMCA.

L'étude de Masetti et ses collaborateurs [2013] avait pour objectif de détecter les mutations somatiques et les réarrangements génomiques chez 7 patients pédiatriques atteints de LMA à caryotype normal (LMA-CN) et de valider les résultats obtenus dans une cohorte de 230 patients. Parmi les 20 patients qui présentaient l'inv(16), la moitié étaient de type FAB-M7 et donc atteints de LMCA. Une influence défavorable de l'inv(16) CBFA2T3-GLIS2 sur le pronostic de ces patients a également été observée. La SSE à 5 ans de ces 20 patients (27,4 % $\pm$ 10,5 %) était significativement inférieure à celle des 217 patients qui n'avaient pas l'inv(16) (59,6 % $\pm$ 3,6 %, $p = 0,01$). Une différence significative similaire en termes de SSE à 5 ans a aussi été observée en comparant les patients de type M7 avec ou sans inv(16) ou en comparant les patients non-M7 avec ou sans inv(16). Par contre, aucune différence significative n'a été observée pour la SSE entre les patients de type M7 et non-M7 en présence de l'inv(16), suggérant que le type leucémique FAB n'avait pas d'influence sur le pronostic. Les auteurs concluent que le gène de fusion CBFA2T3-GLIS2, associé à un pronostic défavorable, serait caractéristique de la LMA-CN mais non restreint au sous-type M7.

L'étude de De Rooij et ses collaborateurs [2013] portait sur 105 patients pédiatriques atteints de LMCA sans syndrome de Down. Elle avait pour objectif d'analyser la fréquence ainsi que la pertinence pronostique de certaines anomalies génétiques dont l'inv(16) CBFA2T3-GLIS2, la t(11;12) NUP98-KDM5A et la t(1;22) RMB15-MKL1. Les analyses de survie ont été réalisées à partir d'un sous-groupe de 73 patients représentatifs de l'ensemble de la cohorte. Concernant l'inv(16) CBFA2T3-GLIS2, présente chez 13 (12,4 %) patients, la SSE et la SG à 5 ans étaient de 19 % $\pm$ 16 % et 35 % $\pm$ 20 % respectivement, sans différence significative comparativement aux patients qui ne présentaient pas cette anomalie. Les auteurs concluent que ces résultats sont représentatifs de la LMCA pédiatrique puisqu'ils sont comparables à ceux du groupe de recherche AML-BFM, et ce, malgré les diverses provenances des échantillons en raison des difficultés de prélèvement de la moelle osseuse.

L'objectif de l'étude rétrospective de De Rooij et ses collaborateurs [2016] était d'évaluer si les translocations t(11;12) NUP98-KDM5A, t(1;22) RMB15-MKL1, inv(16) CBFA2T3-GLIS2, les réarrangements du gène *MLL* (R-MLL) et la monosomie 7 pouvaient être utilisés pour la stratification du risque. L'évaluation de la fréquence et de la valeur pronostique de ces translocations a été réalisée chez 153 patients atteints de LMCA. La SSE et la SG à 4 ans des 24 patients qui avaient l'inv(16) CBFA2T3-GLIS2 étaient de 33 % $\pm$ 10 % et 38 % $\pm$ 10 %, respectivement. De plus, l'analyse multivariée combinant la t(11;12) NUP98-KDM5A, l'inv(16), les R-MLL et la monosomie 7 a révélé que la présence de l'une ou l'autre de ces anomalies constituait un indicateur pronostique défavorable indépendant pour la SSE (RRI 1,69; IC à 95 % 1,04 - 2,76; p = 0,035) et la SG (RRI 2,33; IC à 95 % 1,36 - 3,99; p = 0,002) comparativement à la t(1;22) RMB15-MKL1 ou à la LMCA sans ces anomalies. Les auteurs concluent que ces anomalies, dont l'inv(16), peuvent être considérées pour la stratification du risque et l'individualisation du traitement des patients pédiatriques atteints de LMCA.

Translocation t(11;12) NUP98-KDM5A

Les deux études de De Rooij décrites précédemment [2016; 2013] ont également rapporté un impact pronostique défavorable associé à la translocation t(11;12) NUP98-KDM5A (tableau 5). Avec une SSE et une SG inférieures à 40 % et les résultats de l'analyse multivariée, les auteurs suggèrent que les patients pédiatriques atteints de LMCA qui présentent la t(11;12) NUP98-KDM5A, l'inv(16) CBFA2T3-GLIS2, des R-MLL ou la monosomie 7 soient considérés à risque élevé, tandis que ceux qui présentent la t(1;22) RMB15-MKL1 soient considérés à risque standard [De Rooij *et al.*, 2016].

Translocation t(1;22) RMB15-MKL1

Comparativement aux deux autres translocations associées à la LMCA, les deux études de De Rooij décrites précédemment [2016; 2013] ont rapporté un pronostic plus favorable pour la t(1;22) (tableau 5).

Les résultats de l'étude de De Rooij et ses collaborateurs [2013] ont révélé que les patients qui avaient la t(1;22) bénéficiaient d'une SSE et d'une SG à 5 ans significativement plus élevées qu'en absence de t(1;22). Parmi les 11 patients présentant la t(1;22) et dont l'information était accessible, aucun n'a subi de récurrence et deux décès sont survenus. Étant donné le jeune âge des patients, une analyse multivariée a été réalisée en incluant l'âge au diagnostic et le compte leucocytaire comme covariables. Les auteurs n'ont pas été en mesure de confirmer la t(1;22) comme étant un indicateur pronostique indépendant, pour la SG ou la SSE, probablement en raison du faible nombre de patients. Ils concluent qu'à l'exception des patients qui présentaient la translocation t(1;22), le pronostic des patients atteints de LMCA sans syndrome de Down est généralement défavorable.

L'étude plus récente de De Rooij et ses collaborateurs [2016] a également montré que le pronostic des patients qui avaient la t(1;22) était significativement plus favorable avec une SG à 4 ans de 70 % $\pm$ 11 % ($p = 0,0036$) comparativement à celui des patients qui avaient la t(11;12) (36 % $\pm$ 13 %), l'inv(16) (38 % $\pm$ 10 %) ou un R-MLL (33 % $\pm$ 13 %). Une tendance similaire ($p = 0,06$) a par ailleurs été observée pour la SSE à 4 ans. Les auteurs affirment que cette différence pronostique serait liée à la grande proportion de patients, soit 31 sur les 52 (60 %) présentant l'une de ces 3 anomalies, qui avaient subi une récurrence ou n'avaient pas atteint de rémission complète. Par ailleurs, parmi les 18 patients qui présentaient la t(1;22), un est décédé précocement, 2 décès étaient liés au traitement et 2 décès étaient liés à la progression de la leucémie.

L'étude rétrospective d'Inaba et ses collaborateurs [2015] avait pour but d'analyser les caractéristiques cliniques et les paramètres de survie de 490 patients atteints de LMCA sans syndrome de Down, dont 372 avec données cytogénétiques complètes. Le pronostic favorable associé à cette translocation rapporté dans une étude antérieure [De Rooij *et al.*, 2013] n'a pas été observé dans cette étude (tableau 5). Selon les auteurs, ces résultats pourraient être attribués au nombre élevé de décès précoces¹¹ chez les patients qui avaient la t(1;22) équilibrée¹². Parmi les 246 décès survenus dans cette cohorte, 12 étaient des décès précoces dont 5 avaient la translocation t(1;22). Les auteurs mentionnent que des soins de soutien adéquats sont requis afin de prévenir les décès précoces [Creutzig *et al.*, 2004] spécialement pour les patients présentant la t(1;22) en raison de leur très jeune âge. Aucune conclusion spécifique n'a par ailleurs été dégagée par les auteurs relativement à cette translocation.

L'étude de Schweitzer et ses collaborateurs [2015] regroupait 97 patients atteints de LMCA sans syndrome de Down (dont 78 avec données cytogénétiques) traités au cours de deux études multicentriques consécutives : AML-BFM 98 (1998 - 2003, N = 37) et AML-BFM 04 (2004 - 2014, N = 60). Cette étude avait pour objectif de comparer les données de survie en lien avec les protocoles de traitement et de définir la valeur pronostique de certains sous-groupes cytogénétiques, en l'occurrence la translocation t(1;22). La SSE à 5 ans des 8 patients qui avaient la t(1;22) était significativement inférieure à celle des patients de la cohorte qui en étaient dépourvus (38 % $\pm$ 17 % c. 53 % $\pm$ 6 %, $p = 0,039$). Bien que cet impact n'ait pas été confirmé en analyse multivariée, les auteurs ont attribué ce résultat au faible nombre de patients et à la proportion élevée d'absence de réponse ou de réponse partielle au traitement d'induction (13,4 %). Selon les auteurs, le rôle de la t(1;22) en tant qu'indicateur pronostique favorable est remis en question.

¹¹ Dans cette étude, un décès précoce est défini comme étant un décès survenant en-dehors de 30 jours suivant le diagnostic [Inaba *et al.*, 2015].

¹² Une translocation chromosomique consiste en l'échange de matériel entre deux chromosomes non homologues après cassure sur chacun des chromosomes impliqués. Si cet échange s'accompagne d'une perte de matériel génétique, il est déséquilibré, sinon la translocation est dite équilibrée (Cochin virtuel, Faculté de médecine Paris Descartes. Les principales anomalies chromosomiques et leurs conséquences cliniques [site Web], disponible à : <http://cvirtuel.cochin.univ-paris5.fr/cytogen/2-1.htm> (consulté le 26 août 2016)).

Tableau 5 Valeur pronostique associée aux translocations t(11;12)(p15;p13) NUP98-KDM5A, inv(16)(p13.3;q24.3) CBFA2T3-GLIS2 et t(1;22)(p13;q33) RMB15-MKL1 chez les patients pédiatriques atteints de LMCA

ÉTUDE	N, DIAG.	PRÉVALENCE N (%)	SSE *	SG *
inv(16)(p13.3;q24.3) CBFA2T3-GLIS2				
Gruber <i>et al.</i> , 2012	48 LMCA	13 (27,1)	n.d.	28,1 % c. 41,9 % cas nég. p = 0,05
Masetti <i>et al.</i> , 2013	237 LMA-CN	20 (8,4) dont 10 FAB-M7	27,4 % c. 59,6 % cas nég. p = 0,01	n.d.
De Rooij <i>et al.</i> , 2013	105 LMCA	13 (12,4)	19 % c. 34 % cas. nég. p = NS	35 % c. 42 % cas nég. p = NS
De Rooij <i>et al.</i> , 2016	153 LMCA	24 (16)	SSE 4 ans : 33 %	SG 4 ans : 38 % c. 66 % cas nég.
t(11;12)(p15;p13) NUP98-KDM5A				
De Rooij <i>et al.</i> , 2013	105 LMCA	11 (10,5)	22 % c. 36 % cas nég. p = NS	22 % c. 45 % p = NS
De Rooij <i>et al.</i> , 2016	153 LMCA	14 (9)	SSE 4 ans : 36 %	SG 4 ans : 36 % c. 66 % cas nég.
t(1;22)(p13;q33) RMB15-MKL1				
De Rooij <i>et al.</i> , 2013	105 LMCA	16 (15,2)	73 % c. 27 % cas nég. p = 0,039 (N = 11) RRI 0,40 (IC95 : 0,12 – 1,37) p = NS (multivarié)	82 % c. 36 % cas nég. p = 0,043 (N = 11) RRI 0,31 (IC95 : 0,07 – 1,36) p = NS (multivarié)
De Rooij <i>et al.</i> , 2016	153 LMCA	18 (12)	SSE 4 ans : 65 %	SG 4 ans : 70 % c. 66 % cas nég.
Inaba <i>et al.</i> , 2015	372 LMCA sans SD	51 (13,7)	54,5 % p = NS c. autres s-gr.	58,2 % p = NS c. autres s-gr.
Schweitzer <i>et al.</i> , 2015	78 LMCA	8 (10,3)	38 % c. 53 % cas nég. p = 0,039	63 % p = NS c. cas nég.

Abréviations : diag. : diagnostic; LMA-CN: leucémie myéloïde aiguë à caryotype normal; LMCA : leucémie mégacaryoblastique; N : nombre de patients; n.d. : donnée non disponible; nég.: négatif; NS : non significatif; SD: syndrome de Down; SG : survie globale (en anglais *overall survival*); s-gr. : sous-groupe; SSE : survie sans événements (en anglais *event-free survival*)

* Les valeurs de SSE et de SG présentées sont à 5 ans sauf si indication contraire.

En résumé, un impact pronostique défavorable est associé à la translocation t(11;12) NUP98-KDM5A et à l'inv(16) CBFA2T3-GLIS2. Selon une étude récente, ces deux anomalies génétiques constituent des indicateurs pronostiques défavorables indépendants et les patients atteints de LMCA présentant ces anomalies devraient être considérés dans la catégorie de risque élevé. Par ailleurs, selon certaines études, les patients qui présentent la translocation t(1;22) RMB15-MKL1 ont une meilleure SSE et SG comparativement à la t(11;12) et à l'inv(16). Par contre, la t(1;22) n'a pas pu être confirmée comme indicateur pronostique indépendant, probablement en raison du nombre de patients. De plus, deux études ont rapporté un impact pronostique moins favorable pour la t(1;22), bien que supérieur à l'inv(16) et à la t(11;12), en mettant en cause le faible nombre de patients, la proportion élevée de décès précoces et la piètre réponse au traitement.

4.3 Valeur thérapeutique

Outre les anomalies cytogénétiques et moléculaires, une réponse précoce au traitement d'induction constitue un indicateur pronostique chez les patients atteints de LMA [De Rooij *et al.*, 2013; Creutzig *et al.*, 2012]. La détection et la quantification de cellules positives pour une translocation donnée durant ou après le traitement peut servir à évaluer le niveau de maladie résiduelle et ainsi guider les interventions thérapeutiques subséquentes chez les patients en rémission clinique complète bien qu'ils puissent être à risque élevé de récurrence [Hourigan et Karp, 2013].

Valeur prédictive de réponse au traitement

Quelques études ont été retenues afin d'illustrer la valeur prédictive de réponse au traitement associée à certaines translocations et de présenter la proportion des cas pour lesquels une greffe de cellules souches hématopoïétiques a été effectuée.

Concernant les translocations impliquant le gène *MLL*, un taux global de rémission complète variant de 86 % à 91 % traduisant une excellente réponse au traitement a été rapporté dans deux études de cohorte prospectives totalisant plus de 1 000 patients atteints de LMA [Harrison *et al.*, 2010; Von Neuhoff *et al.*, 2010]. Cette perspective pronostique favorable est toutefois assombrie par un taux de récurrence pouvant varier de 4 % à 71 % selon le gène partenaire impliqué dans la translocation (tableau 7). Par ailleurs, les résultats des études illustrant la réponse au traitement moins favorable associée aux translocations t(5;11) NUP98-NSD1, t(6;9) DEK-NUP214 ainsi qu'aux trois translocations caractéristiques de la LMCA sont présentés au tableau 6.

Concernant la translocation t(5;11) NUP98-NSD1, une série de cas [Cerveira *et al.*, 2003], une étude de cohorte rétrospective [Akiki *et al.*, 2013] et une étude de cohorte prospective [Hollink *et al.*, 2011] ont été retenues. L'étude de Cerveira et ses collaborateurs [2003] a évalué la fréquence de la t(5;11) détectée par RT-PCR dans une série de 20 patients consécutifs atteints de LMA. Parmi ceux-ci, une patiente âgée de 4 ans présentait la t(5;11). Réfractaire au premier traitement d'induction, une rémission complète a été documentée à la suite de l'intensification de la chimiothérapie. Suivant deux greffes de cellules souches, le décès est survenu 10 mois après le diagnostic.

L'étude d'Akiki et ses collaborateurs [2013] avait pour objectif de détecter la t(5;11) ainsi que de déterminer le profil mutationnel des gènes *FLT3*, *NPM1* et *CEBPA* chez 54 patients atteints de LMA. La réponse aux traitements de chimiothérapie des 4 patients qui avaient la t(5;11) a été évaluée par RT-PCR en temps réel. Parmi ceux-ci, deux ont obtenu une

rémission partielle et un, atteint de LMA secondaire au traitement d'un ostéosarcome, n'a pas obtenu de réponse significative au traitement de la LMA. Ces 4 patients ont reçu une greffe de cellules souches, 2 étaient en vie à 39 mois et 52 mois après la greffe et 2 sont décédés peu de temps après la greffe. Les auteurs soulignent l'importance de rechercher cette translocation par PCR quantitative chez des patients pédiatriques atteints de LMA sans marqueurs génétiques favorables, et ce à des fins pronostiques et de suivi thérapeutique.

L'étude de Hollink et ses collaborateurs [2011] décrite précédemment a révélé que le taux de rémission complète des patients pédiatriques qui avaient la t(5;11) était de 100 % (12/12). Toutefois, pour 10 des 12 patients (83,3 %), une récurrence est survenue moins de 9 mois suivant la rémission, et ce, en dépit de l'administration de traitements intensifs. À la suite de cette récurrence, 6 patients ont reçu une greffe de cellules souches et 2 sont finalement décédés. De plus, la détection du transcrite NUP98-NSD1 a été effectuée par RT-PCR chez 3 patients dont des échantillons de moelle osseuse prélevés au moment de la rémission et de la récurrence étaient disponibles. Des niveaux élevés de transcrits ont été détectés dans les 3 échantillons correspondants à la rémission indiquant une présence importante de maladie résiduelle associée à la résistance au traitement. Par ailleurs, les niveaux de transcrite des échantillons prélevés à la récurrence étaient similaires à ceux obtenus lors du diagnostic, suggérant une stabilité clonale. Les auteurs affirment que de nouvelles stratégies thérapeutiques sont requises pour les patients qui présentent la translocation t(5;11).

En ce qui a trait à la translocation t(6;9) DEK-NUP214, deux des trois études décrites précédemment ont rapporté un taux de rémission complète inférieur à la t(5;11), variant de 67 % à 71 % [Tarlock *et al.*, 2014; Slovak *et al.*, 2006]. Par ailleurs, dans l'étude de Sandahl et ses collaborateurs [2014] les patients qui avaient la t(6;9) ont atteint la rémission complète dans une proportion de 92,6 %. Chez 18 de ces patients, la greffe de moelle osseuse s'est avérée plus efficace que la chimiothérapie, permettant d'augmenter la SSE à 5 ans ($68 \% \pm 12 \%$ c. $18 \% \pm 7 \%$; $p < 0,01$) et de diminuer l'incidence cumulative de récurrence (ICR) à 5 ans ($13 \% \pm 9 \%$ c. $81 \% \pm 8 \%$; $p < 0,01$) de façon significative, sans toutefois affecter la survie globale.

L'étude rétrospective de De Rooij et ses collaborateurs [2016], portant entre autres sur les trois translocations caractéristiques de la LMCA (tableau 6), n'a pas permis de démontrer l'avantage d'une greffe de moelle osseuse chez 63 patients pédiatriques atteints de LMCA. Dans le groupe de patients présentant la t(11;12) NUP98-KDM5A, l'inv(16) CBFA2T3-GLIS2, un R-*MLL* ou la monosomie 7, 47 % ont reçu une greffe de moelle osseuse. L'analyse multivariée a montré que la greffe n'avait pas eu d'influence significative sur la SSE, la SG et la survie sans récurrence à 4 ans. Les auteurs affirment toutefois que bien que cette analyse rétrospective n'ait pas permis de démontrer une influence favorable de la greffe de moelle osseuse sur le pronostic, la greffe en première rémission complète est recommandée dans plusieurs protocoles de traitement de la LMA pour les cas considérés à risque élevé.

Tableau 6 Valeur prédictive de réponse au traitement selon le type de translocation

ÉTUDE	NOMBRE DE CAS (%)	RÉPONSE AU TRAITEMENT N (%)	GREFFE N (%)
t(5;11)(q35;p15.5) NUP98-NSD1			
Cerveira <i>et al.</i> , 2003	1 (5)	Réfractaire en 1 ^{ère} induction Intensification chimio. RÉM-C : 1 (100)	1 ^{ère} greffe => échec 2 ^e greffe Décès 10 mois après diag. (pneumonie)
Akiki <i>et al.</i> , 2013	4 (7,4)*	Réfractaires : 2 (50) RÉM-C courte durée ou RÉM-P	4 (100) (3 en 1 ^{ère} RÉM-C et 1 PR) 2 décès post-greffe
Hollink <i>et al.</i> , 2011	12 (3,8)	RÉM-C : 12/12 (100) 10 récidivent rapidement	Greffe après récurrence : 6/12 (50) Décès : 7/12 (58,3) 5 sans greffe, 2 après greffe
t(6;9)(p23;q34) DEK-NUP214			
Slovak <i>et al.</i> , 2006	31 (1,4)†	RÉM-C : 22 (71)	7 (22,6)
Sandahl <i>et al.</i> , 2014	54 (0,7)	RÉM-C : 50 (92,6)	32 (59,3) (18 en 1 ^{ère} RÉM-C et 14 PR)
Tarlock <i>et al.</i> , 2014	48 (1,7)‡	chimio. : 3/14 (21) SLT RÉM-C : 67 % (p = 0,04 c. 79 % sans t(6;9))	10 (20,8) (5 en 1 ^{ère} RÉM-C et 5 PR) dont 6 (60) SLT
t(11;12)(p15;p13) NUP98-KDM5A			
De Rooij <i>et al.</i> , 2016	14 (9)	n.d.	4 (29 %)
inv(16)(p13.3;q24.3) CBFA2T3-GLIS2			
De Rooij <i>et al.</i> , 2016	24 (16)	n.d.	11 (46 %)
t(1;22)(p13;q33) RMB15-MKL1			
De Rooij <i>et al.</i> , 2016	18 (12)	n.d.	9 (50 %)

Abréviations : chimio. : chimiothérapie; n.d. : donnée non disponible; PR : post-récurrence; RÉM-C : rémission complète; RÉM-P : rémission partielle; SLT : survivant à long terme.

* Quatre cas porteurs de la t(5;11) incluant 3 LMA *de novo* et 1 LMA secondaire au traitement.

† Parmi ces 31 cas, 27 cas (87,1 %) présentaient la translocation seule et 4 cas (12,9 %) avaient une anomalie cytogénétique supplémentaire.

‡ Ces 48 cas incluent 12 cas avec t(6;9) seule, 24 cas avec t(6;9) et FLT3-ITD et 12 cas avec t(6;9) avec ou sans anomalie cytogénétique supplémentaire.

Risque de récurrence

Au cours des dernières décennies, la survie des patients atteints de LMA a augmenté à près de 70 % en raison de l'amélioration des soins de soutien, de l'optimisation de la stratification du risque et de l'intensification de la chimiothérapie [De Rooij *et al.*, 2015]. Toutefois, chez les patients pédiatriques dont la leucémie est causée par un réarrangement impliquant le gène *MLL*, la survie varie de 10 % à 40 % selon le gène partenaire [Marschalek, 2015]. En dépit des traitements intenses, environ 30 % des patients pédiatriques vont subir une récurrence et 5 % à 10 % vont décéder à la suite de complications de la maladie ou d'effets secondaires des médicaments [De Rooij *et al.*, 2015; Kaspers *et al.*, 2013; Sander *et al.*, 2010].

Les tableaux 7, 8 et 9 présentent le risque de récurrence associé à 13 des 14 translocations évaluées dans le présent avis, soit les translocations impliquant le gène *MLL*, les translocations n'impliquant pas le gène *MLL* et les translocations caractéristiques de la LMCA, respectivement. L'incidence cumulative de récurrence (ICR) associée à la majorité de ces translocations est élevée, plus particulièrement pour les trois translocations n'impliquant pas le gène *MLL* (tableau 8) atteignant 83 % à 4 ans pour la t(5;11). Par ailleurs, pour les translocations t(1;11) KMT2A-MLLT11 (AF1Q) (tableau 7) et t(1;22) RMB15-MKL1 (tableau 9), on a rapporté une ICR de 4 % et de 6 % à 9 % respectivement.

Tableau 7 Risque de récurrence associé aux translocations impliquant le gène *MLL*

ÉTUDE	PRÉVALENCE DE LA TRANSLOCATION (%)	ICR À 5 ANS
t(1;11)(q21;q23) KMT2A-MLLT11 (AF1Q)		
Balgobind <i>et al.</i> , 2009	25 (3,3)	4 % c. 35 % (cohorte) p < 0,001 c. autres s-gr.
t(9;11)(p22;q23) KMT2A-MLLT3		
Balgobind <i>et al.</i> , 2009	328 (43,4)	29 % c. 35 % (cohorte) p = NS C. autres s-gr.
Von Neuhoﬀ <i>et al.</i> , 2010	32 (7)*	42 % † NS c. cohorte
t(11;19)(q23;p13.1) KMT2A-ELL		
Balgobind <i>et al.</i> , 2009	34 (4,5)	42 % c. 35 % (cohorte) p = NS C. autres s-gr.
t(11;19)(q23;p13.3) KMT2A-MLLT1 (ENL)		
Balgobind <i>et al.</i> , 2009	25 (3,3)	21 % c. 35 % (cohorte) p = NS C. autres s-gr.
t(10;11)(p12;q23) KMT2A-MLLT10		
Balgobind <i>et al.</i> , 2009	98 (13)	52 % c. 35 % (cohorte) p = NS C. autres s-gr.
Von Neuhoﬀ <i>et al.</i> , 2010	11 (2,4)	71 % p = 0,019 c. cohorte
t(6;11)(q27;q23) KMT2A-MLLT4		
Balgobind <i>et al.</i> , 2009	35 (4,6)	54 % c. 35 % (cohorte) p = NS C. autres s-gr.
t(11;17)(q23;q12-21) KMT2A-LASP1		
Balgobind <i>et al.</i> , 2009	12 (1,6)	41 % c. 35 % (cohorte) p = NS C. autres s-gr.

Abréviations : ICR : incidence cumulative de récurrence; NS : non significatif; s-gr. : sous-groupe.

* Ces 32 cas avaient la t(9;11) uniquement, 13 autres cas (2,9 %) présentaient la translocation t(9;11) et une anomalie cytogénétique supplémentaire.

† Incidence cumulative de récurrence à 5 ans pour les cas présentant la t(9;11) uniquement. Pour les cas qui avaient la t(9;11) et une anomalie cytogénétique supplémentaire, l'ICR à 5 ans était de 61 % (p = 0,028 c. cohorte).

Tableau 8 Risque de récurrence associé aux translocations n'impliquant pas le gène *MLL*

ÉTUDE	NOMBRE DE CAS (%)	RISQUE DE RÉCURRENCE ICR (%) OU FRÉQUENCE N (%)
t(5;11)(q35;p15.5) NUP98-NSD1		
Hollink <i>et al.</i> , 2011	12 (3,8)	Récurrence : 10/12 (83,3 %) < 9 mois après RÉM-C ICR 4 ans : 83 % c. 45 %; p < 0,001 SSR : RRI 2,55 (1,54 - 4,22); p < 0,001 (multivarié)
t(6;9)(p23;q34) DEK-NUP214		
Sandahl <i>et al.</i> , 2014	54 (0,7)	Récurrence : 25 (46,3 %) ICR 5 ans : 60 % (N = 50); p = NS c. t(6;9) avec AS
Tarlock <i>et al.</i> , 2014	48 (1,7) *	Récurrence : 64 % c. 42 %; p = 0,04
t(10;11)(p13;q14-21) PICALM-MLLT10		
Borel <i>et al.</i> , 2012	18 †	Récurrence : 5 (41,7 %) ‡ Décès : 12 (66,7 %)

Abréviations : AS : anomalie supplémentaire; ICR : incidence cumulative de récurrence; N : nombre de patients; NS : non significatif; RÉM-C : rémission complète; SSR : survie sans récurrence

* Ces 48 cas incluent 12 cas avec t(6;9) seule, 24 cas avec t(6;9) et FLT3-ITD et 12 cas avec t(6;9) avec ou sans anomalie cytogénétique supplémentaire.

† Cette étude porte sur 18 cas de LMA présentant la translocation t(10;11) et non sur une cohorte de patients atteints de LMA présentant diverses translocations. Parmi ces 18 cas, 8 cas (44,4 %) présentaient la translocation seule et 10 cas (55,5 %) avaient une anomalie génétique additionnelle.

‡ Parmi les 12 patients qui ont atteint une rémission complète, 5 (41,7 %) ont subi une récurrence.

Tableau 9 Risque de récurrence associé aux translocations présentes dans les cas de LMCA

ÉTUDE	NOMBRE DE CAS (%)	RISQUE DE RÉCURRENCE ICR (%) OU FRÉQUENCE N (%)
t(11;12)(p15;p13) NUP98-KDM5A		
De Rooij <i>et al.</i> , 2013	9 (12,3)	ICR 5 ans : 56 % c. 54 % cas nég. p = NS
De Rooij <i>et al.</i> , 2016	14 (9)	ICR 4 ans : 36 % p = 0,03
inv(16)(p13.3;q24.3) CBFA2T3-GLIS2		
Masetti <i>et al.</i> , 2013	20 (8,4)	Récurrence : 10 (50 %)
De Rooij <i>et al.</i> , 2013	8 (11)	ICR 5 ans : 81 % c. 51 % cas nég. p = NS
De Rooij <i>et al.</i> , 2016	24 (16)	ICR 4 ans : 42 % p = 0,03
t(1;22)(p13;q33) RMB15-MKL1		
De Rooij <i>et al.</i> , 2013	11 (15,1)	ICR 5 ans : 9 % c. 62 % cas nég. p = 0,004
De Rooij <i>et al.</i> , 2016	18 (12)	ICR 4 ans : 6 % p = 0,03

Abréviations : ICR : incidence cumulative de récurrence; N : nombre de patients; nég.: négatif; NS : non significatif

4.4 Validité analytique

Quatre études utilisant la RT-PCR pour détecter certaines translocations ont été retenues afin d'illustrer la valeur ajoutée de cette technique comparativement à l'analyse cytogénétique classique, particulièrement dans le cas des translocations cryptiques. Parmi les études retenues, deux portaient sur la détection de certaines translocations impliquant le gène *MLL* [Ko *et al.*, 2015; Cho *et al.*, 2012], une portait sur la détection de la translocation t(5;11) NUP98-NSD1 [Hollink *et al.*, 2011] et une sur la détection des translocations associées à la LMCA [De Rooij *et al.*, 2016] (tableau 10).

L'étude de Cho et ses collaborateurs [2012] avait pour objectif de comparer la détection de translocations par RT-PCR et par analyse cytogénétique classique chez 121 patients atteints de leucémie aiguë (LMA : 77; LLA : 37; LAPM¹³ : 7) incluant 32 enfants (âge médian : 9 ans; 1 à 16 ans). La méthode RT-PCR en multiplex de la trousse commerciale HemaVision^{MC} (BioRad Laboratories, USA) permettant la détection de 28 translocations a été simplifiée à 15 translocations jugées courantes et d'intérêt pronostique. Parmi ces translocations, les 6 incluses dans le panel proposé par le centre demandeur (tableau 10) ont été détectées par RT-PCR chez 9 (11,7 %) patients atteints de LMA. Une concordance de 90,8 % a été obtenue entre les deux méthodes de détection pour les cas de LMA comparativement à 91,7 % pour l'ensemble de la cohorte. Parmi les 76 patients atteints de LMA et dont les données cytogénétiques avaient été obtenues, la RT-PCR a permis de détecter des translocations cryptiques (KMT2A-MLLT3 : 2; KMT2A-MLLT4 : 1; PML-RARA : 1) parmi les 4 patients initialement classés à caryotype normal. Par ailleurs, la RT-PCR n'a pas détecté la présence de translocation pourtant révélée par l'analyse cytogénétique chez 3 patients atteints de LMA (3,9 % de faux négatifs) dont un avec la translocation t(11;19) KMT2A-ELL incluse dans le panel proposé par le centre demandeur. Les auteurs concluent que bien que la détection des translocations cryptiques par RT-PCR permet d'obtenir des informations génétiques supplémentaires, cette méthode ne peut pas remplacer totalement l'analyse cytogénétique classique.

Une étude de cas a par ailleurs mis en évidence la présence de la translocation KMT2A-MLLT10 par RT-PCR chez un patient âgé de 17 ans [Ko *et al.*, 2015]. Cette translocation, détectée au moyen de la trousse HemaVision^{MC} (RT-PCR multiplex), n'avait pas été détectée par l'analyse cytogénétique classique ni par FISH. À la lumière de ce résultat, les auteurs soulignent l'utilité de la RT-PCR pour la détection de réarrangements cryptiques du gène *MLL* non détectés par FISH.

La détection de la translocation t(5;11) NUP98-NSD1 par RT-PCR a été rapportée par Hollink et ses collaborateurs [2011] dans une cohorte de 293 patients pédiatriques atteints de LMA dont 62 avaient un caryotype normal. Cette translocation cryptique, détectée par RT-PCR chez 13 (4,4 %) patients dont 10 avec caryotype normal, n'avait pas été détectée par l'analyse cytogénétique classique. Ces auteurs affirment également que l'utilisation de techniques moléculaires supplémentaires dans le but de repérer les patients porteurs de cette translocation au moment du diagnostic est justifiée.

De Rooij et ses collaborateurs [2016] ont rapporté la fréquence de détection des trois translocations associées à la LMCA incluses dans le panel proposé par le centre demandeur (NUP98-KDM5A, CBFA2T3-GLIS2 et RBM15-MKL1). Au total, les RT-PCR spécifiques à ces 3 translocations ont été réalisées sur 153 patients de la cohorte. L'analyse cytogénétique,

¹³ LAPM : leucémie aiguë à phénotype mixte.

rendue difficile en raison de la myélofibrose fréquemment associée à la LMCA, a pu être réalisée pour 119 cas (77,7 %). Le caryotype n'a pas permis de révéler les translocations cryptiques CBFA2T3-GLIS2 et NUP98-KDM5A, pour 24 et 14 patients respectivement. Parmi ces 38 patients, 10 n'avaient pas de résultats de caryotype (échantillon insuffisant) et les 28 autres n'avaient pas de translocation perceptible par l'analyse du caryotype. Par RT-PCR, il a été possible de détecter ces translocations et de classer ces 38 patients dans la catégorie de risque intermédiaire. Les auteurs recommandent la détection de ces translocations, en combinaison avec l'analyse cytogénétique classique, chez les patients atteints de LMCA afin d'améliorer la stratification du risque et de moduler l'intensité du traitement en fonction des caractéristiques du clone leucémique en cause.

Tableau 10 Détection des translocations cryptiques par RT-PCR

ÉTUDE	PATIENTS	TRANSLOCATIONS RECHERCHÉES	FRÉQUENCE DE DÉTECTION N (%)		CONCORDANCE (%)	FAUX NÉGATIF RT-PCR (%)
			CYTOG.	RT-PCR		
Cho <i>et al.</i> , 2012	77	15 translocations dont 6 du panel du centre demandeur : KMT2A-MLLT4 KMT2A-MLLT3 KMT2A-MLLT10 KMT2A-ELL KMT2A-MLLT1(ENL) DEK-NUP214	34 (44,7) N = 76	35 (45,5) N = 77	69/76 (90,8)*	3/76 (3,9)*
Ko <i>et al.</i> , 2015	1	KMT2A-MLLT10	TND	TD	s.o.	s.o.
Hollink <i>et al.</i> , 2011	293	NUP98-NSD1	TND	13 (4,4)	n.d.	n.d.
De Rooij <i>et al.</i> , 2016	153	NUP98-KDM5A CBFA2T3-GLIS2 RBM15-MKL1	TND N = 119	38 (24,8) †	n.d.	n.d.

Abréviations : Cytog. : analyse cytogénétique; TD : translocation détectée; N : nombre de patients; TND : translocation non détectée; n.d. : donnée non disponible; RT-PCR : transcription inverse et réaction en chaîne par polymérase; s.o.: sans objet.

* Le taux de concordance entre les analyses cytogénétiques et la RT-PCR ainsi que le pourcentage de faux négatifs prennent en compte les 15 translocations recherchées par la trousse HemaVision^{MC} et non seulement les 6 translocations incluses dans le panel proposé par le centre demandeur.

† Par RT-PCR, les translocations cryptiques CBFA2T3-GLIS2 et NUP98-KDM5A ont été détectées chez 38 patients : CBFA2T3-GLIS2 (24) et NUP98-KDM5A (14).

4.5 Données fournies par le demandeur

Résultats de validation de la RT-PCR nichée pour les 14 translocations du panel proposé par le centre demandeur

Les résultats de validation présentés à l'annexe B montrent les différents points de fusion connus et publiés ou mis en évidence chez les patients¹⁴. Chaque translocation a été validée

¹⁴ Information transmise par Virginie Dormoy-Raclet, Ph.D. (CHU Sainte-Justine), communication électronique du 22 juin 2016.

en présence d'un échantillon témoin normal (négatif), d'un échantillon témoin positif¹⁵ et dans certains cas d'un échantillon provenant d'un prélèvement effectué chez un patient qui avait la translocation à valider.

Aucune photo du gel de la réaction RT-PCR n'est disponible pour la translocation t(1;11) KMT2A-EPS15 en raison de l'absence d'échantillon témoin positif pour analyser cette translocation. Les amorces qui ont été utilisées sont celles publiées dans l'étude de Pallisgaard et ses collaborateurs [1998]¹⁶.

Résultats d'analyse par RT-PCR nichée des translocations de 5 patients atteints de LMA

Pour chacun des 5 patients énumérés ci-dessous, sont présentés à l'annexe C les résultats de la RT-PCR nichée de l'analyse cytogénétique (caryotype) et du séquençage du point de fusion des gènes impliqués dans la translocation détectée. Pour chacun de ces patients, le caryotype n'a pas permis de déceler la translocation détectée par RT-PCR nichée.

- Patients 1 et 2 : t(11;12) NUP98-KDM5A
- Patient 3 : inv(16) CBFA2T3-GLIS2
- Patient 4 : t(11;17) KMT2A-LASP1
- Patient 5 : t(10;11) PICALM-MLLT10

Résultats d'analyse par RT-PCR nichée pour l'ensemble des patients évalués depuis 2013

La recherche de translocations a été effectuée chez les patients lors du diagnostic ou lors du suivi d'une translocation détectée au diagnostic (tableau 11). Selon le demandeur :

- Toutes les translocations associées aux leucémies mégacaryoblastiques (translocations cryptiques) étaient négatives en cytogénétique, mais positives en RT-PCR.
- Les translocations impliquant le gène *MLL* ont été détectées par RT-PCR dans tous les cas où le partenaire de fusion n'était pas identifié par FISH.
- Aucun faux négatif n'a été obtenu par RT-PCR, toutes les translocations cryptiques ont été détectées par RT-PCR.

¹⁵ L'échantillon témoin positif est constitué d'une lignée cellulaire transfectée avec un plasmide exprimant l'ADNc de la translocation à valider.

¹⁶ Information transmise par Virginie Dormoy-Raclet, Ph.D. (CHU Sainte-Justine), communication électronique du 17 août 2016.

Tableau 11 Résultats d'analyse RT-PCR pour chaque translocation

PANEL	TRANSLOCATION	FUSION (ALIAS)	ANNÉE	PATIENTS NÉGATIFS	PATIENTS POSITIFS
MLL (KMT2A)	t(1;11)(q21;q23)	KMT2A-MLLT11 (AF1Q)	2013	3	7
			2014	2	8
			2015	4	3
	t(1;11)(p32;q23)	KMT2A-EPS15 (AF1P)	n.d. *	n.d. *	n.d. *
	t(11;17)(q23;q12-21)	KMT2A-LASP1	2015-2016	6	7
	t(11;19)(q23;p13.1)	KMT2A-ELL	2015	3	2
			2016	2	0
	t(11;19)(q23;p13.3)	KMT2A-MLLT1 (ENL)	2015	3	6
			2016	3	0
	t(6;11)(q27;q23)	KMT2A-MLLT4 (AF6)	2014	1	3
			2015	5	0
			2016	1	0
	t(9;11)(p22;q23)	KMT2A-MLLT3 (AF9)	2015	13	2
			2016	7	0
	t(10;11)(p12;q23)	KMT2A-MLLT10 (AF10)	2015	9	5
			2016	3	6
non MLL	t(5;11)(q35;p15.5)	NUP98-NSD1	n.d. *	n.d. *	n.d. *
	t(6;9)(p23;q34)	DEK-NUP214	2015	4	0
			2016	1	0
	t(10;11)(p13;q14-21)	PICALM-MLLT10	2015-2016	9	2
LMCA	t(11;12)(p15;p13)	NUP98-KDM5A	2014	0	8
			2015	0	1
	t(1;22)(p13;q13)	RBM15-MKL1	2016	5	4
	inv(16)(p13.3;q24.3)	CBFA2T3-GLIS2	2015	5	3
			2016	4	0

Abréviation : n.d. : donnée non disponible

Total : 93 67

* Pour les translocations t(1;11) KMT2A-EPS15 (AF1P) et t(5;11) NUP98-NSD1, aucun cas présentant ces translocations n'a été diagnostiqué jusqu'à maintenant.

5 IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire prend en considération les coûts directs liés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse permettant la détection de 14 translocations à pronostic défavorable dans les leucémies myéloïdes aiguës (LMA) pédiatriques. L'évaluation des coûts directs est présentée au tableau 12 et repose principalement sur l'algorithme présenté à la figure 1 ainsi que sur les hypothèses suivantes :

- Selon le demandeur, il y aurait 15 à 20 nouveaux cas de LMA pédiatrique annuellement au Québec.
- Basé sur les données 2015-16 soumises par celui-ci (tableau 11), parmi ces nouveaux cas 70 % seraient testés pour les translocations impliquant le gène *MLL* (*KMT2A*), 13 % pour les translocations n'impliquant pas le gène *MLL* (non *MLL*) et 17 % pour les translocations associées à la LMCA.
- Le pourcentage de cas positifs découlant de ces analyses serait de 34 % parmi les patients testés pour les translocations *MLL* (*KMT2A*), 13 % parmi ceux testés pour les translocations non *MLL* et 73 % parmi ceux testés pour les translocations associées à la LMCA. Cela correspond respectivement à 5, 6 et 7 cas positifs pour chacune des 3 prochaines années advenant l'ajout du test au *Répertoire*.
- Selon le demandeur, ces patients positifs pour l'une des 14 translocations testés doivent être suivis 5 à 10 fois par année.
- Les analyses prévues par le demandeur représentent 100 % des analyses prévues pour le Québec.
- Aucune analyse n'a été envoyée hors Québec en 2014-2015.
- Les valeurs pondérées (VP) proposées par le demandeur sont de 143,68; 181,59 et 319,36 pour l'analyse respective de 1, 3 et 8 translocations.
- Selon les experts consultés, aucun autre coût n'est à considérer, outre ceux liés à l'ajout potentiel de cette analyse au *Répertoire* puisque cette dernière ne modifie pas significativement la prise en charge des patients pédiatriques atteints de LMA.

Figure 1 Algorithme présentant les analyses effectuées pour la détection de 14 translocations à pronostic défavorable chez les patients atteints de leucémie myéloïde aiguë pédiatrique ainsi que celles réalisées pour en assurer le suivi.

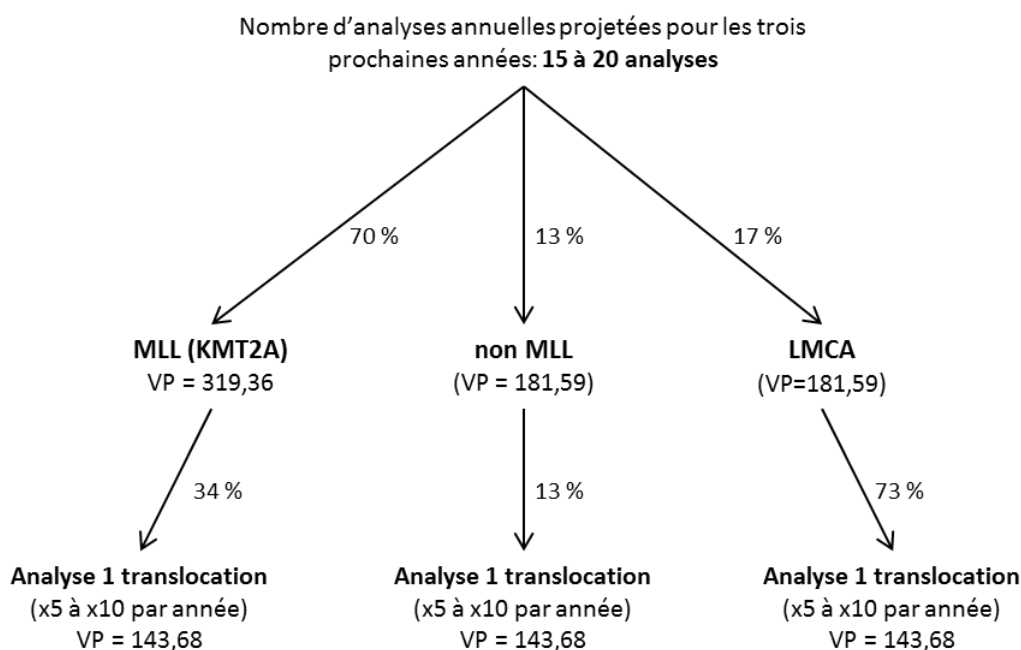


Tableau 12 Coûts directs liés à l'introduction au *Répertoire* de l'analyse permettant la détection de 14 translocations à pronostic défavorable dans les leucémies myéloïdes aiguës pédiatriques

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Nombre de cas LMA pédiatrique	15	18	20	53
Nombre d'analyses				
MLL (KMT2A)	11	13	14	38
non MLL	2	2	3	7
LMCA	2	3	3	8
Coût en analyses	4 239 \$	5 060 \$	5 561 \$	14 860\$
Nombre de cas LMA pédiatrique positifs en suivi	5	6	7	18
Nombre d'analyses de suivi	25 à 50	30 à 60	35 à 70	90 à 180
Coût en analyse de suivi	3 592 \$ à 7 184 \$	4 310 \$ à 8 621 \$	5 029 \$ à 10 058 \$	12 931 \$ à 25 863 \$
Coûts totaux si introduction de l'analyse	7 831 \$ à 11 243 \$	9 370 \$ à 13 681\$	10 590 \$ à 15 619 \$	27 791 \$ à 40 543 \$

En tenant compte de l'ensemble de ces considérations, il est estimé que les coûts directement liés à l'introduction de l'analyse permettant la détection de 14 translocations à pronostic défavorable dans les leucémies myéloïdes aiguës pédiatriques au *Répertoire* pourraient varier de 27 791 \$ à 40 543 \$ au total pour les trois premières années.

6 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

Environ 30 % des patients pédiatriques atteints de LMA vont subir une récurrence, tandis que 5 % à 10 % des patients vont décéder à la suite de complications de la maladie ou des effets secondaires du traitement. Ainsi, un traitement ciblé peut améliorer l'efficacité antileucémique et minimiser la mortalité et la morbidité liées au traitement [De Rooij *et al.*, 2015].

De plus, chez les patients pédiatriques atteints d'une LMA, la détection de translocations chromosomiques associées à un risque élevé de récurrence ou à une mauvaise réponse aux traitements permettrait d'éviter des souffrances inutiles découlant d'un traitement de chimiothérapie parfois inefficace et de donner accès à une greffe de cellules souches en première intention¹⁷.

7 POSITIONS OU ORIENTATIONS DES PRINCIPALES ORGANISATIONS CONCERNANT L'ANALYSE ÉVALUÉE

Un groupe d'experts du comité LMA de l'International BFM Study Group [Creutzig *et al.*, 2012] recommande que l'évaluation de routine des patients atteints de LMA devrait inclure minimalement les gènes de fusion suivants : RUNX1-RUNX1T1, CBFβ-MYH11, PML-PARA et les réarrangements du gène *MLL*. La recherche de certains gènes de fusion rares devrait aussi être réalisée afin de repérer les patients à risque défavorable. Parmi ces gènes de fusion, on mentionne entre autres t(6;9) DEK-NUP214, t(5;11) NUP98-NSD1, t(6;11) MLL-MLLT4 et t(10;11) MLL-MLLT10 qui sont inclus dans le panel proposé par le centre demandeur [Creutzig *et al.*, 2012].

Les LMA avec t(6;9) DEK-NUP214, t(1;22) RBM15-MKL1 et t(9;11) KMT2A-MLLT3 sont des entités reconnues dans la classification de l'OMS 2016 [Arber *et al.*, 2016].

¹⁷ Informations transmises par le demandeur (Dre Sonia Cellot, CHU Ste-Justine), communication téléphonique du 15 juillet 2016.

8 SYNTHÈSE DE L'ÉVALUATION

La recherche de translocations à pronostic défavorable par RT-PCR chez les patients pédiatriques atteints de LMA permettrait de préciser le diagnostic de LMA et d'effectuer la stratification pronostique initiale des patients afin d'offrir un traitement adapté au risque de récurrence. Les 14 translocations proposées ne seront pas analysées de front, mais en sous-groupe selon les résultats de cytologie, des analyses cytogénétiques préliminaires et le tableau clinique.

Valeur pronostique :

Parmi les 14 translocations visées par l'analyse proposée, 3 translocations sont des entités reconnues par l'OMS pour la LMA, soit : t(9;11), t(6;9) et t(1;22) (tableau 13).

Tableau 13 Résumé de l'état des connaissances sur les 14 translocations du panel proposé pour les LMA pédiatriques

	TRANSLOCATIONS	IMPACT PRONOSTIQUE	PARTICULARITÉS
MLL	t(6;11) KMT2A-MLLT4	Indicateurs indépendants de pronostic défavorable (analyse multivariée)	s.o.
	t(10;11) KMT2A-MLLT10		
	t(11;19) KMT2A-MLLT1 (ENL)	Aucun impact pronostique significatif	s.o.
	t(11;19) KMT2A-ELL		
	t(11;17) KMT2A-LASP1		
	t(9;11) KMT2A-MLLT3 *	Pas de consensus (2 études pronostiques favorables, 3 études sans impact significatif)	- Impact favorable FAB-M5 - Impact défavorable anomalies génétiques supplémentaires.
	t(1;11) KMT2A-EPS15 (AF1P)	Impact pronostique incertain	Peu documenté
	t(1;11) KMT2A-MLLT11 (AF1Q)		
Non-MLL	t(5;11) NUP98-NSD1	Impact défavorable	Impact pronostique de la t(5;11) lié à la présence concomitante de FLT3-ITD
	t(6;9) DEK-NUP214 *	Impact défavorable	Présence concomitante fréquente FLT3-ITD, sans impact pronostique
	t(10;11) PICALM-MLLT10	Impact défavorable mais non significatif	Peu documenté
LMCA	t(11;12) NUP98-KDM5A	Indicateurs indépendants de pronostic défavorable (analyse multivariée)	s.o.
	inv(16) CBFA2T3-GLIS2		
	t(1;22) RBM15-MKL1 *	Non confirmé comme indicateur pronostique indépendant	Pronostic plus favorable que la t(11;12) et l'inv(16) CBFA2T3-GLIS2

Abréviations : LMCA : leucémie mégacaryoblastique aiguë; s.o. : sans objet

* Entité LMA reconnue par l'OMS [Arber *et al.*, 2016]

Valeur thérapeutique :

Concernant les translocations impliquant le gène *MLL*, une excellente réponse au traitement est généralement observée. Cette perspective pronostique favorable est toutefois assombrie par un taux de récurrence pouvant varier de 4 % à 71 % selon le gène partenaire impliqué dans la translocation. Les translocations t(5;11) et t(6;9) sont associées à un bon taux de rémission complète, mais également à un taux élevé de récurrence. Concernant les trois translocations caractéristiques de la LMCA, une analyse rétrospective récente n'a pas permis de démontrer une influence favorable de la greffe de moelle osseuse sur le pronostic.

L'incidence cumulative de récurrence associée à la majorité des 14 translocations du panel proposé est élevée, plus particulièrement pour les translocations t(5;11), t(6;9) et t(10;11) PICALM-MLLT10. Par ailleurs, la t(1;22) RMB15-MKL1 et la t(1;11) KMT2A-MLLT11 (AF1Q) ont été associées à une incidence cumulative de récurrence inférieure à 10 %.

Validité analytique :

Les études retenues ont montré que la détection des translocations cryptiques par RT-PCR permet d'obtenir des informations génétiques supplémentaires, particulièrement lorsque ces translocations n'ont pas été détectées par l'analyse cytogénétique. Toutefois, la RT-PCR ne peut pas remplacer totalement l'analyse cytogénétique classique.

Les données de validation analytique fournies par le demandeur ont montré que la RT-PCR a permis de détecter des translocations cryptiques non détectables par le caryotype.

Recommandations d'organisations en lien avec l'analyse proposée

Un groupe d'experts du comité LMA de l'International BFM Study Group recommande l'analyse des réarrangements du gène *MLL* et, entre autres, la recherche des translocations t(6;9) DEK-NUP214, t(5;11) NUP98-NSD1, t(6;11) MLL-MLLT4 et t(10;11) MLL-MLLT10.

9 RECOMMANDATION DE L'INESSS

Détection de 14 translocations à pronostic défavorable dans les leucémies myéloïdes aiguës pédiatriques.

La recommandation de l'INESSS

- ☐ Introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- ☒ Refus d'introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- ☐ Maintien de l'analyse dans le *Répertoire*
- ☐ Retrait de l'analyse du *Répertoire*

Précisions accompagnant la recommandation

- ✓ Les membres du comité reconnaissent la valeur du test et l'utilité clinique de certaines translocations incluses dans l'analyse au regard des données cliniques publiées et présentées en appui. Toutefois, l'utilité de certaines autres translocations devrait être davantage supportée par la littérature scientifique.
- ✓ Bien que la technique soit fiable et bien établie, la faible quantité de données concernant la validation analytique d'un test développé par le laboratoire a été soulevée par les experts du CSABM, et ce, même si les membres reconnaissent la rareté de la condition.

ANNEXE A

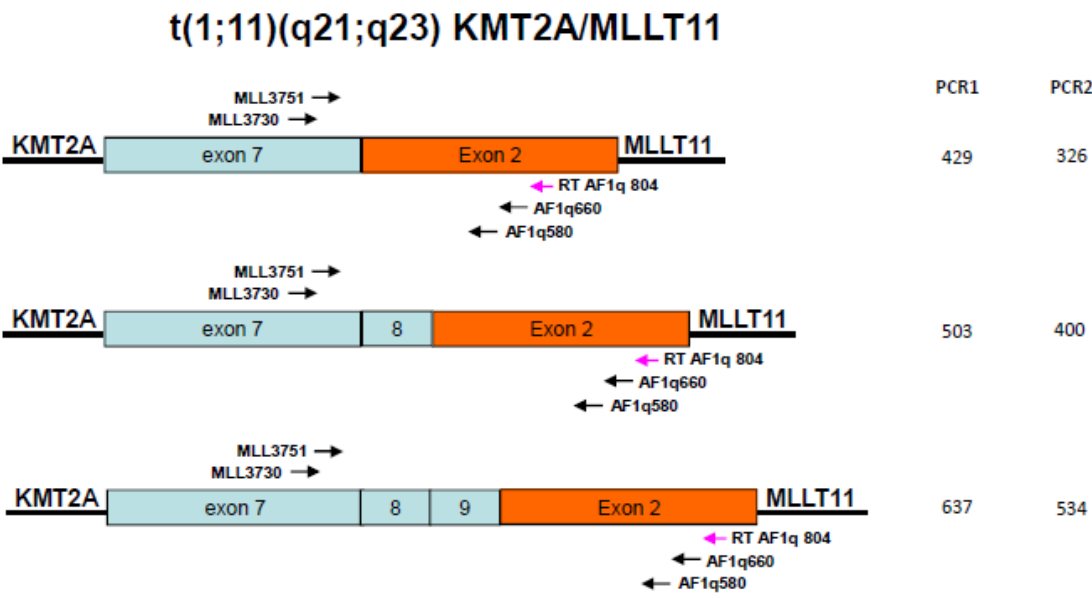
Lignées cellulaires utilisées comme témoins internes lors de la recherche des translocations.

Mégacaryoblastiques	
t(11;12) NUP98-JARID1A(KDM5a) (M7)	Cellules transfectées avec cDNA
Inv16 CBFA2T3-GLIS2 (M7)	M-07e (ACC104)
t(1;22) RBM15-MKL1 (M7)	Cellules transfectées avec cDNA
MLL	
t(1;11)	X
t(4;11)	RS4;11 (CRL-1873)
t(6;11)	ML-2 (ACC15)
t(9;11)	Mono-Mac 1 (ACC252)
t(10;11) MLL-MLLT10	X
t(11;19) ELL	
t(11;19) ENL	KOPN-8 (ACC552)
Autres translocations	
t(6;9)	FKH-1 (ACC614)
t(5;11) NUP98-NSD1	H293 transfectée avec pSC-133
t(10;11) PICALM-MLLT10	U937
t(11;17) MLL-LASP1	X

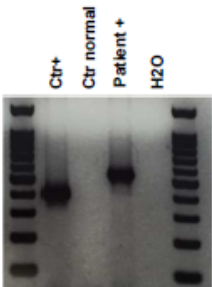
ANNEXE B

Résultats de validation de la RT-PCR nichée pour les 14 translocations du panel proposé par le centre demandeur.

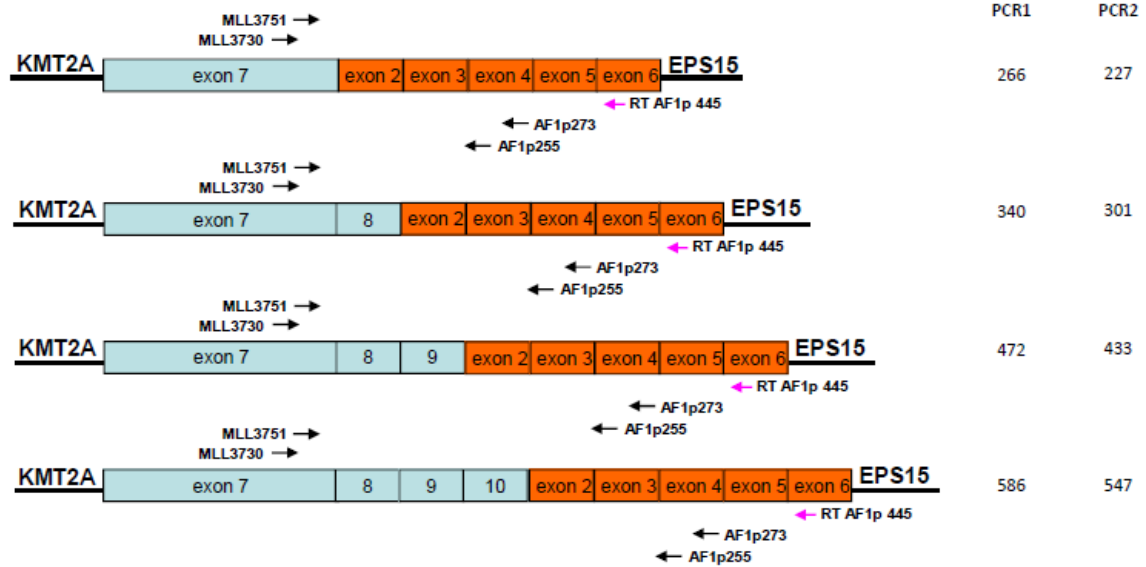
1. Translocations du panel MLL (8)



Date: 2016-01-05, RefSeq. KMT2A(MLL): NM_001197104.1, RefSeq. MLLT11(AF1Q): NM_006818.3

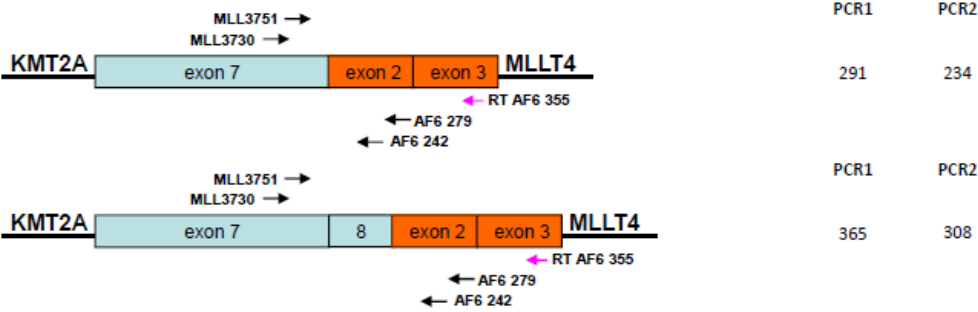


t(1;11)(p32;q23) KMT2A/ESP15

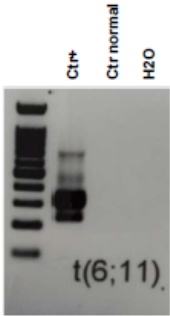


Date: 2015-08-20, RefSeq. KMT2A(MLL): NM_001197104.1, RefSeq. ESP15(AF1P): NM_001981

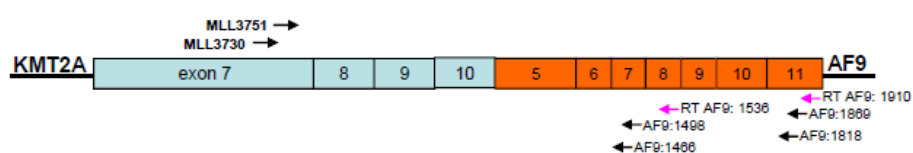
t(6;11)(q27;q23) KMT2A/MLLT4



Date: 2015-08-20, RefSeq. KMT2A(MLL): NM_001197104.1, RefSeq. MLLT4(AF6): NM_001040000.2

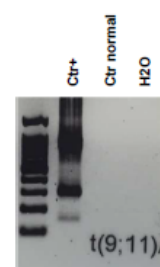
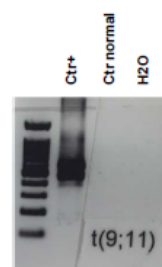


t(9;11)(p22;q23) KMT2A-MLLT3



	PCR1	PCR2
Mix A	1694	1622
Mix t(9;11)	1321	1272

	Mix A		Mix t(9;11)	
MLLex7/MLLT3ex5	1374	1302	1001	952
MLLex7/MLLT3ex6	668	596	296	247
MLLex7/MLLT3ex7	593	521	220	171
MLLex7/MLLT3ex9	363	291	x	x
MLLex7/MLLT3ex10	291	219	x	x
MLLex8/MLLT3ex5	1448	1376	1047	1026
MLLex8/MLLT3ex6	742	670	342	321
MLLex8/MLLT3ex7	667	595	266	245
MLLex8/MLLT3ex9	437	365	x	x
MLLex8/MLLT3ex10	365	293	x	x
MLLex9/MLLT3ex5	1580	1508	1207	1158
MLLex9/MLLT3ex6	874	802	502	453
MLLex9/MLLT3ex7	799	727	426	377
MLLex9/MLLT3ex9	569	497	x	x
MLLex9/MLLT3ex10	497	425	x	x
MLLex10/MLLT3ex5	1694	1622	1321	1272
MLLex10/MLLT3ex6	988	916	616	567
MLLex10/MLLT3ex7	913	841	540	491
MLLex10/MLLT3ex9	683	611	x	x
MLLex10/MLLT3ex10	611	539	x	x

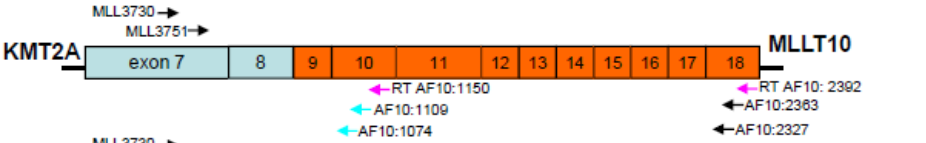
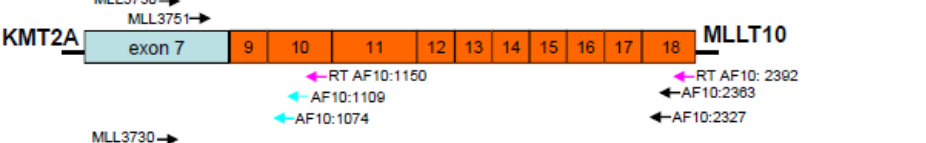
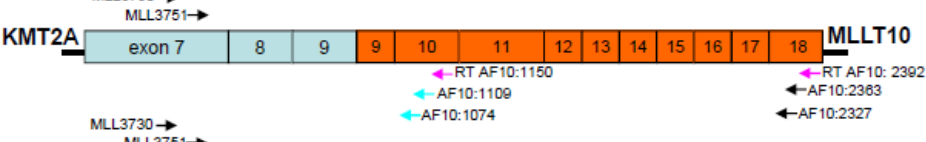
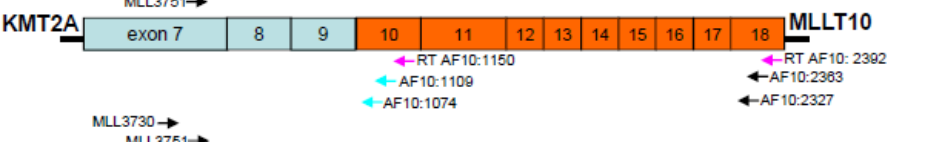
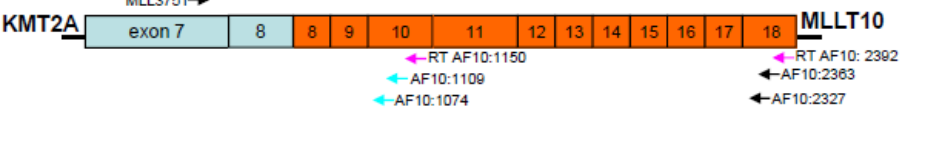


5

Date: 2016-01-05, RefSeq. KMT2A (MLL): NM_001197104.1, RefSeq. MLLT3 (AF9): NM_004529.3

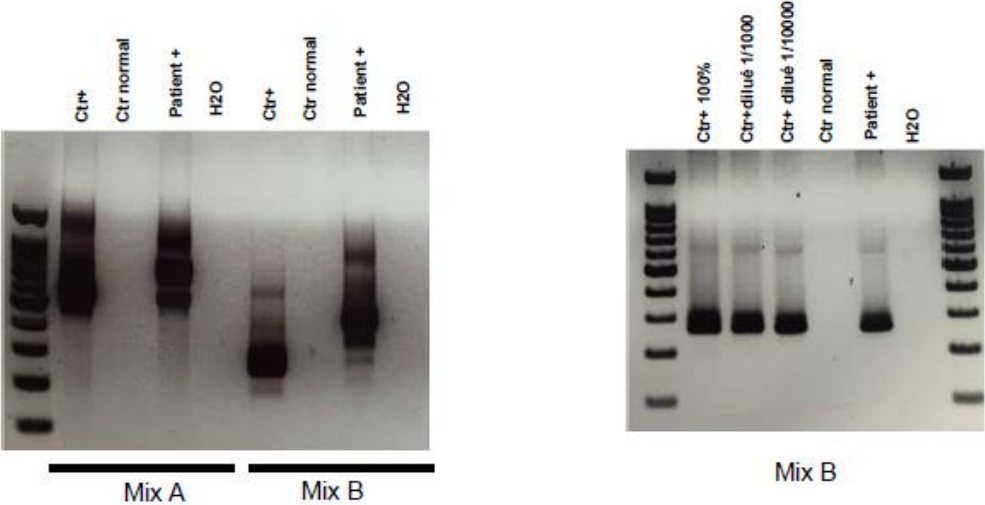
t(10;11)(p12;q23) *KMT2A-MLLT10*

Fusions pédiatriques

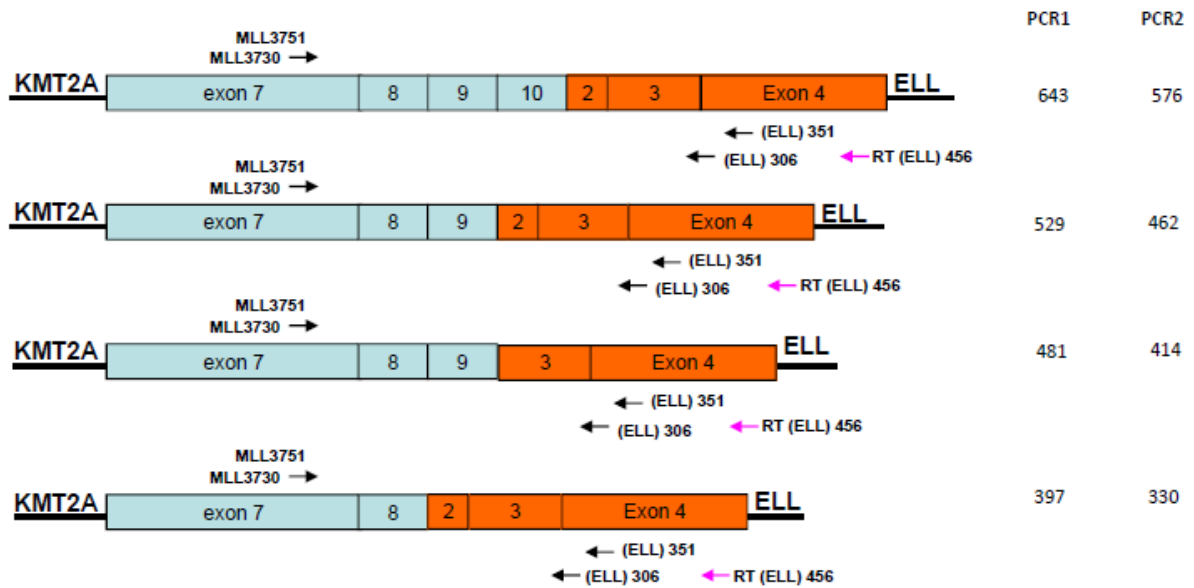
		PCR1	PCR2
	Mix B	419	364
	Mix A	1674	1615
	Mix B	323	268
	Mix A	1578	1519
	Mix B	345	290
	Mix A	1600	1541
	Mix B	551	496
	Mix A	1806	1747
	Mix B	455	400
	Mix A	1710	1651
	Mix B	515	460
	Mix A	1770	1711

6

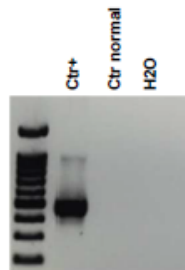
Date: 2016-01-05, RefSeq. *KMT2A* (MLL): NM_001197104.1, RefSeq. *MLLT10* (AF10): NM_004641.3



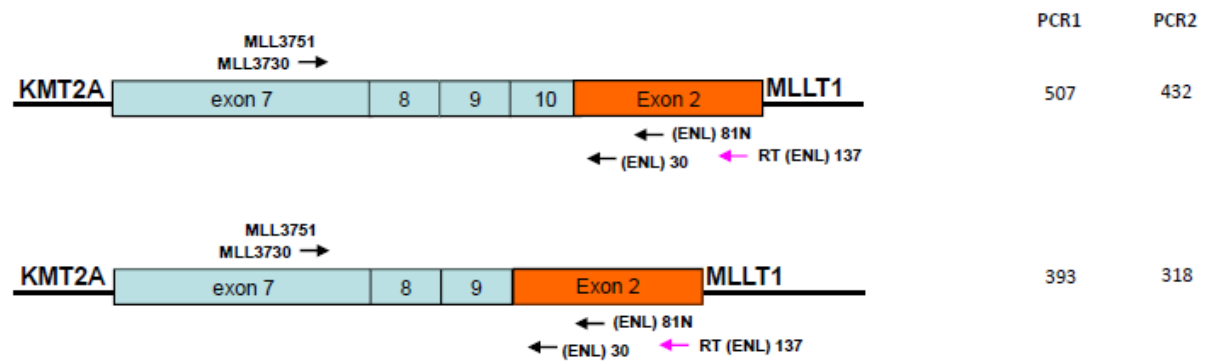
t(11;19) (q23;p13.1) KMT2A-ELL



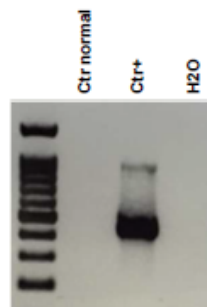
Date: 2016-01-05, RefSeq. KMT2A (MLL): NM_001197104.1, RefSeq. ELL: NM_006532.3



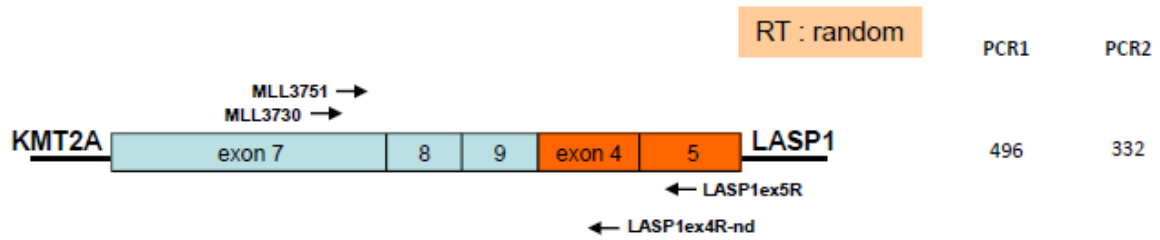
t(11;19)(q23;p13.3) KMT2A-MLLT1 (ENL)



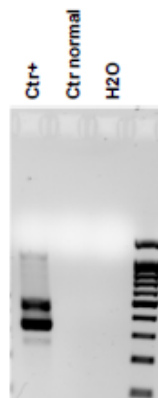
Date: 2016-01-05, RefSeq. KMT2A (MLL): NM_001197104.1, RefSeq. MLLT1 (ENL): NM_005934.3



t(11;17)(q23;q12-21) KMT2A/LASP1

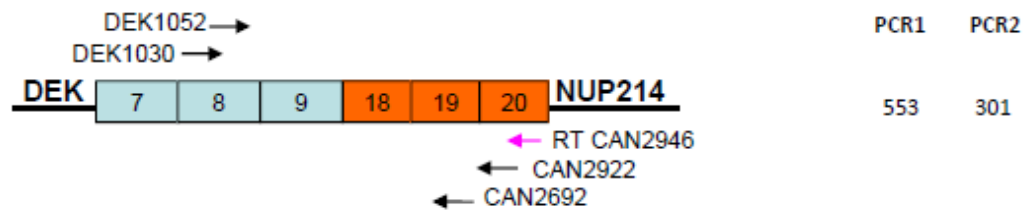


Date: 2015-08-21, RefSeq. KMT2A (MLL): NM_001197104.1, RefSeq. LASP1: NM_006148.3

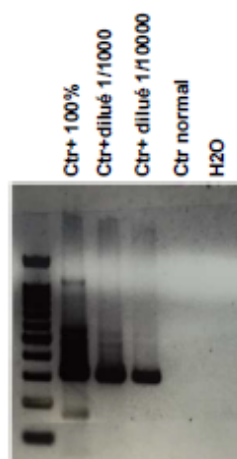


2. Translocations du panel LMA n'impliquant pas le gène *MLL* (3)

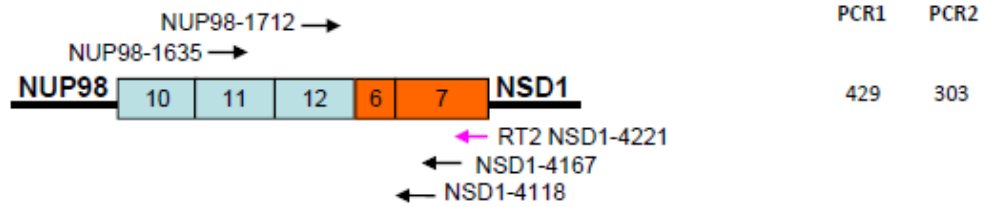
t(6;9)(p23;q34) DEK/NUP214



Date: 2014.02, RefSeq. DEK: NM_003472.3 , RefSeq. NUP214: NM_005085.3



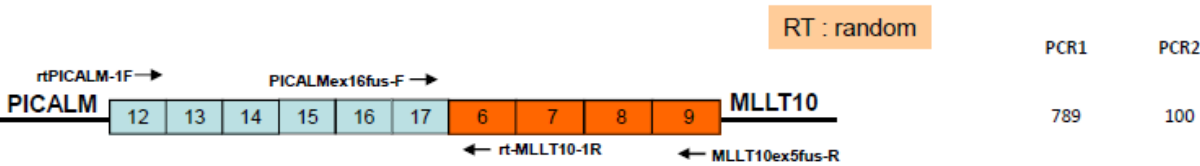
t(5;11)(q35;p15.5) NUP98/NSD1



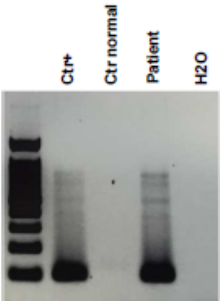
Date: 2014.02, RefSeq. NUP98: NM_016320.4 , RefSeq. NSD1: NM_022455.4



t(10;11)(p13;q14-21) PICALM-MLLT10

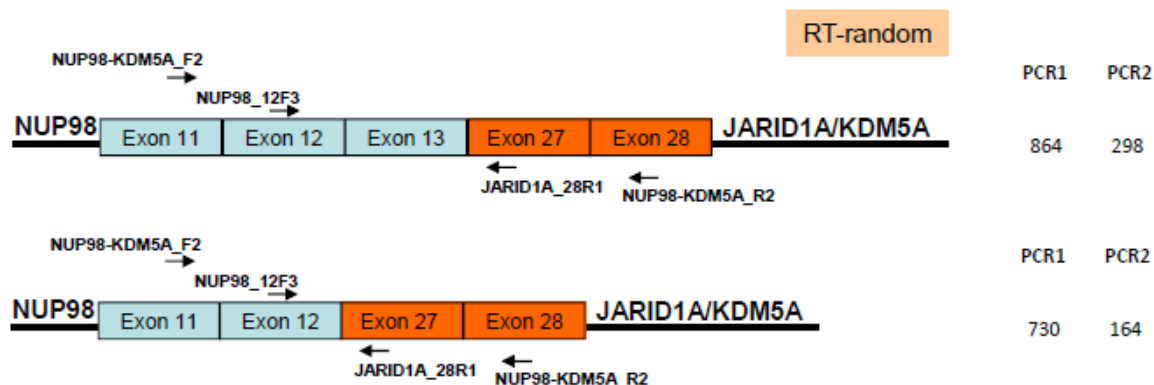


Date: 2015-12-02, RefSeq. PICALM : NM_007166, RefSeq. MLLT10 : NM_004641

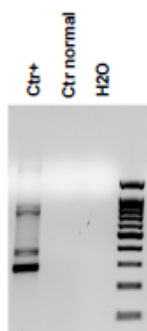


3. Translocations du panel leucémies mégacaryoblastiques (3)

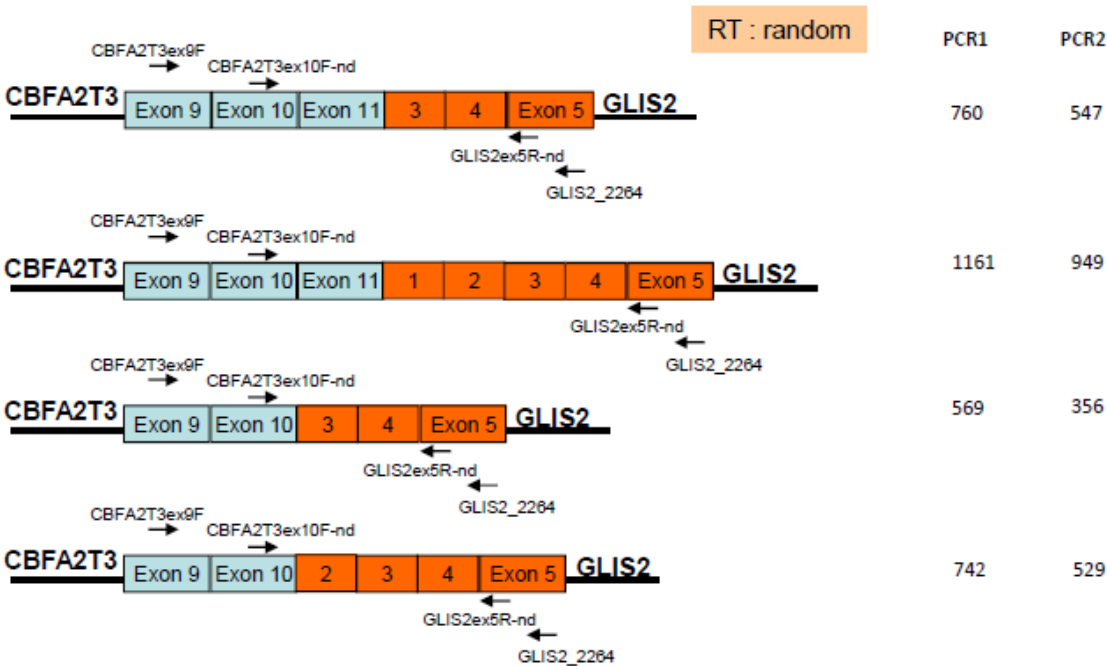
t(11;12)(p15;p13) NUP98/KDM5A M7



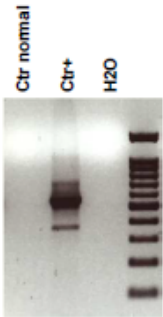
Date: 2015-10-21, RefSeq. NUP98: NM_016320.4 RefSeq. JARID1A/KDM5A: NM_001042603.2



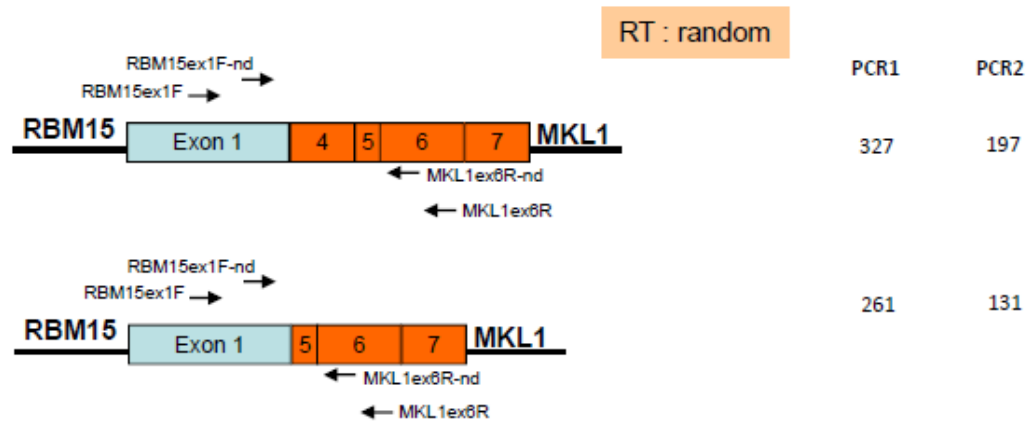
Inv(16) (p13.3;q24.3) CBFA2T3/GLIS2 M7



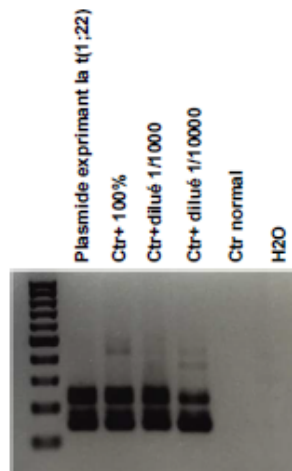
Date: 2015-08-21, RefSeq. CBFA2T3: NM_005187.5 RefSeq. GLIS2: NM_032575.2



t(1;22)(p13;q13) RBM15/MKL1 M7



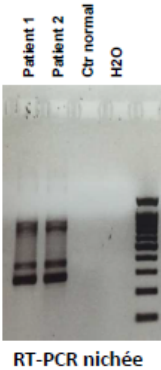
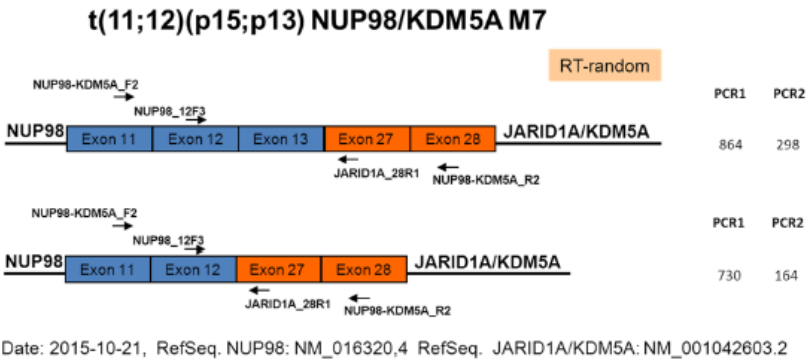
Date: 2015-02-09, RefSeq. OTT=RBM15=NM_022768.4 MAL=MKL1=NM_020831.4



ANNEXE C

Résultats d'analyse des translocations de 5 patients atteints de LMA.

Patients 1 et 2 : t(11;12) NUP98/KDM5A

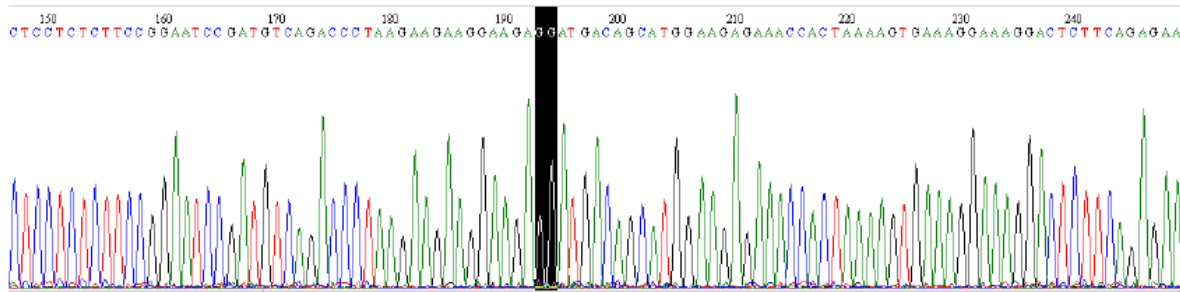


CARYOTYPE	
Patient 1	Patient 2
48,XY,t(6;13)(p21;q14),+der(6)t(6;13),+21[25]	46, XX, t(1;12)(p32;p1?2), t(11;16)(q11;q24), add(19)(p13?3),?add(21)(q11.2)[cp4]/46,XY[46]

Translocation t(11;12) non identifiée au caryotype

Patients 1 et 2 : t(11;12) NUP98/KDM5A, suite

Séquençage patient 1



Résultats de transcriptome patients 1 et 2

Patient	Gène A	Localisation gène A	Gène B	Localisation gène B	Reads couvrant le point de fusion
Patient 1	NUP98	chr11	KDM5A	chr12	280
Patient 2	NUP98	chr11	KDM5A	chr12	101

Patient	Left flanking sequence	Right flanking sequence
Patient 1	ACTCTCTCTCTCCGGAATCCGATGTCAGACCCTAAGAAGAAGGAAGAG	GATGACAGCATGGAAGAGAAACCACTAAAAGTGAAGGAAAGGACTCTTC
Patient 2	ACTCTCTCTCTCCGGAATCCGATGTCAGACCCTAAGAAGAAGGAAGAG	GATGACAGCATGGAAGAGAAACCACTAAAAGTGAAGGAAAGGACTCTTC

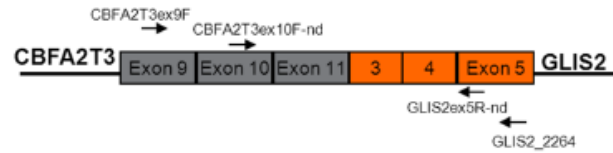


Séquençage du point de fusion

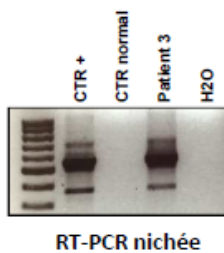
2

Patient 3 : INV16 CBFA2T3/GLIS2

Inv(16) (p13.3;q24.3) CBFA2T3/GLIS2 M7



Date: 2015-08-21, RefSeq. CBFA2T3: NM_005187.5 RefSeq. GLIS2: NM_032575.2



CARYOTYPE

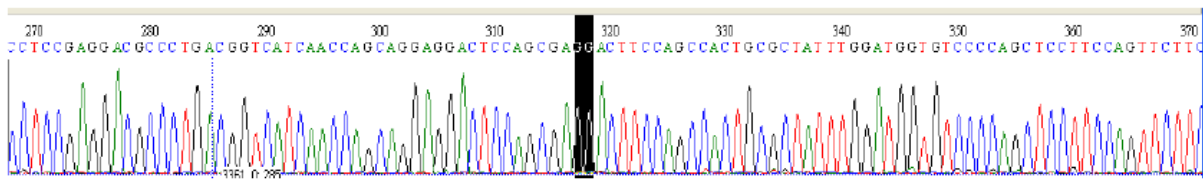
Patient 3

46,XY,t(1;16)(q21;p11.2).ish
t(1;16)(ABL2-;ABL2+,CBFB+)[22]

➡ Translocation INV16 non
identifiée au caryotype

Patient 3 : INV16 CBFA2T3/GLIS2, suite

Séquençage patient 3



Résultats de transcriptome patient 3

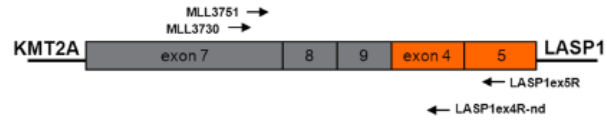
Patient	Gène A	Localisation gène A	Gène B	Localisation gène B	Reads couvrant le point de fusion
Patient 3	CBFA2T3	chr16	GLIS2	chr16	83

Patient	Left flanking sequence	Right flanking sequence
Patient 3	CCTCCGAGGACCCCTGACGGTCATCAACCAGCAGGAGGACTCCAGCGAG	GACTTCCAGCCACTGCGCTATTTGGATGGTGTCCCCAGCTCCTTCCAGTT

➡ Séquençage du point de fusion

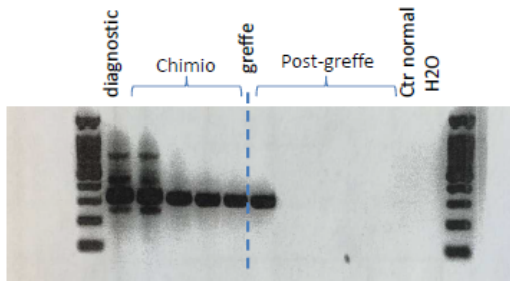
Patient 4 : t(11;17) KMT2A/LASP1

t(11;17)(q23;q12-21) KMT2A/LASP1



Date: 2015-08-21, RefSeq. KMT2A (MLL): NM_001197104.1, RefSeq. LASP1: NM_006148.3

Patient 4



RT-PCR nichée

CARYOTYPE

Patient 4

nuc ish(MLLx2)(5'MLL sep
3'MLLx1)[40/200],(TP53, D17Z1)x2[200]

↳ Translocation t(11;17) non
identifiée au caryotype

Patient 4 : t(11;17) KMT2A/LASP1, suite

Résultats de transcriptome patient 4

Patient	Gène A	Localisation gène A	Gène B	Localisation gène B	Reads couvrant le point de fusion
Patient 4	MLL	chr11	LASP1	chr17	122

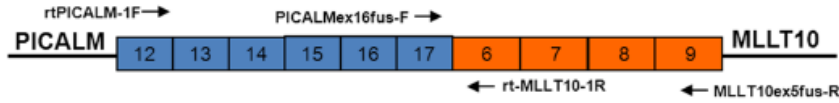
Patient	Left flanking sequence	Right flanking sequence
Patient 4	AGCAAAAAATTCCAGCAGATGGAGTCCACAGGATCAGAGTGGACTTTAAG	GTGCGCTACAAGGAGGAGTTTGAGAAGAACAAGGGCAAAGGTTTCAGCGT

 Séquençage du point de fusion

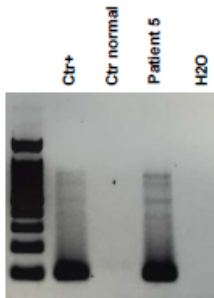
Patient 5 : t(10;11) PICALM/MLLT10

t(10;11)(p13;q14-21) PICALM-MLLT10

RT : random



Date: 2015-12-02, RefSeq. PICALM : NM_007166, RefSeq. MLLT10 : NM_004641



RT-PCR nichée

CARYOTYPE

Patient 5

46,XX,del(10)(p?11.2p?15)[3]/46,XX,ins(10;?)(p1?2;?)[2]/46,XX[26].ish ins(10;11)(p1?2;q13q2?3)(10pTEL006+, MLL+,D10S2290+)

↳ Translocation t(10;11) non identifiée au caryotype

Patient 5 : t(10;11) PICALM/MLLT10, suite

Résultats de transcriptome patient 5

Patient	Gène A	Localisation gène A	Gène B	Localisation gène B	Reads couvrant le point de fusion
Patient 5	PICALM	chr11	MLLT10	chr10	39

Patient	Left flanking sequence	Right flanking sequence
Patient 5	ACTGGCAACCAAGGTTGCACCAACAACCGCTTGGAATGCTGCAACAATG	ACTTGCTACATTTGTGATGAACAAGGAAGAGAAAGCAAAGCAGCCACTGG

 Séquençage du point de fusion

RÉFÉRENCES

- Abildgaard L, Ommen HB, Lausen B, Hasle H, Nyvold CG. A novel RT-qPCR assay for quantification of the MLL-MLLT3 fusion transcript in acute myeloid leukaemia. *Eur J Haematol* 2013;91(5):394-8.
- Akiki S, Dyer SA, Grimwade D, Ivey A, Abou-Zeid N, Borrow J, et al. NUP98-NSD1 fusion in association with FLT3-ITD mutation identifies a prognostically relevant subgroup of pediatric acute myeloid leukemia patients suitable for monitoring by real time quantitative PCR. *Genes Chromosomes Cancer* 2013;52(11):1053-64.
- Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood* 2016;127(20):2391-405.
- Balgobind BV, Hollink IH, Arentsen-Peters ST, Zimmermann M, Harbott J, Beverloo HB, et al. Integrative analysis of type-I and type-II aberrations underscores the genetic heterogeneity of pediatric acute myeloid leukemia. *Haematologica* 2011;96(10):1478-87.
- Balgobind BV, Raimondi SC, Harbott J, Zimmermann M, Alonzo TA, Auvrignon A, et al. Novel prognostic subgroups in childhood 11q23/MLL-rearranged acute myeloid leukemia: Results of an international retrospective study. *Blood* 2009;114(12):2489-96.
- Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, Sultan C. Proposed revised criteria for the classification of acute myeloid leukemia. A report of the French-American-British Cooperative Group. *Ann Intern Med* 1985;103(4):620-5.
- Borel C, Dastugue N, Cances-Lauwers V, Mozziconacci MJ, Prebet T, Vey N, et al. PICALM-MLLT10 acute myeloid leukemia: A French cohort of 18 patients. *Leuk Res* 2012;36(11):1365-9.
- Borel C, Huynh A, Chaufour X, Lousteau O, Demur C, Delabesse E, et al. Uterine chloroma, aortic thrombus and CALM/AF10 acute myeloid leukemia. *Leuk Res* 2010;34(4):e88-90.
- Burmeister T, Molkentin M, Meyer C, Lachmann N, Schwartz S, Friedrichs B, et al. Molecular monitoring of minimal residual disease in two patients with MLL-rearranged acute myeloid leukemia and haploidentical transplantation after relapse. *Exp Hematol Oncol* 2012;1(1):6.
- Busson-Le Coniat M, Salomon-Nguyen F, Hillion J, Bernard OA, Berger R. MLL-AF1q fusion resulting from t(1;11) in acute leukemia. *Leukemia* 1999;13(2):302-6.
- Cerveira N, Correia C, Doria S, Bizarro S, Rocha P, Gomes P, et al. Frequency of NUP98-NSD1 fusion transcript in childhood acute myeloid leukaemia. *Leukemia* 2003;17(11):2244-7.
- Cerveira N, Lisboa S, Correia C, Bizarro S, Santos J, Torres L, et al. Genetic and clinical characterization of 45 acute leukemia patients with MLL gene rearrangements from a single institution. *Mol Oncol* 2012;6(5):553-64.
- Cho YU, Chi HS, Park CJ, Jang S, Seo EJ. Rapid detection of prognostically significant fusion transcripts in acute leukemia using simplified multiplex reverse transcription polymerase chain reaction. *J Korean Med Sci* 2012;27(10):1155-61.

- Creutzig U, van den Heuvel-Eibrink MM, Gibson B, Dworzak MN, Adachi S, de Bont E, et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in children and adolescents: Recommendations from an international expert panel. *Blood* 2012;120(16):3187-205.
- Creutzig U, Zimmermann M, Reinhardt D, Dworzak M, Stary J, Lehnbecher T. Early deaths and treatment-related mortality in children undergoing therapy for acute myeloid leukemia: Analysis of the multicenter clinical trials AML-BFM 93 and AML-BFM 98. *J Clin Oncol* 2004;22(21):4384-93.
- De Rooij JD, Hollink IH, Arentsen-Peters ST, van Galen JF, Berna Beverloo H, Baruchel A, et al. NUP98/JARID1A is a novel recurrent abnormality in pediatric acute megakaryoblastic leukemia with a distinct HOX gene expression pattern. *Leukemia* 2013;27(12):2280-8.
- De Rooij JD, Masetti R, van den Heuvel-Eibrink MM, Cayuela JM, Trka J, Reinhardt D, et al. Recurrent genetic abnormalities can be used for risk-group stratification in pediatric AMKL: Results of a retrospective intergroup study. *Blood* 2016;127(26):3424-30.
- De Rooij JD, Zwaan CM, van den Heuvel-Eibrink M. Pediatric AML: From biology to clinical management. *J Clin Med* 2015;4(1):127-49.
- Dohner H, Estey EH, Amadori S, Appelbaum FR, Buchner T, Burnett AK, et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: Recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood* 2010;115(3):453-74.
- Gruber TA et Downing JR. The biology of pediatric acute megakaryoblastic leukemia. *Blood* 2015;126(8):943-9.
- Gruber TA, Larson Gedman A, Zhang J, Koss CS, Marada S, Ta HQ, et al. An Inv(16)(p13.3q24.3)-encoded CBFA2T3-GLIS2 fusion protein defines an aggressive subtype of pediatric acute megakaryoblastic leukemia. *Cancer Cell* 2012;22(5):683-97.
- Haferlach T, Bacher U, Kern W, Schnittger S, Haferlach C. Diagnostic pathways in acute leukemias: A proposal for a multimodal approach. *Ann Hematol* 2007;86(5):311-27.
- Harrison CJ, Hills RK, Moorman AV, Grimwade DJ, Hann I, Webb DK, et al. Cytogenetics of childhood acute myeloid leukemia: United Kingdom Medical Research Council Treatment trials AML 10 and 12. *J Clin Oncol* 2010;28(16):2674-81.
- Hollink IH, van den Heuvel-Eibrink MM, Arentsen-Peters ST, Pratcorona M, Abbas S, Kuipers JE, et al. NUP98/NSD1 characterizes a novel poor prognostic group in acute myeloid leukemia with a distinct HOX gene expression pattern. *Blood* 2011;118(13):3645-56.
- Hourigan CS et Karp JE. Minimal residual disease in acute myeloid leukaemia. *Nat Rev Clin Oncol* 2013;10(8):460-71.
- Inaba H, Zhou Y, Ablan O, Adachi S, Auvrignon A, Beverloo HB, et al. Heterogeneous cytogenetic subgroups and outcomes in childhood acute megakaryoblastic leukemia: A retrospective international study. *Blood* 2015;126(13):1575-84.
- Kaspers GJ, Zimmermann M, Reinhardt D, Gibson BE, Tamminga RY, Aleinikova O, et al. Improved outcome in pediatric relapsed acute myeloid leukemia: Results of a randomized trial on liposomal daunorubicin by the International BFM Study Group. *J Clin Oncol* 2013;31(5):599-607.

- Ko K, Kwon MJ, Woo HY, Park H, Park CH, Lee ST, Kim SH. Identification of mixed lineage leukemia gene (MLL)/MLLT10 fusion transcripts by reverse transcription-PCR and sequencing in a case of AML with a FISH-negative cryptic MLL rearrangement. *Ann Lab Med* 2015;35(4):469-71.
- Kumon K, Kobayashi H, Maseki N, Sakashita A, Sakurai M, Tanizawa A, et al. Mixed-lineage leukemia with t(10;11)(p13;q21): An analysis of AF10-CALM and CALM-AF10 fusion mRNAs and clinical features. *Genes Chromosomes Cancer* 1999;25(1):33-9.
- Lie SO, Abrahamsson J, Clausen N, Forestier E, Hasle H, Hovi L, et al. Treatment stratification based on initial in vivo response in acute myeloid leukaemia in children without Down's syndrome: Results of NOPHO-AML trials. *Br J Haematol* 2003;122(2):217-25.
- Marschalek R. MLL leukemia and future treatment strategies. *Arch Pharm (Weinheim)* 2015;348(4):221-8.
- Masetti R, Pigazzi M, Togni M, Astolfi A, Indio V, Manara E, et al. CBFA2T3-GLIS2 fusion transcript is a novel common feature in pediatric, cytogenetically normal AML, not restricted to FAB M7 subtype. *Blood* 2013;121(17):3469-72.
- Meshinchi S, Alonzo TA, Stirewalt DL, Zwaan M, Zimmerman M, Reinhardt D, et al. Clinical implications of FLT3 mutations in pediatric AML. *Blood* 2006;108(12):3654-61.
- Meyer C, Hofmann J, Burmeister T, Groger D, Park TS, Emerenciano M, et al. The MLL recombinome of acute leukemias in 2013. *Leukemia* 2013;27(11):2165-76.
- Ney Garcia DR, de Souza MT, de Figueiredo AF, Othman MA, Rittscher K, Abdelhay E, et al. Molecular characterization of KMT2A fusion partner genes in 13 cases of pediatric leukemia with complex or cryptic karyotypes. *Hematol Oncol* 2016 [Epub ahead of print].
- Ostronoff F, Othus M, Gerbing RB, Loken MR, Raimondi SC, Hirsch BA, et al. NUP98/NSD1 and FLT3/ITD coexpression is more prevalent in younger AML patients and leads to induction failure: A COG and SWOG report. *Blood* 2014;124(15):2400-7.
- Pallisgaard N, Hokland P, Riishoj DC, Pedersen B, Jorgensen P. Multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction for simultaneous screening of 29 translocations and chromosomal aberrations in acute leukemia. *Blood* 1998;92(2):574-88.
- Pigazzi M, Masetti R, Bresolin S, Beghin A, Di Meglio A, Gelain S, et al. MLL partner genes drive distinct gene expression profiles and genomic alterations in pediatric acute myeloid leukemia: An AIEOP study. *Leukemia* 2011;25(3):560-3.
- Pui CH, Carroll WL, Meshinchi S, Arceci RJ. Biology, risk stratification, and therapy of pediatric acute leukemias: An update. *J Clin Oncol* 2011;29(5):551-65.
- Rao RC et Dou Y. Hijacked in cancer: The KMT2 (MLL) family of methyltransferases. *Nat Rev Cancer* 2015;15(6):334-46.
- Reinhardt D, Diekamp S, Langebrake C, Ritter J, Sary J, Dworzak M, et al. Acute megakaryoblastic leukemia in children and adolescents, excluding Down's syndrome: Improved outcome with intensified induction treatment. *Leukemia* 2005;19(8):1495-6.
- Reynaert N, Vandenberghe P, Boeckx N, Renard M, Uyttebroeck A, Labarque V. Translocation t(1;11)(q21;q23): A new finding in congenital acute myeloid leukemia. *Leuk Lymphoma* 2014;55(6):1435-6.

- Rubnitz JE, Raimondi SC, Tong X, Srivastava DK, Razzouk BI, Shurtleff SA, et al. Favorable impact of the t(9;11) in childhood acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2002;20(9):2302-9.
- Sandahl JD, Coenen EA, Forestier E, Harbott J, Johansson B, Kerndrup G, et al. t(6;9)(p22;q34)/DEK-NUP214-rearranged pediatric myeloid leukemia: An international study of 62 patients. *Haematologica* 2014;99(5):865-72.
- Sander A, Zimmermann M, Dworzak M, Fleischhack G, von Neuhoff C, Reinhardt D, et al. Consequent and intensified relapse therapy improved survival in pediatric AML: Results of relapse treatment in 379 patients of three consecutive AML-BFM trials. *Leukemia* 2010;24(8):1422-8.
- Savage NM, Kota V, Manaloor EJ, Kulharya AS, Pierini V, Mecucci C, Ustun C. Acute leukemia with PICALM-MLLT10 fusion gene: Diagnostic and treatment struggle. *Cancer Genet Cytogenet* 2010;202(2):129-32.
- Schweitzer J, Zimmermann M, Rasche M, von Neuhoff C, Creutzig U, Dworzak M, et al. Improved outcome of pediatric patients with acute megakaryoblastic leukemia in the AML-BFM 04 trial. *Ann Hematol* 2015;94(8):1327-36.
- Slovak ML, Gundacker H, Bloomfield CD, Dewald G, Appelbaum FR, Larson RA, et al. A retrospective study of 69 patients with t(6;9)(p23;q34) AML emphasizes the need for a prospective, multicenter initiative for rare 'poor prognosis' myeloid malignancies. *Leukemia* 2006;20(7):1295-7.
- Takeda A, Shimada A, Hamamoto K, Yoshino S, Nagai T, Fujii Y, et al. Detection of RBM15-MKL1 fusion was useful for diagnosis and monitoring of minimal residual disease in infant acute megakaryoblastic leukemia. *Acta Med Okayama* 2014;68(2):119-23.
- Tarlock K, Alonzo TA, Moraleda PP, Gerbing RB, Raimondi SC, Hirsch BA, et al. Acute myeloid leukaemia (AML) with t(6;9)(p23;q34) is associated with poor outcome in childhood AML regardless of FLT3-ITD status: A report from the Children's Oncology Group. *Br J Haematol* 2014;166(2):254-9.
- Thiollier C, Lopez CK, Gerby B, Ignacimoutou C, Poglio S, Duffourd Y, et al. Characterization of novel genomic alterations and therapeutic approaches using acute megakaryoblastic leukemia xenograft models. *J Exp Med* 2012;209(11):2017-31.
- Von Neuhoff C, Reinhardt D, Sander A, Zimmermann M, Bradtke J, Betts DR, et al. Prognostic impact of specific chromosomal aberrations in a large group of pediatric patients with acute myeloid leukemia treated uniformly according to trial AML-BFM 98. *J Clin Oncol* 2010;28(16):2682-9.