

**THESE  
POUR LE DIPLOME D'ETAT  
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**Soutenue publiquement le 1<sup>er</sup> Octobre 2024  
Par Madame Wissal CHKILI**

---

**ÉVALUATION DE LA PLACE DE LA CARTOGRAPHIE OPTIQUE DU  
GÉNOME DANS LA PRISE EN CHARGE CYTOGÉNÉTIQUE DES SYNDROMES  
MYÉLODYSPLASIQUES**

---

**Membres du jury :**

**Président :**

Monsieur le Professeur Thierry BROUSSEAU, PU-PH, CHU de Lille

**Directrice :**

Madame le Professeur Catherine ROCHE-LESTIENNE, PU-PH, CHU de Lille

**Assesseurs :**

Madame le Professeur Marie-Bérengère TROADEC, PU-PH, CHU de Brest

Madame le Docteur Sophie KALTENBACH, PH, Hôpital Necker-Enfants malades, AP-HP

Monsieur le Docteur Adrien DANIEL, Assistant spécialiste, CHU de Lille/CH de Dunkerque



# LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE :

## Université de Lille

Président  
Premier Vice-président  
Vice-présidente Formation  
Vice-président Recherche  
Vice-président Ressources humaines  
Directrice Générale des Services

Régis BORDET  
Etienne PEYRAT  
Corinne ROBACZEWSKI  
Olivier COLOT  
Bertrand DÉCAUDIN  
Anne-Valérie CHIRIS-FABRE

## UFR3S

Doyen  
Premier Vice-Doyen, Vice-Doyen RH, SI et Qualité  
Vice-Doyenne Recherche  
Vice-Doyen Finances et Patrimoine  
Vice-Doyen International  
Vice-Doyen Coordination pluriprofessionnelle et Formations sanitaires  
Vice-Doyenne Formation tout au long de la vie  
Vice-Doyen Territoire-Partenariats  
Vice-Doyen Santé numérique et Communication  
Vice-Doyenne Vie de Campus  
Vice-Doyen étudiant

Dominique LACROIX  
Hervé HUBERT  
Karine FAURE  
Damien CUNY  
Vincent DERAMECOURT  
Sébastien D'HARANCY  
Caroline LANIER  
Thomas MORGENROTH  
Vincent SOBANSKI  
Anne-Laure BARBOTIN  
Valentin ROUSSEL

## Faculté de Pharmacie

Doyen  
Premier Assesseur et  
Assesseur à la Santé et à l'Accompagnement  
Assesseur à la Vie de la Faculté et  
Assesseur aux Ressources et Personnels  
Responsable des Services  
Représentant étudiant  
Chargé de mission 1er cycle  
Chargée de mission 2eme cycle  
Chargé de mission Accompagnement et Formation à la Recherche  
Chargé de mission Relations Internationales  
Chargée de Mission Qualité  
Chargé de mission dossier HCERES

Delphine ALLORGE  
  
Anne GARAT  
  
Emmanuelle LIPKA  
Cyrille PORTA  
Honoré GUISE  
Philippe GERVOIS  
Héloïse HENRY  
Nicolas WILLAND  
Christophe FURMAN  
Marie-Françoise ODOU  
Réjane LESTRELIN

## Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers (PU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie et Santé publique	81
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie	82
M.	DÉCAUDIN	Bertrand	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81

M.	DINE	Thierry	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie	82
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie - Virologie	82
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	ODOU	Pascal	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	POULAIN	Stéphanie	Hématologie	82
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	STAELS	Bart	Biologie cellulaire	82

### Professeurs des Universités (PU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Biophysique - RMN	85
M.	BERLARBI	Karim	Physiologie	86
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie	87
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie	87
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques	87
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Biophysique - RMN	85
Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie thérapeutique	86
M.	DEPREZ	Benoît	Chimie bioinorganique	85
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie	86
M.	ELATI	Mohamed	Biomathématiques	27
M.	FOLIGNÉ	Benoît	Bactériologie - Virologie	87

Mme	FOULON	Catherine	Chimie analytique	85
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie et Santé publique	86
M.	GOOSSENS	Jean-François	Chimie analytique	85
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie	86
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique	86
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques	26
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie cellulaire	87
Mme	LESTRELIN	Réjane	Biologie cellulaire	87
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie analytique	85
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie physique	85
M.	MILLET	Régis	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	MUHR-TAILLEUX	Anne	Biochimie	87
Mme	PERROY	Anne-Catherine	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	RIVIÈRE	Céline	Pharmacognosie	86
Mme	ROMOND	Marie-Bénédicte	Bactériologie - Virologie	87
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie	86
M.	SERGHERAERT	Éric	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	WILLAND	Nicolas	Chimie organique	86

#### Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers (MCU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	CUVELIER	Élodie	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
Mme	DANEL	Cécile	Chimie analytique	85

Mme	DEMARET	Julie	Immunologie	82
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie et Santé publique	81
Mme	GENAY	Stéphanie	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
M.	GRZYCH	Guillaume	Biochimie	82
Mme	HENRY	Héloïse	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
M.	LANNOY	Damien	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	MASSE	Morgane	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
Mme	ODOU	Marie-Françoise	Bactériologie - Virologie	82

#### Maîtres de Conférences des Universités (MCU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	ALIOUAT	Cécile-Marie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	ANTHÉRIEU	Sébastien	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie	87
M.	BANTUBUNGI-BLUM	Kadiombo	Biologie cellulaire	87
M.	BERTHET	Jérôme	Biophysique - RMN	85
M.	BOCHU	Christophe	Biophysique - RMN	85
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie	86
M.	BOSC	Damien	Chimie thérapeutique	86
Mme	BOU KARROUM	Nour	Chimie bioinorganique	
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie	87
Mme	CARON-HOUDE	Sandrine	Biologie cellulaire	87
Mme	CARRIÉ	Hélène	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	CHARTON	Julie	Chimie organique	86

M.	CHEVALIER	Dany	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques	85
M.	DHIFLI	Wajdi	Biomathématiques	27
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire	87
M.	EL BAKALI	Jamal	Chimie thérapeutique	86
M.	FARCE	Amaury	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	FLIPO	Marion	Chimie organique	86
M.	FRULEUX	Alexandre	Sciences végétales et fongiques	
M.	FURMAN	Christophe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie	87
Mme	GOOSSENS	Laurence	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie et Santé publique	86
M.	HAMONIER	Julien	Biomathématiques	26
Mme	HAMOUDI-BEN YELLES	Chérifa-Mounira	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	HANNOThIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie	86
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie	87
M.	KAMBIA KPAKPAGA	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	KARROUT	Younes	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie	87
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie analytique	85
Mme	LEHMANN	Hélène	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	LELEU	Natascha	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	LIBERELLE	Maxime	Biophysique - RMN	
Mme	LOINGEVILLE	Florence	Biomathématiques	26

Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie	86
M.	MENETREY	Quentin	Bactériologie - Virologie	
M.	MOREAU	Pierre-Arthur	Sciences végétales et fongiques	87
M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques	85
M.	PIVA	Frank	Biochimie	85
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie et Santé publique	86
M.	POURCET	Benoît	Biochimie	87
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques / Innovations pédagogiques	85
Mme	RAVEZ	Séverine	Chimie thérapeutique	86
Mme	ROGEL	Anne	Immunologie	
M.	ROSA	Mickaël	Hématologie	
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie	86
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie	87
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie - Virologie	87
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie	87
M.	VILLEMAGNE	Baptiste	Chimie organique	86
M.	WELTI	Stéphane	Sciences végétales et fongiques	87
M.	YOUS	Saïd	Chimie thérapeutique	86
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques	85

### Professeurs certifiés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
Mme	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	HUGES	Dominique	Anglais
Mme	KUBIK	Laurence	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

### Professeurs Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	DAO PHAN	Haï Pascal	Chimie thérapeutique	86
M.	DHANANI	Alban	Droit et Economie pharmaceutique	86

### Maîtres de Conférences Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	COUSEIN	Etienne	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	
Mme	CUCCHI	Malgorzata	Biomathématiques	85
M.	DUFOSSEZ	François	Biomathématiques	85
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	85
M.	GILLOT	François	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	MITOUMBA	Fabrice	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	86
M.	PELLETIER	Franck	Droit et Economie pharmaceutique	86

### Assistants Hospitalo-Universitaire (AHU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	BOUDRY	Augustin	Biomathématiques	
Mme	DERAMOUDT	Laure	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	
Mme	GILLIOT	Sixtine	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	
M.	GISH	Alexandr	Toxicologie et Santé publique	
Mme	NEGRIER	Laura	Chimie analytique	

### Hospitalo-Universitaire (PHU)

	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	DESVAGES	Maximilien	Hématologie	
Mme	LENSKI	Marie	Toxicologie et Santé publique	

### Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherche (ATER)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	BERNARD	Lucie	Physiologie	
Mme	BARBIER	Emeline	Toxicologie	
Mme	COMAPGNE	Nina	Chimie Organique	
Mme	COULON	Audrey	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	
M.	DUFOSSEZ	Robin	Chimie physique	
Mme	KOUAGOU	Yolène	Sciences végétales et fongiques	
M.	MACKIN MOHAMOUR	Synthia	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	

### Enseignant contractuel

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
M.	MARTIN MENA	Anthony	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
Mme	NDIAYE-BOIDIN	Maguette	Anglais
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques

*UFR3S-Pharmacie*

**L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises  
dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs.**



# REMERCIEMENTS

A mon président de jury,

## **Monsieur le Professeur Thierry BROUSSEAU**

Professeur des Universités – Praticien Hospitalier  
Chef de Pôle - Pôle de Biologie Pathologie Génétique - Centre Hospitalier  
Universitaire de Lille

Vous me faites l'honneur de présider ce jury de thèse. Soyez assuré de ma reconnaissance et de mon profond respect.

À mes assesseurs,

## **Madame le Professeur Marie-Bérengère TROADEC**

Professeur des Universités – Praticien Hospitalier  
Laboratoire de cytogénétique- CHRU de Brest

Vous me faites l'honneur de participer à ce jury et d'apporter votre expérience pour juger ce travail. Soyez assurée de mon profond respect et de toute ma considération.

## **Madame le Docteur Sophie KALTENBACH**

Praticien Hospitalier  
Service d'Hématologie biologique- Hôpital Necker-Enfants Malades- AP-HP

Je vous remercie d'avoir accepté avec enthousiasme de faire partie de mon jury afin d'évaluer mon travail et de partager vos connaissances et vos réflexions sur ce sujet. Soyez assurée de ma sincère reconnaissance.

**Monsieur le Docteur Adrien DANIEL**

Assistant à Temps Partagé

Service d'hématologie- Centre Hospitalier Universitaire de Lille / Centre Hospitalier de Dunkerque

Je vous remercie d'avoir accepté d'évaluer cette thèse et pour l'intérêt porté à ce travail ainsi que votre disponibilité. Recevez ici le témoignage de mon profond respect et l'expression de toute ma gratitude.

À ma directrice de thèse,

**Madame le Professeur Catherine ROCHE-LESTIENNE**

Professeur des Universités –Praticien Hospitalier

Institut de génétique médicale, Centre Hospitalier Universitaire de Lille

Je vous remercie de m'avoir fait l'honneur d'accepter de m'encadrer pour cette thèse d'exercice.

Ce fût un réel plaisir de travailler avec vous sur ce sujet. Votre disponibilité ainsi que votre bienveillance tout au long de ce travail m'ont été précieuses. Soyez assurée de ma gratitude et de mon profond respect.

Je tiens également à remercier,

**Pauline**, merci pour ta disponibilité, ta rigueur et ta bienveillance. Je te remercie d'avoir pris le temps de répondre à mes (nombreuses) questions et pour tes remarques pertinentes. Tu es une cytogénéticienne brillante, je te souhaite le meilleur pour la suite !

**Agnès**, je te remercie pour ton soutien, tes encouragements et tes précieux conseils. En plus de tes qualités professionnelles, tu es une personne authentique dotée d'une grande humanité et générosité, tu sais apporter de la légèreté et de la joie autour de toi. Merci infiniment !

**Hélène**, merci pour tes remarques et conseils éclairés. Tes connaissances et ton intérêt pour la discipline sont très enrichissants et inspirants ! Je te remercie également pour ta gentillesse, ta positivité et ton humilité. Je suis ravie d'avoir eu l'opportunité de travailler avec toi !

**Sonia et Élise**, merci pour votre chaleur humaine et votre bonne humeur !

**L'équipe de secrétaires et techniciens de l'institut de génétique médicale du CHU de Lille**, en particulier Étienne, Julien, Noémie, Odile et Virginie : ce travail n'aurait pas été possible sans vous. Mille mercis !

**Les biologistes, techniciens et secrétaires du laboratoire du Centre Hospitalier de Tourcoing**, qui ont connu mes débuts en biologie médicale. Merci de m'avoir offert un accueil aussi chaleureux dans le Nord !

**Les biologistes et techniciens du laboratoire de Biochimie du CHU de Lille**, en particulier Amel, Patrice, Lulu, Caroline, JD, Coco, Sylvie, Phiphi, Jacob, Noémie et Aurore. J'ai de très bons souvenirs au PTI de biochimie grâce à vous, merci infiniment !

**Les biologistes et techniciens de l'institut d'hématologie- transfusion du CHU de Lille.** Merci de m'avoir fait découvrir cette belle discipline qu'est l'hématologie et pour votre confiance ainsi que votre disponibilité.

**Les biologistes et techniciens de l'institut d'immunologie du CHU de Lille,** en particulier Julie, Aurore et Mathieu. Merci pour vos enseignements, votre disponibilité et votre bienveillance !

**Les biologistes, techniciens et secrétaires du laboratoire du centre Hospitalier de Valenciennes,** en particulier Claire, Benoit, Quentin et Justine. Merci pour votre accueil, votre confiance, vos enseignements et vos conseils.

**Enfin, je souhaite dédier cette thèse :**

**À mon Papa,** Babati, quelques mots ne suffisent pas à exprimer ma profonde gratitude pour tout ce que tu as fait pour moi. Tu as toujours été d'un soutien indéfectible et m'as offert un amour inconditionnel. Merci de m'avoir toujours encouragée à donner le meilleur de moi-même et de m'en avoir donné les moyens. Merci pour tout Papa !

**À Sophia et Manal,** mes grandes sœurs chéries. Il paraît qu'on choisit ses amis mais pas sa famille. J'ai une chance inouïe car j'ai les sœurs les plus formidables qui soient. Merci pour votre soutien, votre amour et votre bienveillance. Vous êtes des modèles pour moi, je suis si fière de vous !

**À Dounia,** ma petite sœur chérie. Loin des yeux, près du cœur ! Tu me manques beaucoup !

**À ma Mamie Rita,** tu as été pour moi un exemple de bonté et de générosité. Tu n'es plus là où tu étais, mais tu es partout là où je suis.

**À Paul-Élie**, mon plus grand soutien. Il est difficile de trouver des mots assez forts pour te remercier pour tout ce que tu fais pour moi. Merci pour tes encouragements infaillibles tout au long de ce travail malgré les hauts et les bas et pour ton soutien indéfectible en toute circonstance. Merci pour ta patience, ta sagesse et ton amour. Merci pour ces belles années et toutes celles qui nous attendent !

**À mes beaux-frères Fahd et Anthony**, j'ai découvert grâce à vous les joies d'avoir des grands frères. Merci pour votre bonne humeur et votre bienveillance.

**À Tata Mouna**, tu es pour moi un modèle de résilience, de gentillesse et de générosité. Merci pour ta présence et pour ton soutien !

**À Chaymae et Mamoun**, merci infiniment pour vos encouragements et de m'avoir permis de vivre ce beau moment à quelques semaines de ma soutenance, c'était magique ! Vive les mariés !

**À ma tante Amina**, tu as toujours été là pour mes sœurs et moi. Merci pour ton amour, ta générosité et ton si beau sourire qui a marqué mon enfance. Tu allies la rigueur d'esprit à la chaleur du cœur. Merci pour tout !

**À mon oncle Najib**, tu m'as beaucoup appris. Je te dédie cette thèse car je sais que tu y accordes beaucoup d'importance. Merci pour tous tes précieux conseils et ta gentillesse !

**À Caroline, Didier, Lise et Simon**, merci à Paul-Élie de m'avoir permis de vous connaître. Je tiens à vous exprimer toute ma gratitude pour votre soutien et vos encouragements tout au long de ce parcours. Votre présence bienveillante a été une véritable source de force pour moi. Je vous en suis profondément reconnaissante !

**À Sanaa**, si on m'avait dit, la première fois qu'on s'est rencontrées en classe de quatrième, que tu allais changer ma vie, je ne l'aurais jamais cru. Et pourtant, c'est exactement ce que tu as fait. Quelques mots ne suffiront jamais à exprimer toute ma gratitude, alors je vais simplement te remercier d'être la personne extraordinaire que tu es !

**À Mimi**, il y a des amis, il y a la famille, et puis il y a les amis qui deviennent la famille. Je suis tellement reconnaissante de t'avoir dans ma vie, Nams. Tu es une perle rare, une véritable pépite, et j'ai la chance immense de t'appeler ma meilleure amie. Merci d'être toujours là, avec les mots justes, de me conseiller et de m'accompagner. Merci pour tous ces souvenirs inoubliables gravés dans ma mémoire, et pour ceux à venir !

**À Nono**, merci pour ces belles années et les magnifiques moments que nous avons passés ensemble. Je tiens à te rappeler que tu es une personne extraordinaire au grand cœur. J'ai énormément de chance de t'avoir dans ma vie !

**À Darko**, merci d'être la personne généreuse, brillante et inspirante que tu es. Tu as toujours cru en moi et m'as constamment encouragée. Je me souviens avec émotion de nos débuts à la faculté de pharmacie de Strasbourg et je suis fière du chemin que nous avons parcouru. Partager cette nouvelle étape avec toi est un véritable honneur. À tous nos souvenirs passés et à ceux qui nous attendent !

**À Caroline et Lorenzo**, vous avez été mes premiers amis à Strasbourg, et c'est en grande partie grâce à vous que je me suis tout de suite sentie à la maison. Que de chemin parcouru depuis cette PACES ! Je suis si fière de vous et de tout ce que vous avez accompli !

**À Louis et Juliette**, un grand merci pour l'Ovomaltine, qui m'a littéralement sauvé la vie ! À tous nos souvenirs et péripéties du concours que vous avez su égayer et que je n'oublierai jamais. Vous êtes les personnes les plus drôles que je connaisse, et je suis tellement fière de vous et des supers pharmaciens hospitaliers que vous êtes devenus !

**À Marc**, mon premier ami dans le Nord et mon acolyte d'internat ! Merci de m'avoir accueilli dans cette région avec la chaleur si caractéristique des nordistes. Pour toutes nos discussions interminables et nos éternels débats, je suis reconnaissante d'avoir partagé ces moments avec toi. Merci d'avoir embelli ces trois dernières années. Tu es une personne formidable, je te souhaite tout le bonheur et l'épanouissement que tu mérites !

**À Amine**, merci d'être le rayon de soleil qui illumine la grisaille du Nord ! Ta joie de vivre et ta bonne humeur ont été une véritable bouffée d'air frais ces dernières années. Tes encouragements sincères et ta bienveillance m'ont profondément touchée. Merci d'être toi, tout simplement ! Merci pour tout !

**À Joan**, tu es la personne la plus gentille que je connaisse. Merci d'avoir été comme une grande sœur pour moi tout au long de cet internat. Ton soutien et ta bienveillance m'ont tant apporté, et je me sens extrêmement chanceuse d'avoir partagé ces précieux moments avec toi !

**À Manon D**, un grand merci pour ton authenticité, ta sincérité et tes conseils toujours aussi éclairés !

**À Émeline G**, merci pour ta sagesse et ta gentillesse ! Tu es une jeune femme brillante et très inspirante, je suis certaine que tu accompliras de grandes choses !

**À Denys**, mon super co-interne valenciennois ! Merci de m'avoir supporté pendant ces 6 mois, merci pour ta bienveillance et ton grand cœur !

**À Ronny**, merci pour ta positivité et ta bonne humeur contagieuse ! Je vous souhaite plein de belles choses pour l'avenir avec Raph !

**À Sarah**, merci pour ta bienveillance et ta gentillesse qui m'ont beaucoup aidée à une période où j'étais encore une bébé interne pleine de doutes et de remises en question. Heureusement que tu étais là, merci du fond du cœur !

**À Nawal**, merci pour ta douceur et ta générosité ! Je suis ravie que nos chemins se soient croisés ! Je vous souhaite le meilleur pour la suite avec Axel !

**À tous mes co-internes** Ilyes B, Grégoire M, Rémi B, Thomas R, Axel F, Cholé L, Mélinda D, Pauline M, Guillaume Co, Benjamin P, Augustin B, Maxime D, Morgane C, Cheyma T, Kélian S, Guillaume Ch, Cynthia S et Nicolas P. Merci pour ces semestres, merci pour ces bons moments de partage !

**À tous les autres internes que je n'ai pas eu la chance de croiser en stage** mais qui ont, d'une manière ou d'une autre, marqué ces années d'internat : Manon F, Juliette R, Nicolas N, Guillaume D, Leila B, Thomas S, Fanny L, Charlotte R, Nolan V, Anne-Claire B, Julien M, Fabien C, Ramzi B, Emeline M, Sophie B, Mahdi O. Merci à vous !

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à tous les maitres, enseignants et professeurs qui m'ont accompagnée sur le chemin de l'apprentissage de la maternelle jusqu'à aujourd'hui. Je vous suis infiniment reconnaissante !

Enfin, je dédie ce travail à toutes les personnes touchées, de près ou de loin, par cette maladie : patients, familles et personnel soignant, qui font preuve d'une résilience admirable.

# TABLE DES MATIERES

<b>Remerciements</b> .....	<b>13</b>
<b>Table des matières</b> .....	<b>21</b>
<b>Liste des abréviations</b> .....	<b>23</b>
<b>Liste des tableaux</b> .....	<b>24</b>
<b>Liste des figures</b> .....	<b>25</b>
<b>Introduction</b> .....	<b>26</b>
<b>I. SMD : généralités</b> .....	<b>26</b>
A. Définition .....	26
B. Épidémiologie .....	27
C. Physiopathologie.....	28
1) Modèle évolutif des SMD : .....	29
2) Mutations drivers dans les SMD.....	30
3) Haplo-insuffisance : exemple de la délétion 5q.....	31
4) Anomalies du microenvironnement.....	33
5) Anomalies immunologiques .....	33
D. Clinique .....	34
E. Examens biologiques.....	35
1) Cytologie.....	35
a) Sang.....	35
i) Lignée érythroïde .....	35
ii) Lignée granuleuse .....	35
iii) Lignée mégacaryocytaire.....	36
b) Moelle :.....	37
i) Dysérythropoïèse.....	37
ii) Dysgranulopoïèse .....	39
iii) Dysmégacaryopoïèse .....	40
iv) Décompte de blastes .....	41
2) Cytométrie en flux.....	41
3) Cytogénétique .....	43
a) Intérêt dans le diagnostic .....	43
b) Intérêt comme marqueur pronostic .....	46
4) Biologie moléculaire .....	48
F. Classifications .....	50
1) La classification OMS 2022.....	50
2) La classification ICC 2022 .....	52
G. Scores pronostiques .....	53
1) Score IPSS .....	54
2) Score IPSS-R .....	55
3) Score IPSS-M.....	56
H. Prise en charge.....	57
1) Traitement des SMD de bas risque.....	58
a) Traitement de l'anémie.....	58

b) Traitement de la neutropénie .....	59
c) Traitement de la thrombopénie .....	60
2) Traitement des SMD de haut risque.....	60
a) Chimiothérapie .....	60
b) Agents hypométhylants.....	61
c) Greffe de CSH.....	61
<b>II. La cartographie optique du génome : un nouvel outil .....</b>	<b>63</b>
A. Principe .....	63
B. Apport en oncohématologie.....	64
<b>Objectifs de l'étude.....</b>	<b>66</b>
<b>Matériels et méthodes .....</b>	<b>67</b>
<b>I. Patients.....</b>	<b>67</b>
<b>II. Cytogénétique conventionnelle .....</b>	<b>69</b>
<b>III. Hémogramme et cytologie .....</b>	<b>70</b>
<b>IV. Biologie moléculaire .....</b>	<b>70</b>
<b>V. Analyse par COG.....</b>	<b>70</b>
A. Extraction de l'ADN de THPM .....	71
B. Marquage.....	71
C. Dépôt sur puce.....	72
D. Analyse informatique .....	72
E. Interprétation.....	75
<b>Résultats .....</b>	<b>77</b>
<b>I. Cas à cytogénétique conventionnelle normale .....</b>	<b>78</b>
<b>II. Cas à cytogénétique avec au moins une anomalie.....</b>	<b>79</b>
<b>III. Comparaison des scores pronostiques .....</b>	<b>83</b>
<b>Discussion.....</b>	<b>86</b>
<b>I. Les échecs en COG et au caryotype.....</b>	<b>86</b>
<b>II. Les anomalies additionnelles vues en COG.....</b>	<b>86</b>
A. KMT2A-PTD.....	87
B. Chromoanagenesis.....	88
C. Réarrangement MECOM .....	89
D. Amplification de <i>ERG</i> .....	89
E. Délétion 7q non confirmée par la FISH .....	90
<b>III. Les anomalies non vues en COG .....</b>	<b>90</b>
<b>IV. Les scores pronostiques .....</b>	<b>91</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>93</b>
<b>Bibliographie .....</b>	<b>95</b>
<b>Annexes .....</b>	<b>106</b>

# LISTE DES ABREVIATIONS

**ADNg:** ADN génomique

**AMM:** Autorisation de mise sur le marché

**CCUS:** Cytopénie clonale de signification indéterminée

**CHIP:** Hématopoïèse clonale de signification indéterminée

**CNV:** Copy number Variant

**COG:** Cartographie optique du génome

**EPO:** Érythropoïétine

**FAB:** Franco-Américano-Britannique, Franco-Américano-Britannique

**FISH:** Hybridation in-situ par sondes fluorescentes

**FrOGG:** French-speaking OGM Group of GFCH

**G-CSF:** Granulocyte Colony-Stimulating Factor

**GFCH:** Groupe Francophone de Cytogénétique Hématologique

**HMA:** Agents hypométhylants

**ICC:** International Consensus Classification

**IPSS:** International Prognostic Scoring System

**IPSS-M:** Molecular International Prognostic Scoring System

**IPSS-R:** Revised International Prognostic Scoring System

**ISCN:** International System for Human Cytogenomic Nomenclature

***KMT2A-PTD:*** Duplication partielle en tandem de *KMT2A*

**LAM:** Leucémies aiguës myéloïdes

**OMS:** Organisation mondiale de la santé

**PNN:** Polynucléaire neutrophile

**RC:** Rémission complète

**RPMI:** Roswell Park Memorial Institute Medium

**RTU:** Recommandation temporaire d'utilisation

**RVA:** Rare Variant Analysis

**SMD:** Syndromes myélodysplasiques

**SV:** Structural Variants

**THPM:** Très haut poids moléculaire

**VAF:** Variant allele frequency

# LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Score d'Ogata .....	43
Tableau 2 : Principales anomalies chromosomiques récurrentes et leur fréquence .	44
Tableau 3 : Score pronostique cytogénétique des SMD .....	47
Tableau 4 : Panel de gènes recommandé pour la recherche de mutations dans un contexte de SMD .....	48
Tableau 5 : Nouvelles propositions de classification des SMD selon la 5 <sup>ème</sup> édition de la classification OMS 2022 .....	51
Tableau 6 : Classification ICC des SMD et SMD/LAM .....	53
Tableau 7 : Calcul du score IPSS .....	54
Tableau 8 : Interprétation du score IPSS .....	55
Tableau 9 : Calcul du score IPSS révisé .....	56
Tableau 10 : Interprétation du score IPSS révisé .....	56
Tableau 11 : Caractéristiques de la cohorte étudiée .....	67
Tableau 12 : Cibles des paramètres analytiques évaluant la qualité de l'échantillon	73
Tableau 13 : Filtres d'analyse recommandés .....	75
Tableau 14 : Résumé des anomalies détectées en cytogénétique conventionnelle et en COG .....	77

# LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Mécanismes physiopathologiques dans les SMD .....	28
Figure 2 : Modèle évolutif de l'hématopoïèse normale vers l'hématopoïèse clonale et, éventuellement, une hémopathie de type SMD voire LAM .....	30
Figure 3 : Les différentes catégories de mutations somatiques retrouvées dans les SMD et leur répartition .....	32
Figure 4 : Les différents types de sidéroblastes .....	38
Figure 5 : Exemples de dysgranulopoïèse.....	40
Figure 6 : Mégacaryocytes observés en cytologie (coloration MGG) et évocateurs d'une délétion 5q- .....	41
Figure 7 : Score IPSS-M .....	57
Figure 8 : Résumé des étapes techniques de la COG .....	63
Figure 9 : Répartition de la cohorte étudiée selon la classification OMS 2022 .....	68
Figure 10 : Répartition des scores cytogénétiques de la cohorte .....	68
Figure 11 : Répartition des scores IPSS-R de la cohorte.....	69
Figure 12 : Anomalie <i>KMT2A-PTD</i> du patient n°47.....	78
Figure 13 : Anomalie -Y du patient n°20 .....	79
Figure 14 : Délétion 5q du patient n°29 .....	79
Figure 15 : Anomalie +21 du patient n°4 .....	79
Figure 16 : Délétion 4q du patient n°4 .....	80
Figure 17 : Délétion 7q du patient n°40 .....	80
Figure 18 : Fusion <i>MECOM ::TBL1XR1</i> (patient n°50) .....	81
Figure 19 : Chromothripsis du patient n°34 .....	82
Figure 20 : Délétion 7q du patient n°45 confirmée en FISH.....	83
Figure 21 : Comparaison du score cytogénétique entre les résultats de caryotype/FISH à gauche et les résultats de la COG à droite .....	84
Figure 22 : Comparaison du score IPSS-R entre les résultats de caryotype/FISH à gauche et les résultats de la COG à droite.....	85
Figure 23 : Score IPSS-M du patient n°47 (à droite avec les données de caryotype/FISH et à gauche avec les données de la COG) .....	88
Figure 24 : Zone de la délétion 7q et zone couverte par la sonde FISH .....	90

# INTRODUCTION

## I. SMD : généralités

### A. Définition

Le terme dysplasie, dérivé du grec ancien, fait référence à une synthèse (*plasis*) anormale (*dys*). Les syndromes myélodysplasiques (SMD) sont des affections clonales des cellules souches hématopoïétiques caractérisées par une hématopoïèse inefficace. Celle-ci est responsable de cytopénies périphériques qui contrastent avec une moelle généralement riche (1).

Historiquement qualifiés d'états « pré-leucémiques », les SMD constituent une catégorie à part entière dans la classification du groupe coopératif Franco-Américano-Britannique (FAB) publiée en 1976 qui les oppose aux leucémies aiguës myéloïdes (LAM) (2).

Ce même groupe propose en 1982 une classification détaillée des SMD se basant sur les caractéristiques cytologiques du sang et de la moelle osseuse (3).

Depuis, plusieurs classifications diagnostiques se sont succédées, les plus récentes datant de 2022 : la 5<sup>ème</sup> édition de la classification de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) et la « International Consensus Classification » (ICC) (4,5).

La terminologie des SMD a ainsi évolué avec les classifications : initialement dénommés « anémies réfractaires » en 1976 par la classification FAB, puis « cytopénies réfractaires », l'appellation « syndromes myélodysplasiques » est recommandée depuis 2017. Il convient de noter que les récentes propositions de l'OMS préconisent la terminologie « néoplasies myélodysplasiques » afin de souligner la nature cancéreuse de ces pathologies et d'harmoniser les appellations avec le terme « néoplasies myéloprolifératives » introduit dans la version précédente de 2017. Néanmoins, le terme consacré dans ce manuscrit sera celui de « syndromes myélodysplasiques ».

## B. Épidémiologie

Les SMD sont des hémopathies du sujet âgé, avec un âge médian au diagnostic d'environ 70 ans et une prédominance masculine. Leur incidence est de l'ordre de 4 à 5 cas pour 100 000 habitants et par an et augmente avec l'âge (6,7).

Ils représentent un groupe très hétérogène du fait de leurs caractéristiques cytologiques, cytogénétiques et moléculaires mais également du point de vue de leur risque évolutif vers la LAM et vis-à-vis du risque de décès. Le dernier score pronostique « Molecular International Prognostic Scoring System » (IPSS-M) décrit ainsi une survie médiane de plus de 10 ans pour le groupe de plus faible risque contre seulement 1 an pour le groupe de plus haut risque (8).

On distingue les SMD primitifs des SMD secondaires en fonction des antécédents cliniques plus particulièrement et de la notion d'exposition à une chimiothérapie, des radiations ionisantes ou des agents toxiques.

La majorité des SMD sont dits primitifs ou *de novo* car ils surviennent en l'absence d'antécédents connus ou d'exposition évidente à des agents toxiques.

Par ailleurs, 15 à 20 % des cas de SMD sont secondaires à une exposition préalable à une chimiothérapie et/ou une radiothérapie pour traiter une maladie antérieure. Plus rarement, les SMD peuvent survenir après une exposition au benzène, à d'autres hydrocarbures aromatiques, ou encore à des produits utilisés dans l'agriculture tels que les pesticides, herbicides et engrais (1).

## C. Physiopathologie

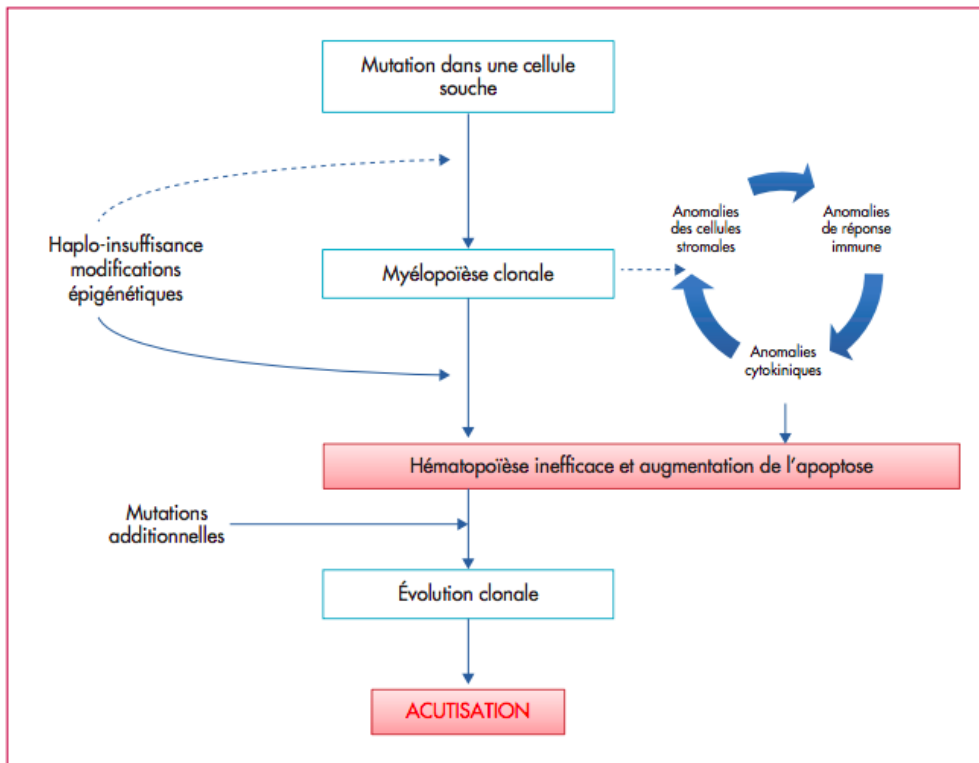


Figure 1 : Mécanismes physiopathologiques dans les SMD (9)

Les SMD proviennent de la transformation d'une cellule souche hématopoïétique (CSH) à la suite d'une série d'événements oncogéniques successifs (Figure 1).

Plusieurs mécanismes peuvent favoriser l'apparition d'une hématopoïèse clonale (9):

- Mécanismes propres à la cellule souche myélodysplasique :
  - Mutations génétiques
  - Haplo-insuffisance (perte d'un allèle fonctionnel) simultanée de plusieurs gènes
  - Modifications épigénétiques
- Mécanismes liés au microenvironnement :
  - Altération de la réponse immunitaire
  - Altération de la réponse aux cytokines
  - Modifications des interactions avec le stroma

Ces mécanismes conduisent à une hématopoïèse clonale inefficace qui devient progressivement dominante dans la moelle osseuse. Cela entraîne une augmentation de l'apoptose des progéniteurs et des précurseurs hématopoïétiques responsable d'un défaut de production de cellules matures et donc d'une ou de plusieurs cytopénies périphériques (hématopoïèse inefficace par avortement intramédullaire).

Ces anomalies favorisent ensuite l'apparition d'événements secondaires conduisant à une progression de la maladie, pouvant aller jusqu'à la LAM.

### **1) Modèle évolutif des SMD :**

Différentes phases peuvent être identifiées dans le processus d'évolution des SMD (10) (Figure 2).

- La première phase est l'apparition initiale d'un ou plusieurs événements dans une cellule souche hématopoïétique, générant un clone local médullaire composé de cellules souches mutées et de cellules hématopoïétiques anormales. Toutes les mutations ne sont néanmoins pas fondatrice d'hémopathie maligne.
- La deuxième phase : au fil du temps, les cellules souches porteuses de mutation(s) se divisent et migrent dans le sang périphérique. Lorsque les cellules hématopoïétiques porteuses de la mutation somatique représentent au moins 4 % de toutes les cellules de la moelle osseuse, ce qui correspond à une fréquence allélique (VAF) d'au moins 2 % pour la mutation, il est alors possible de caractériser une hématopoïèse clonale de signification indéterminée (CHIP).
- La troisième phase, correspond à une expansion de clones présentant des mutations aboutissant à un avantage prolifératif. Cette hématopoïèse clonale qui s'étend progressivement finit par devenir majoritaire dans la moelle osseuse et caractérise l'évolution d'un état pré-SMD vers un SMD avéré. Cette étape peut être associée à l'apparition de mutations somatiques supplémentaires.

- Enfin, la quatrième phase se caractérise par la sélection d'un clone dont la capacité de différenciation est altérée et par conséquent la transformation en LAM secondaire. Lorsque la proportion de cellules blastiques atteint 20 % ou plus, le diagnostic de LAM secondaire est posé.

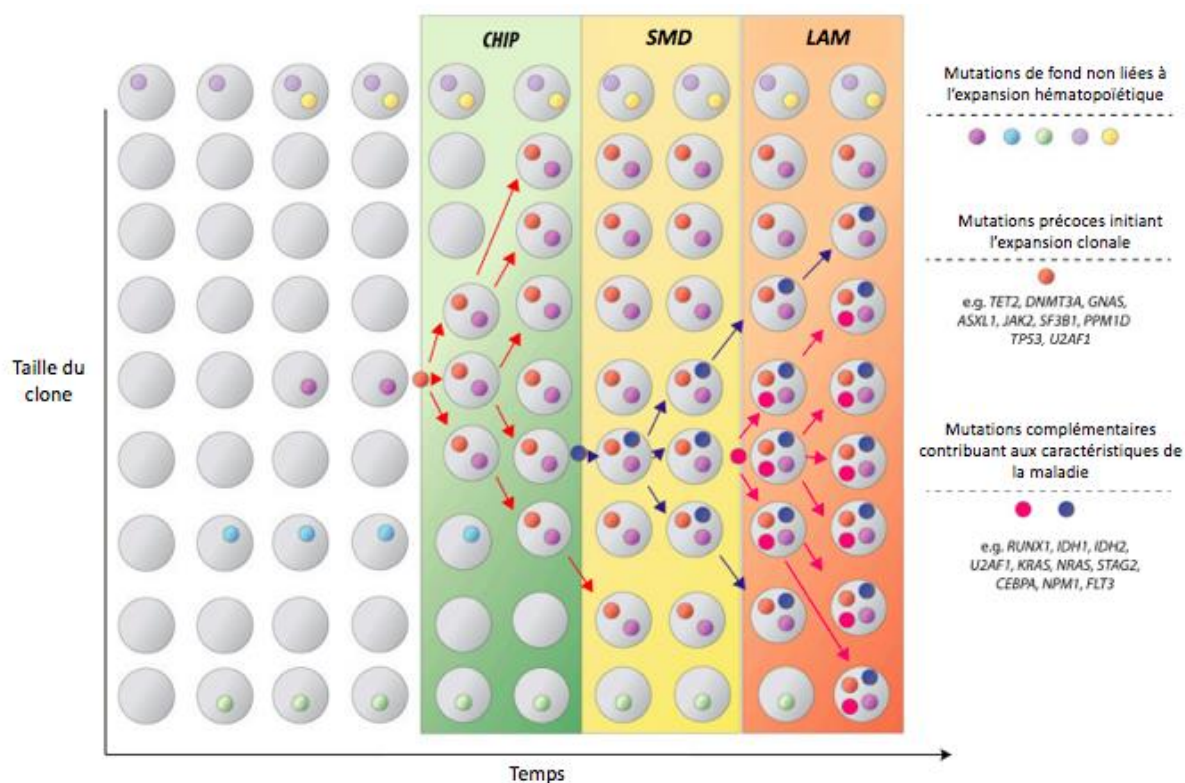


Figure 2 : Modèle évolutif de l'hématopoïèse normale vers l'hématopoïèse clonale et, éventuellement, une hémopathie de type SMD voire LAM (11)

## 2) Mutations drivers dans les SMD

Plusieurs gènes de mutations *driver*, appartenant à des voies biologiques différentes, peuvent conduire à un SMD, et la plupart des patients présentent différentes combinaisons de mutations, ce qui explique l'hétérogénéité de cette pathologie (12,13).

Les gènes mutés de manière récurrente comprennent ceux qui impliquent notamment l'épissage de l'ARN, la méthylation de l'ADN, la modification de la chromatine, la régulation de la transcription ou encore le complexe de cohésine (Figure 3).

Seuls six gènes (*SF3B1*, *TET2*, *SRSF2*, *ASXL1*, *DNMT3A* et *RUNX1*) sont mutés chez au moins 10 % des patients atteints de SMD, mais il existe une multitude de gènes supplémentaires qui sont mutés moins fréquemment (8).

La plupart des mutations sont des transitions de C à T sur des dinucléotides CpG, ce qui laisse supposer qu'elles sont dues à une désamination liée à l'âge des cytosines méthylées (14).

### **3) Haplo-insuffisance : exemple de la délétion 5q**

Une délétion interstitielle sur le bras long du chromosome 5 (délétion 5q) conduit à l'haplo-insuffisance de plusieurs gènes selon la taille de la délétion. La zone minimale délétée comprend une quarantaine de gènes. Par exemple, la caséine kinase CK1 $\alpha$ , codée par le gène *CSNK1A1*, est une sérine-thréonine qui joue un rôle central dans l'équilibre entre la prolifération cellulaire et l'apoptose par l'intermédiaire de la protéine WNT/ $\beta$ -caténine et *TP53*.

L'haplo-insuffisance de *CSNK1A1* entraîne une diminution de l'inhibition de la  $\beta$ -caténine par rapport à *TP53*, ce qui favorise une prolifération accrue et donc l'expansion clonale (15).

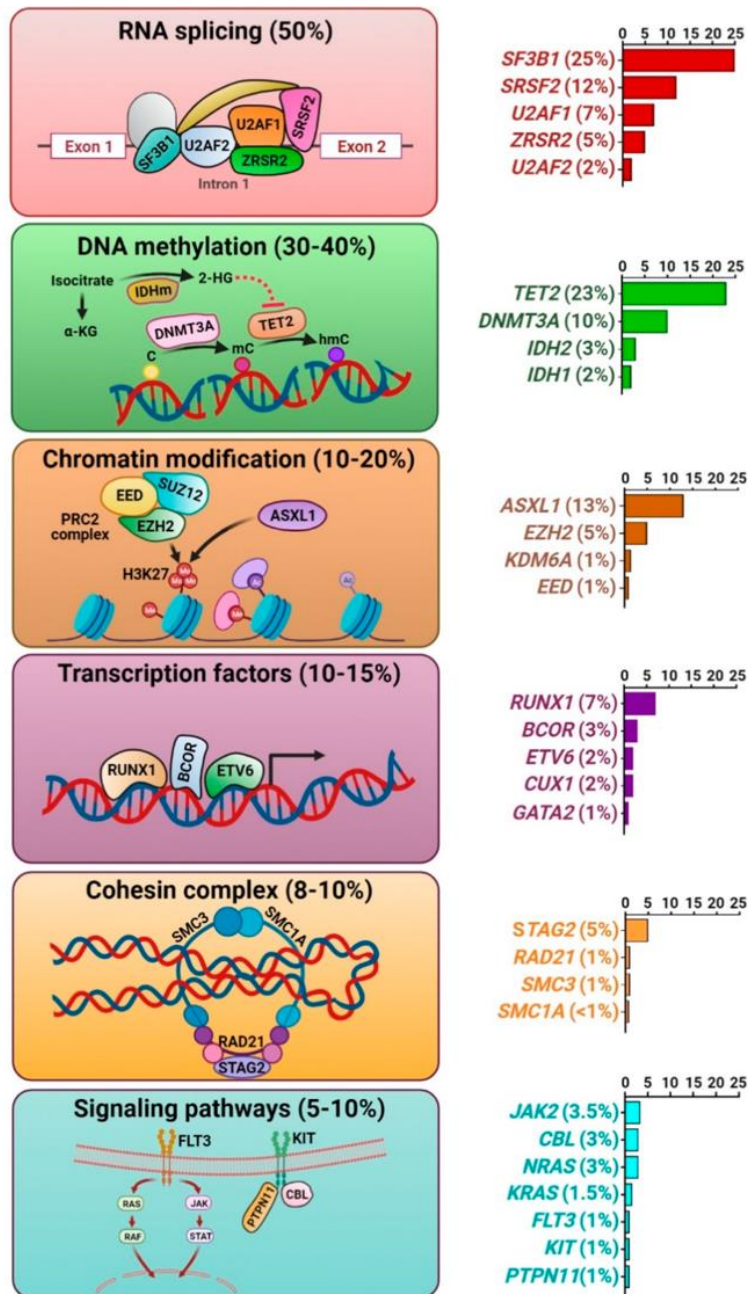


Figure 3 : Les différentes catégories de mutations somatiques retrouvées dans les SMD et leur répartition (16)

#### **4) Anomalies du microenvironnement**

L'hématopoïèse inefficace qui caractérise les SMD semble être due à des anomalies à la fois au niveau de la cellule souche myélodysplasique mais également au niveau de son microenvironnement médullaire, la niche hématopoïétique. Cette niche est caractérisée par une sécrétion anormale et accrue de cytokines inhibitrices de l'hématopoïèse, telles que le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- $\alpha$ ), et l'interleukine 1 beta (IL-1 $\beta$ ). Il en résulte une dérégulation de l'inflammation (17).

Cet environnement médullaire inflammatoire favorise le stress oxydatif des cellules hématopoïétiques, augmentant ainsi la probabilité d'événements oncogéniques.

De plus, les cellules mésenchymateuses, qui sont des composants essentiels de la niche hématopoïétique, semblent présenter des anomalies cytogénétiques chez certains patients atteints de SMD, non retrouvées chez les patients sains (18). Ces anomalies ne sont pas forcément caractéristiques des SMD, ni superposables à celles retrouvées dans le clone leucémique correspondant, et pourraient jouer un rôle dans l'expansion du clone leucémique.

#### **5) Anomalies immunologiques**

De nombreuses études ont porté sur la fonction du système immunitaire dans le SMD et plusieurs déséquilibres immunologiques ont été identifiés, en particulier au sein de la lignée lymphocytaire T.

Dans les SMD à faible risque, il est observé une augmentation des cellules T cytotoxiques, alors que les SMD à risque plus élevé sont caractérisés par un échappement immunitaire et une augmentation des cellules T régulatrices (19,20).

Cela pourrait entraîner un défaut d'immuno-surveillance pouvant favoriser l'expansion clonale.

## D. Clinique

La découverte des SMD est souvent fortuite, lors de la réalisation d'un hémogramme systématique, ou suite à l'apparition de signes évocateurs de cytopénies.

Les symptômes cliniques retrouvés dans les SMD sont non spécifiques et liés aux cytopénies périphériques secondaires à l'insuffisance médullaire.

Une anémie est présente dans 80 % des cas. Il s'agit généralement d'une anémie d'installation progressive chez des sujets âgés. Les conséquences cliniques de l'anémie, telles que l'asthénie, la dyspnée ou encore la tachycardie sont donc les symptômes les plus fréquents dans les SMD. Dans de rares cas, la maladie est découverte devant un état infectieux lié à une neutropénie ou encore un tableau hémorragique dû à une thrombopénie (21).

L'examen clinique et l'interrogatoire doivent avant tout évaluer le retentissement des cytopénies en prenant en compte l'âge du patient et les comorbidités fréquentes à cet âge : insuffisance respiratoire, insuffisance cardiaque et pathologies vasculaires principalement. La splénomégalie n'est généralement pas retrouvée dans les SMD. Sa présence devrait orienter vers la recherche d'un syndrome frontière myélodysplasique /myéloprolifératif tel que la leucémie myélomonocytaire chronique (LMMC).

Enfin, des manifestations auto-immunes ou inflammatoires sont observées chez 10 à 30% des patients ayant un SMD (22). Il peut s'agir d'anomalies biologiques isolées asymptomatiques comme des anticorps anti-nucléaires ou des manifestations inflammatoires non spécifiques telles qu'une polyarthralgie. Il est également possible de retrouver des maladies inflammatoires ou auto-immunes comme des vascularites systémiques ou encore une polychondrite atrophiante (23).

## **E. Examens biologiques**

### **1) Cytologie**

#### **a) Sang**

L'hémogramme permet souvent d'évoquer le diagnostic de SMD devant la présence de cytopénies isolées ou associées. Outre ces anomalies quantitatives, la réalisation d'une numération formule sanguine (NFS) peut également mettre en évidence des anomalies qualitatives pouvant toucher les trois lignées.

##### **i) Lignée érythroïde**

L'anémie est la cytopénie la plus fréquente sur l'hémogramme lors du diagnostic des SMD, qui étaient autrefois dénommées « anémies réfractaires ».

Elle est définie par une hémoglobine inférieure au seuil de 13 g/dL chez l'homme et 12 g/dL chez la femme. Sa sévérité est variable. Environ un patient sur deux présente un taux d'hémoglobine inférieur à 10 g/dL (21).

Cette anémie est arégénérative, normochrome et généralement macrocytaire (mais peut être normocytaire) (24).

Plusieurs anomalies qualitatives des globules rouges peuvent être retrouvées. L'anisocytose, définie par la présence d'hématies de tailles différentes, et la poïkylocytose qui correspond à la présence d'hématies de formes diverses sont des anomalies fréquentes mais non spécifiques. Une anisochromie, définie par la présence d'hématies de coloration variable, est un signe ayant une grande valeur diagnostique, en l'absence de toute transfusion ou de traitement d'une carence martiale (25).

##### **ii) Lignée granuleuse**

La numération leucocytaire peut être normale ou diminuée à cause de la présence d'une neutropénie. Celle-ci est définie par un taux de polynucléaires neutrophiles (PNN) inférieur à 1,5 G/L (21).

Les anomalies qualitatives de la lignée granuleuse sont celles ayant la plus grande valeur diagnostique. Elles comprennent des anomalies du cytoplasme, notamment la présence de PNN hypogranuleux ou dégranulés. Des anomalies nucléaires peuvent également être observées telles que des formes pseudo-Pelger-Huet qui sont caractérisées par un noyau hyposegmenté ainsi qu'une hypercondensation de la chromatine (25).

### **iii) Lignée mégacaryocytaire**

La thrombopénie est définie par un taux de plaquettes inférieur à 150 G/L. Dans les SMD, une thrombopénie modérée, rarement inférieure à 50 G/L, est fréquemment retrouvée mais une numération de plaquette normale ou augmentée ne doit pas exclure le diagnostic (21).

Des anomalies morphologiques sont à rechercher et comprennent notamment un aspect de dégranulation, la présence de plaquettes géantes ou encore de micromégacaryocytes circulants (25).

Par ailleurs, il est important d'évaluer la numération monocyttaire : en effet la mise en évidence d'une monocytose absolue et relative pourrait évoquer une LMMC (leucémie myélomonocytaire chronique) qui est classée dans le groupe frontière des « syndromes myélodysplasiques/myéloprolifératifs » (26).

Enfin, selon l'OMS, un décompte de blastes, élément majeur pour la classification des SMD, est à réaliser sur 200 éléments sur le frottis sanguin (24). Une faible blastose, généralement inférieure à 5 %, est présente dans environ un quart des cas (21). Cette blastose est toujours inférieure à 20% par définition. En effet, un pourcentage de blastes  $\geq 20\%$  pose le diagnostic de leucémie aiguë.

Il est important de noter que l'absence de blastes circulants ou de cellules dysplasiques dans le sang ne permet pas d'exclure un SMD. En effet, la dysmyélopoïèse ou l'augmentation des blastes dans la moelle osseuse peuvent ne pas se manifester dans le sang (26).

## **b) Moelle :**

Si les données de l'hémogramme peuvent permettre d'évoquer un SMD, le myélogramme reste l'examen clé pour confirmer le diagnostic.

La moelle dysplasique est le plus souvent riche, contrastant avec les cytopénies périphériques. Cela témoigne d'une hématopoïèse inefficace (21). De plus, l'examen cytologique de la moelle osseuse permet d'objectiver des anomalies morphologiques pouvant atteindre une ou plusieurs lignées qui définissent la dysmyélopoïèse, critère essentiel de diagnostic des SMD.

Le terme dysmyélopoïèse fait référence aux anomalies qualitatives qui peuvent atteindre chacune des trois lignées myéloïdes : érythroïde, granuleuse et mégacaryocytaire définissant respectivement la dysérythropoïèse, la dysgranulopoïèse et la dysmégacaryopoïèse (27). (Annexe 1)

Ces anomalies sont considérées comme significatives si elles atteignent au moins 10% des éléments d'une lignée (5).

Par ailleurs, il est important de noter que la dysmyélopoïèse est une manifestation cytologique qui peut être observée dans diverses situations cliniques, elle n'est donc pas synonyme de SMD.

## **i) Dysérythropoïèse**

La dysérythropoïèse se manifeste principalement par des altérations nucléaires, notamment des bourgeons nucléaires, des ponts interchromatiniens, la fragmentation du noyau cellulaire (caryorrhexis), ainsi que la multinucléarité.

La mégaloblastose, qui correspond à la présence de précurseurs érythroïdes de grande taille avec un asynchronisme de maturation nucléo-cytoplasmique, est souvent présente dans les SMD, mais est peu spécifique.

Concernant les anomalies cytoplasmiques, elle comprennent la présence de vacuoles et de sidéoblastes en couronne. Ces derniers sont mis en évidence par la coloration de Perls, qui est un complément indispensable à l'analyse cytologique réalisée sur le frottis coloré au MGG. Elle permet de mettre en évidence le fer insoluble dans le

cytoplasme des érythroblastes sous forme de grains bleu/vert. Les érythroblastes chargés de ces grains de fer cytoplasmiques sont dénommés sidéroblastes (28).

La définition précise des types de sidéroblastes a été détaillée par le Groupe International de Travail sur la Morphologie des SMD (IWGM-MDS) (Figure 4) (29):

- Type 0 : pas de grains visibles;
- Type 1 : moins de cinq grains dans le cytoplasme;
- Type 2 : cinq grains ou plus dispersés dans le cytoplasme;
- Type 3 ou sidéroblastes en couronne : cinq granules ou plus de répartition péri-nucléaire, sur au moins un tiers de la circonférence du noyau.

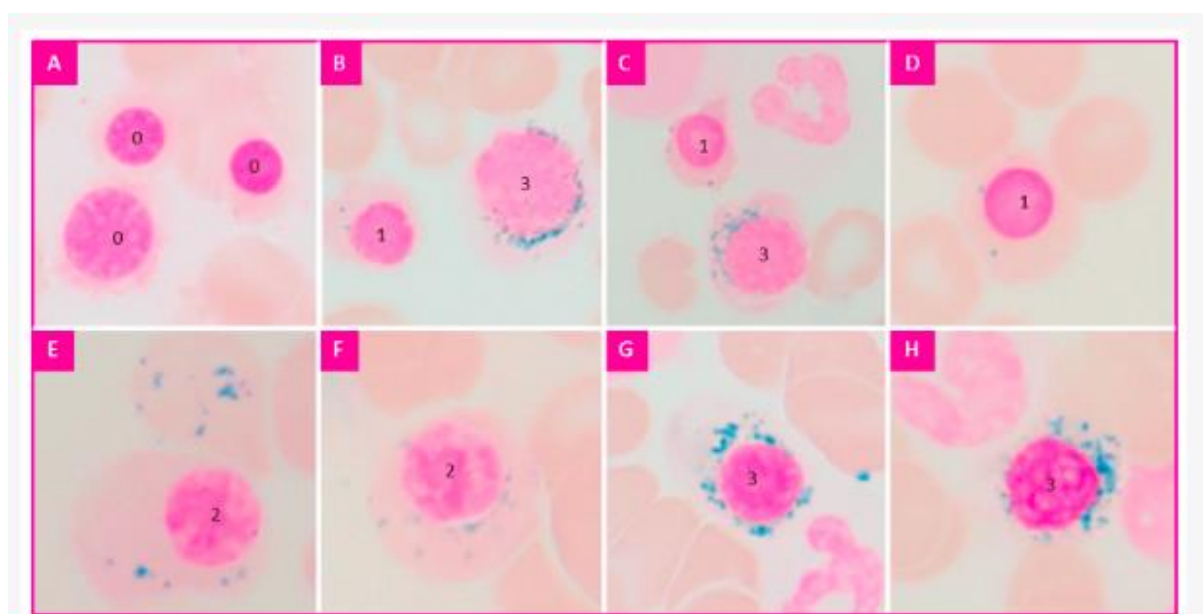


Figure 4 : Les différents types de sidéroblastes : **(A)**: Trois sidéroblastes de type 0, **(B,C)**: Un sidéroblaste de type 1 et un sidéroblaste en couronne (ou type 3), **(D)** : Un sidéroblaste de type 1, **(E,F)**: Un sidéroblaste de type 2, **(G,H)**: Un sidéroblaste en couronne (28)

Le décompte de sidéroblastes en couronne est important pour le diagnostic ainsi que la classification des SMD. En effet, selon la 5<sup>ème</sup> édition de la classification OMS 2022, un pourcentage supérieur ou égal à 15 % de sidéroblastes en couronne est un critère qui peut se substituer à la présence de la mutation du gène *SF3B1* : on parle alors de « SMD avec blastose faible et sidéroblastes en couronne » (5).

## ii) Dysgranulopoïèse

Les critères définissant la dysgranulopoïèse ont été initialement décrits par la classification FAB des syndromes myélodysplasiques de 1982 (3).

Afin de préciser cette définition et établir des critères standardisés et reproductibles, le Groupe International de Travail sur la Morphologie des SMD (IWGM-MDS) a réalisé une étude sur 98 PNN provenant de patients atteints de SMD (30). Il a ainsi pu décrire 6 anomalies de dysgranulopoïèse (Figure 5) :

- Hypogranulation ou dégranulation qui correspond à une réduction d'au moins 2/3 des granulations cytoplasmiques.
- Hyposegmentation du noyau.
- Noyaux de type pseudo-Pelger-Huët : Initialement décrite en 1928 par le Dr Karl Pelger, cette anomalie fait référence à des cellules en « pince-nez » par segmentation anormale du noyau possédant deux lobes bien distincts reliés par un fin segment de chromatine (31).
- Condensation anormale de la chromatine : gros blocs de chromatine séparés par des plages claires dans le noyau.
- Macropolycytes : PNN de grande taille (plus de 2 fois la taille normale) avec un noyau dystrophique qui est souvent binucléé.
- Sticks nucléaires ou caryoschizes : correspondent à des extensions nucléaires > 4 par noyau.

Bien qu'elles soient moins fréquentes dans les SMD, d'autres anomalies morphologiques peuvent également être citées : une hypersegmentation du noyau, la présence de corps de Döhle, de granules de type pseudo-Chédiak-Higashi ou encore de corps d'Auer (3).

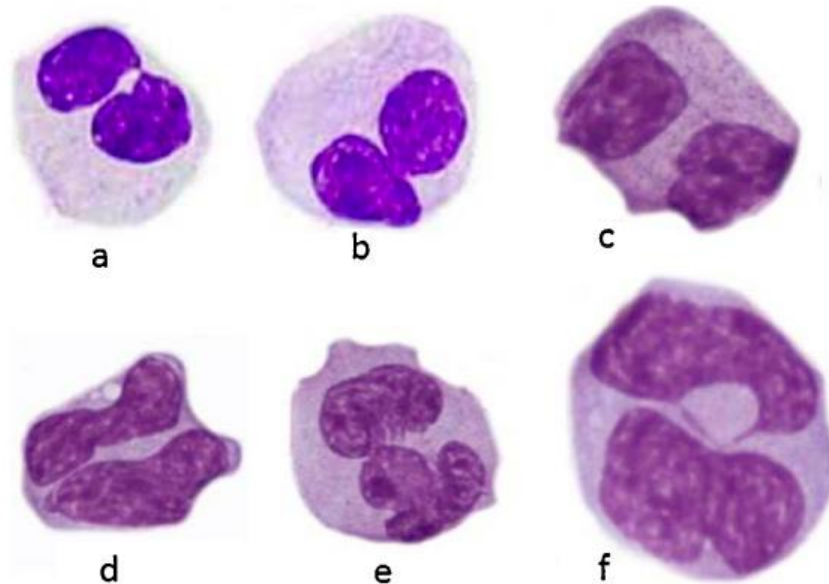


Figure 5 : Exemples de dysgranulopoïèse **(a,b)** Cellules de Pseudo-Pelger-Huët avec absence de granulations, **(c,d et e)** Segmentation anormale du noyau, **(f)** Macroplatelet (30)

### iii) Dismégacaryopoïèse

L'OMS recommande d'évaluer la dismégacaryopoïèse sur au moins 30 mégacaryocytes.

On peut citer trois principales anomalies nucléaires (32) :

- Une hypolobulation du noyau : ce sont des mégacaryocytes dont le noyau perd sa polylobulation habituelle.  
Il existe une hypolobulation caractéristique d'une entité particulière : le syndrome 5q-. Cela correspond à des mégacaryocytes avec un petit noyau arrondi ou ovale excentré et au cytoplasme mature (Figure 6).
- Une multinucléarité : bi-nucléarité ou multinucléarité donnant un aspect fragmenté du noyau.
- La présence de micromégacaryocytes : mégacaryocytes de petite taille (<30  $\mu\text{m}$ ) caractérisés par un noyau régulier et arrondi à la chromatine très dense ainsi qu'un cytoplasme réduit présentant parfois des expansions entourées de plaquettes.

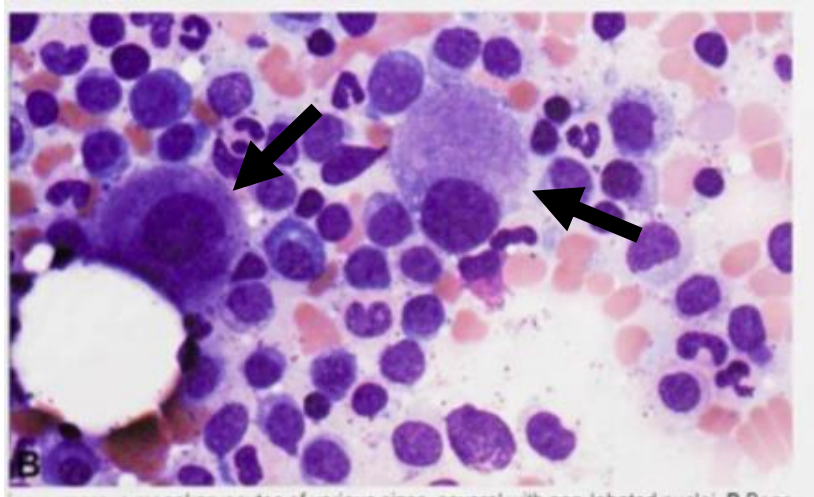


Figure 6 : Mégacaryocytes observés en cytologie (coloration MGG) et évocateurs d'une délétion 5q- (24)

#### iv) Décompte de blastes

C'est un critère majeur dans la classification des SMD. Il est à réaliser sur 500 éléments nucléés du frottis médullaire (24). Un excès de blastes médullaires (regroupant les blastes et les myéloblastes) est défini entre 5% et 19%.

La ponction médullaire permet également de réaliser des analyses complémentaires (cytométrie en flux, cytogénétique, biologie moléculaire) qui ont une importance à la fois diagnostique et pronostique.

## 2) Cytométrie en flux

La cytométrie en flux (CMF) ne fait pas partie des critères diagnostiques dans les dernières classifications OMS et ICC des SMD (4,5). Cependant, c'est une méthode complémentaire qu'il est préconisé d'utiliser à des fins diagnostiques pour les SMD dans les recommandations de l'*European LeukemiaNet* (33) lorsque le diagnostic de SMD s'avère difficile, notamment lorsque les anomalies morphologiques sont discrètes.

En effet, plusieurs anomalies phénotypiques ont été décrites sur des cellules de patients atteints de SMD.

Une étude multicentrique prospective réalisée par l'International Myelodysplastic Syndrome Flow Cytometry Working Group (ELN iMDS) a mis en évidence 10 anomalies indépendamment liées aux syndromes myélodysplasiques de faible risque et 11 anomalies liées au SMD de haut risque. Ces anomalies concernent les précurseurs myéloïdes, les PNN, les monocytes ainsi que la lignée érythrocytaire. La détection d'au moins trois anomalies phénotypiques permet de suggérer un diagnostic de SMD (34).

Plusieurs scores diagnostiques basés sur ces anomalies phénotypiques ont été décrits. Le plus fréquemment utilisé est le score dit d'Ogata. Il est adapté à la pratique courante et peu coûteux puisqu'il ne nécessite qu'un panel de 3 anticorps (Tableau 1). Ce score explore les lignées lymphoïde et granuleuse en se basant sur 4 paramètres (35) :

- Le pourcentage de myéloblastes CD34+ par rapport au nombre de cellules totales médullaires (1 point si  $\geq 2$  %).
- Le pourcentage de progéniteurs lymphoïdes B CD34+ parmi tous les événements CD34+ (1 point si  $\leq 5$  %).
- Le ratio CD45 lymphocytes/myéloblastes qui correspond au quotient de l'intensité de fluorescence moyenne du CD45 sur les lymphocytes par l'intensité de fluorescence moyenne du CD45 sur les myéloblastes (1 point si ce ratio est  $\leq 4$  ou  $\geq 7,8$ ).
- Le ratio du SSC (Side Scatter) des granuleux immatures CD10- et des lymphocytes qui permet d'objectiver la dégranulation cellulaire (1 point si ce ratio est  $\leq 6$ ).

Un score d'Ogata supérieur ou égal à 2 est évocateur d'un diagnostic de SMD avec une sensibilité de 70 % et une spécificité de 93 %.

Tableau 1 : Score d'Ogata (35)

Paramètres	Seuil	Coefficient de régression	Point
Pourcentage de myéloblastes CD34+ / évènements CD45+	≥ 2,4 %	2,59	1
Pourcentage d'hématogones CD34+ / évènements CD34+	≤5%	1,87	1
Ratio CD45 lymphocytes / myéloblastes	≤ 4 ou ≥ 7,8	1,76	1
Ratio SSC granuleux CD10- / lymphocytes	≤6	2,31	1

Ce score ne prend pas en compte la lignée érythroblastique, mais d'autres travaux ont été menés sur cette lignée, l'anémie étant la manifestation la plus fréquemment retrouvée dans les SMD. Une équipe française a décrit un panel qui se base sur le coefficient de variation des intensités de fluorescence des marqueurs CD36 et CD71. Ce panel, combiné à la valeur de l'hémoglobine, permet d'évaluer le RED-score, qui varie de 0 à 7. Un score supérieur ou égal à 3 est en faveur d'un SMD avec une sensibilité de 77 % et une spécificité de 90 % (36). La combinaison du RED-score au score d'Ogata permet d'atteindre une sensibilité de 88 % (36).

### 3) Cytogénétique

Les anomalies cytogénétiques ont un rôle important à la fois pour le diagnostic et le pronostic des SMD, mais aussi pour le choix du traitement le plus adapté.

#### a) Intérêt dans le diagnostic

Les classifications de référence des SMD sont celle de l'OMS et celle de l'ICC, toutes deux publiées en 2022. Elles se basent sur différents critères, notamment les données de cytogénétique conventionnelle. De ce fait, l'exploration étiologique de cytopénies chroniques inexpliquées comprend l'étude systématique du caryotype médullaire.

Le caryotype médullaire est réalisé selon les guides de bonnes pratiques de cytogénétique hématologique recommandées par le Groupe Français de Cytogénétique Hématologique (GFCH) (37).

Les anomalies cytogénétiques y sont détectables par le caryotype médullaire dans environ 40 % des SMD *de novo* et dans 80 % des SMD secondaires (Tableau 2) (38).

Les anomalies les plus fréquentes sont des anomalies déséquilibrées de type trisomie (+), monosomie (-) ou délétion partielle (del) qui touchent principalement les bras longs (q) des chromosomes 5, 7, 11, 13 et 20 ainsi que les bras courts (p) des chromosomes 12 et 17. En revanche, les anomalies équilibrées récurrentes sont plus rares.

Un caryotype complexe est défini par la présence d'au moins 3 anomalies cytogénétiques. Il est retrouvé dans environ 10 % des SMD *de novo* et 30 à 45 % des SMD secondaires (38).

Tableau 2 : Principales anomalies chromosomiques récurrentes et leur fréquence (38)

Anomalie chromosomique		Fréquence	
		Ensemble des SMD	SMD secondaires
<b>Caryotype anormal</b>		40-50%	80%
<b>Déséquilibrées</b>	+ 8	5-10%	
	del(20q)	3,6-7%	
	del(5q)	10-15%	40%
	-7 / del(7q)	5-10%	40%
	- Y	3-5%	
	+ 21	0,3-0,8%	
	i(17q) / del17p	2-5%	25-30%
	-13 / del(13q)	2%	
	del(11q)	0,6-3%	
del(9q)	1-2%		
<b>Équilibrées</b>	t(11;16)(q23;p13)	3%	
	t(1;3)(p36;q21)	1%	
	t(2;11)(p21;q23)	1%	
<b>Caryotype complexe</b>		10%	30-45%

La délétion 5q isolée, citée précédemment, permet à elle seule de poser le diagnostic de SMD avec un faible taux de blastes, désigné « MDS-5q » selon la classification OMS 2022 (5).

En revanche, d'autres anomalies permettent d'orienter mais ne constituent pas à elles seules un argument diagnostique. Par exemple, la délétion 20q et la trisomie du chromosome 8 (+8), bien que fréquentes dans ces hémopathies, sont le reflet d'une pathologie myéloïde clonale mais ne sont pas spécifiques et ne permettent pas à elle seules de poser le diagnostic de SMD.

Concernant la perte du chromosome Y, elle peut être physiologique due à l'âge avancé des patients. Cependant, une étude menée par Madhu M *et al.* conclut qu'une perte du chromosome Y dans plus de 75% des métaphases serait probablement liée à une pathologie myéloïde clonale (39).

Néanmoins lorsqu'elle se trouve isolée et concerne peu de mitoses, il peut s'avérer difficile de trancher sur le seul argument cytogénétique.

En cas d'échec du caryotype, principalement en raison d'un échantillon insuffisant et/ou hémodilué, le GFCH recommande en premier lieu de réitérer l'analyse sur un nouveau prélèvement. À noter qu'il est possible de réaliser un caryotype sur un prélèvement sanguin si celui-ci contient des blastes ou des précurseurs myéloïdes, principalement dans des cas de fibrose.

Deux échecs consécutifs du caryotype justifient le recours à une méthode d'hybridation in situ par des sondes fluorescentes (FISH). Dans ce cas, les dernières recommandations du GFCH préconisent d'utiliser les 4 sondes suivantes afin de rechercher les anomalies cytogénétiques stratifiantes que sont :

- La délétion 7q (région 7q22 (*CUX1*))
- La délétion 5q31 (*EGR1*)
- Des remaniements de la région 3q26 (*MECOM*)
- La trisomie du chromosome 8

L'analyse FISH peut également être réalisée pour détecter une délétion de *TP53* afin d'évaluer le statut bi-allélique *TP53* quand cela est nécessaire. En effet, la dernière classification OMS de 2022 décrit une nouvelle entité : « SMD avec inactivation bi-allélique de *TP53* » également retrouvée dans la classification ICC sous l'appellation « mutation *TP53* multi-hit ». Cela correspond à la présence de deux mutations distinctes de *TP53* ou une mutation associée à la perte concomitante du second allèle. Cette inactivation bi-allélique du gène aboutit à un clone néoplasique dépourvu de protéine p53 fonctionnelle.

Par ailleurs, l'analyse FISH peut également être utilisée dans les situations suivantes :

- En cas de doute sur le caryotype : afin de confirmer la présence d'une anomalie compatible avec un SMD, en particulier si cela implique un changement du groupe pronostic.
- Pour confirmer l'existence d'un clone pathologique quand le nombre de mitoses anormales observées ne permet pas d'exclure un accident *in vitro*.
- En cas de discordance avec une cytologie évocatrice, comme par exemple une dysmégacaryopoïèse évoquant une délétion 5q.

### **b) Intérêt comme marqueur pronostic**

Les techniques de cytogénétique conventionnelle jouent donc un rôle important dans le diagnostic des SMD. Par ailleurs, les anomalies cytogénétiques ont également une valeur pronostique puisqu'elles s'intègrent dans le score « *Revised International Prognostic Scoring System* » (IPSS-R) (40).

Tableau 3 : Score pronostique cytogénétique des SMD (40)

Groupes pronostiques	Anomalie cytogénétique	Fréquence (%)	Médiane de survie (en années)
<b>Très bon</b>	- Y del(11q)	3-4%	5,4
<b>Bon pronostic</b>	Caryotype normal del(5q) isolée Double anomalie avec del(5q) del(12p) del(20q)	66-72%	4,8
<b>Pronostic intermédiaire</b>	del(7q) + 8 + 19 + 21 i(17q) Autres anomalies simple ou double	13-19%	2,7
<b>Défavorable</b>	- 7 Double anomalie avec -7/del(7q) Anomalie du 3q Complexe = 3 anomalies	4-5%	1,5
<b>Très défavorable</b>	Complexe > 3 anomalies	7%	0,7

Le score cytogénétique de l'IPSS-R (Tableau 3) répartit une vingtaine d'anomalies en 5 groupes pronostiques dont les survies diffèrent significativement : plus de 5 ans pour la plus haute médiane de survie contre moins d'un an pour la plus basse. Ce score cytogénétique de l'IPSS-R a d'ailleurs été intégré au score IPSS-M publié en 2022 par Bernard *et al.* qui prend en compte les données moléculaires (8).

Ces deux scores pronostiques seront évoqués plus en détail dans la partie correspondante.

#### 4) Biologie moléculaire

L'essor de la biologie moléculaire a permis, dans le cadre de plusieurs études, la détection de mutations somatiques récurrentes d'une cinquantaine de gènes dans 80-90 % des cas de SMD (12,13,41).

Ainsi, l'évaluation de la présence de ces mutations somatiques occupe depuis ces dernières années une place certaine dans le diagnostic et la prise en charge des SMD. Les gènes clés qui devraient être évalués par séquençage de nouvelle génération (NGS) dans les cas connus ou suspectés de SMD sont résumés dans le Tableau 4.

Tableau 4 : Panel de gènes recommandé pour la recherche de mutations dans un contexte de SMD (26,42)

ASXL1	NF1
BCOR	NPM1
BCORL1	NRAS
CBL	PHF6
CEBPA	PPM1D
CSF3R	PRPF8
CUX1	PTPN11
DDX41	RAD21
DMNT3A	RUNX1
ETV6	SAMD9
ETNK1	SAMD9L
EZH2	SETBP1
FLT3-ITD	SF3B1
FLT3-TKD	SRSF2
GATA2	STAG2
GNB1	TET2
IDH1/2	TP53
JAK2	U2AF1
KIT	UBA1
KRAS	WT1
KMT2A-PTD	ZRSR2

Au début de la maladie clinique, le nombre médian de mutations initiatrices retrouvées dans les SMD est de deux ou trois par patient (14).

De la même manière que la délétion 5q retrouvée en cytogénétique, les mutations SF3B1 et TP53 multi-hit sont des anomalies génétiques considérées comme classantes selon l’OMS et l’ICC. Ainsi, les informations du NGS constituent un précieux complément au bilan diagnostique des suspicions de SMD, et ce particulièrement dans les cas de dysplasies proches du seuil de significativité.

En effet il a été démontré que la présence de plusieurs mutations somatiques, un clone présentant une VAF élevée (>20%) ainsi que certaines combinaisons de mutations présentent de bonnes valeurs prédictives positives pour le diagnostic de SMD ou autre pathologie myéloïde. *A contrario*, l’absence de mutations somatiques initiatrices présente une importante valeur prédictive négative pour les néoplasies myéloïdes (43,44).

Par ailleurs, certaines mutations peuvent avoir un impact pronostic. C’est notamment le cas de TP53 qui a un impact pronostic défavorable, ou encore SF3B1, qui est associée à une évolution favorable.

Les mutations somatiques ont d’ailleurs été intégrées et validées dans le score pronostique moléculaire IPSS-M, décrit dans la partie correspondante (Partie G.3).

Par ailleurs, la biologie moléculaire peut également mettre en évidence deux entités décrites dans la classification OMS liées à la notion d’hématopoïèse clonale qui pourraient représenter des états précurseurs de SMD. Il s’agit des cas présentant des mutations somatiques avec une VAF  $\geq 2\%$  dans des gènes associés aux hémopathies myéloïdes sans que les critères diagnostiques de SMD ne soient remplis.

On parle de CHIP ou de cytopénie clonale de signification indéterminée (CCUS) en fonction de la présence ou non de cytopénies inexplicables (5).

Les CHIP ainsi que les CCUS sont associés à un risque accru de développer une hémopathie myéloïde (45,46). Ce risque dépend de plusieurs paramètres, notamment la nature des gènes mutés : par exemple un CHIP/CCUC avec une mutation de DNMT3A a un faible risque d’évolution, alors que les gènes tels que TP53, RUNX1, IDH1 et IDH2 sont associés à un risque élevé de progression vers une hémopathie myéloïde, notamment un SMD.

Un score a d'ailleurs été proposé par Lachelle D. Weeks *et al.* afin d'estimer le risque de progression des CHIP/CCUS vers une hémopathie myéloïde en fonction de plusieurs critères moléculaires, cliniques et cytologiques (47).

## **F. Classifications**

Le terme « syndrome myélodysplasique » a été utilisé pour la première fois en 1982 par le groupe de travail FAB pour désigner un ensemble de néoplasmes myéloïdes responsables de cytopénies (3).

L'objectif de cette première classification était de définir les groupes de SMD en se basant uniquement sur des critères cytologiques : le pourcentage de blastes médullaires, de sidéroblastes en couronne, la présence de corps d'Auer, ainsi que la présence et le degré de prolifération monocytaire dans la moelle osseuse.

Cette publication a marqué un tournant dans le diagnostic des SMD, car elle a permis aux cliniciens de s'appuyer sur une classification commune permettant de comparer différents sous-groupes de patients ainsi que leur évolution.

Puis, le groupe de travail OMS a subdivisé en 2001 les cas de SMD en fonction de la présence d'une myélodysplasie unilignée ou multilignée et du pourcentage des blastes (48).

Par ailleurs, pour la première fois, une donnée cytogénétique, la délétion 5q-, a été intégrée comme caractéristique classante de la pathologie.

Les classifications OMS mises à jour en 2008 et 2017 ont apporté des modifications et affiné les critères diagnostiques des différentes entités. Cependant, mis à part les SMD associés à une délétion 5q-, les sous-groupes diagnostiques étaient entièrement basés sur les anomalies morphologiques (24,49).

### **1) La classification OMS 2022**

La cinquième édition de la classification OMS, parue en 2022 (Tableau 5), a renommé les SMD « néoplasies myélodysplasiques » (tout en conservant l'abréviation SMD) et a introduit plusieurs changements significatifs dans la nomenclature des SMD, les différentes entités ainsi que les critères diagnostiques (5).

Tableau 5 : Nouvelles propositions de classification des SMD selon la 5<sup>ème</sup> édition de la classification OMS 2022 (5)

	Blastes	Anomalies cytogénétiques	Anomalies moléculaires
<b>SMD avec anomalies génétiques caractérisantes</b>			
MDS avec faible blastose et délétion isolée du 5q (MDS-5q)	< 5 % MO et < 2 % SG	del(5q) isolée ou avec une anomalie additionnelle autre qu'une monosomie 7 ou une del(7q)	
SMD avec faible blastose et mutation du gène <i>SF3B1</i> * (MDS-SF3B1)		Absence de délétion du bras long du chromosome 5, de monosomie 7 ou de caryotype complexe	Mutation du gène <i>SF3B1</i>
MDS avec inactivation bi-allélique de <i>TP53</i> (MDS-biTP53)	< 20 % MO et < 20 % SG	Caryotype généralement complexe emportant à minima une copie du gène <i>TP53</i>	≥ 2 mutations du gène <i>TP53</i> ou 1 mutation évocatrice d'une perte d'un allèle de <i>TP53</i> ou d'une perte d'hétérozygotie sans modification du nombre de copies
<b>SMD définis morphologiquement</b>			
MDS avec blastose faible (MDS-LB)	< 5 % MO et < 2 % SG		
MDS hypoplasique (MDS-h)			
<b>MDS avec blastose élevée (MDS-IB)</b>			
MDS-IB1	5 à 9 % MO ou 2 à 4 % SG		
MDS-IB2	10 à 19 % MO ou 5 à 19 % SG		
MDS avec fibrose (MDS-f)	5 à 19 % MO et < 5 % SG		

\*La présence de ≥ 15% de sidéroblastes en couronne peut se substituer à la présence de la mutation du gène *SF3B1*. L'entité est alors classée en SMD avec blastose faible et sidéroblastes en couronne.

MO: moelle osseuse; SG: sang périphérique; MDS-LB: MDS with low blasts; MDS-IB: MDS with increased blasts

Les néoplasies myélodysplasiques sont désormais divisées en deux groupes : les SMD avec anomalies génétiques classantes et les SMD définis morphologiquement.

La quantification des blastes dans le sang et la moelle osseuse reste un critère essentiel dans cette nouvelle classification.

En plus de la délétion 5q-, deux nouvelles anomalies définissent les SMD caractérisés génétiquement : les mutations du gène *SF3B1*, et les anomalies bi-alléliques de *TP53*.

Les SMD définis morphologiquement incluent quant à eux deux nouvelles entités histologiques : les SMD avec fibrose médullaire et les SMD hypoplasiques, qui nécessitent une biopsie ostéomédullaire pour leur caractérisation.

Les SMD sont classés selon le pourcentage de blastes sanguins et médullaires en SMD avec faible blastose (« MDS with low blasts ») et SMD avec blastose élevée («MDS with increased blasts »), en respectant les seuils précédemment établis (24). Par ailleurs, la distinction entre dysplasie uni- ou multilignée n'est plus prise en compte dans cette classification et devient donc optionnelle.

La catégorie des « SMD inclassables » introduite en 2001, qui regroupait principalement les cas de dysmyélopoïèse non significative associée à des anomalies cytogénétiques évocatrices de SMD, disparaît. Ces situations sont désormais intégrées dans l'entité CCUS de cette nouvelle classification.

## **2) La classification ICC 2022**

De manière simultanée, un comité clinique consultatif formé par des membres de la société d'hématopathologie (*Society for Hematopathology*) et de l'association européenne d'hématopathologie (*European Association for Haematopathology*) ont publié la classification ICC des hémopathies myéloïdes (Tableau 6) également en 2022 (4).

Les deux classifications sont convergentes sur plusieurs points. Ainsi, la présence d'anomalies génétiques permet de définir les entités SMD-del(5q), SMD-SF3B1, et SMD avec mutation du gène *TP53*.

Une des principales différences réside dans la présence d'un excès de blastes entre 10 et 19%, conduisant à classer cette entité en forme frontière entre SMD et LAM. L'entité SMD-EB2 est donc supprimée. Ce point a également été discuté dans la classification OMS 2022, mais le seuil de 20 % a été maintenu pour différencier SMD et LAM.

Concernant les formes sans excès de blastes, la distinction entre dysplasie unilignée ou multilignée est conservée.

La catégorie « inclassable » est supprimée, mais une nouvelle entité, « SMD sans dysplasie », est introduite pour les cas de dysmyélopoïèse non significative associée à une monosomie 7, une délétion 7q ou un caryotype complexe, qui ne peuvent être considérés comme des CCUS.

Tableau 6 : Classification ICC des SMD et SMD/LAM (4)

	Blastes	Anomalies cytogénétiques	Anomalies moléculaires
<b>SMD avec mutation <i>SF3B1</i> (MDS-<i>SF3B1</i>)</b>	<5% MO <2% SP	Toutes, sauf del(5q) isolée, -7/del(7q), anomalies du 3q et caryotype complexe	<i>SF3B1</i> * (VAF≥10%), sans mutation de multi-hit de <i>TP53</i> , ou <i>RUNX1</i>
<b>SMD avec del(5q) [MDS-del(5q)]</b>		del(5q) pouvant être associée à une anomalie additionnelle, sauf -7/del(7q)	Toutes, sauf <i>TP53</i> multi-hit
<b>SMD sans dysplasie</b>		-7/del(7q) ou caryotype complexe	Toutes, sauf <i>TP53</i> multi-hit ou <i>SF3B1</i> (VAF ≥10%)
<b>SMD avec dysplasie unilignée</b>		Toutes, sauf del(5q)	Toutes, sauf <i>TP53</i> multi-hit
<b>SMD avec dysplasie multilignée</b>		Toutes, sauf del(5q)	Toutes, sauf <i>TP53</i> multi-hit
<b>SMD avec excès de blastes</b>	5-9% MO, 2-9% SP	Toutes	Toutes, sauf <i>TP53</i> multi-hit
<b>SMD/LAM</b>	10-19% MO ou SP	Toutes, sauf anomalies classantes en LAM	Toutes, sauf <i>NPM1</i> , <i>bZIP CEBPA</i> ou <i>TP53</i>
<b>SMD avec mutation <i>TP53</i></b>	0-9% MO ou SP	Mutation <i>TP53</i> multi-hit, ou mutation <i>TP53</i> (VAF≥10%) associée à un caryotype complexe (avec une del(17p) souvent)	
<b>SMD/LAM avec mutation <i>TP53</i></b>	10-19% MO ou SP		Toute mutation somatique de <i>TP53</i> (VAF≥10%)

MO: moelle osseuse; SP: sang périphérique

## G. Scores pronostiques

L'évaluation pronostique des SMD est une étape clé dans la prise en charge des patients. Son objectif est d'estimer la probabilité de décès et de progression vers une LAM, afin d'orienter les décisions cliniques.

Au cours des dernières décennies, les critères pronostiques ont été enrichis par les découvertes biologiques, notamment moléculaires. Ces avancées ont été intégrées dans divers scores pronostiques, dont la capacité à discriminer les risques s'est constamment améliorée. (40,50)

## 1) Score IPSS

Le « International Prognostic Scoring System» (IPSS) a été le premier score pronostique largement utilisé en pratique clinique pour les SMD (Tableaux 7 et 8) (50). L'étude à l'origine de ce score, datant de 1997, a analysé l'évolution d'une cohorte de 816 patients non traités atteints de SMD selon la classification FAB. Celle-ci incluait les anémies réfractaires avec excès de blastes en transformation (AREB-T), allant jusqu'à 30 % de blastes médullaires (3).

Il se base sur trois indicateurs: le pourcentage de blastes médullaires, les anomalies cytogénétiques au caryotype et le nombre de cytopénies. Ces données sont converties en scores numériques qui, une fois additionnés, permettent de classer le patient en quatre catégories de risque : faible, intermédiaire-1, intermédiaire-2 ou haut.

Ce score a permis de diviser la population des SMD en deux groupes :

- SMD de haut risque : 29 % des patients (comprenant les catégories intermédiaire-2 et haut) avec une survie médiane allant de 0,4 à 1,2 an
- SMD de faible risque : 71 % des patients (comprenant les scores faibles et intermédiaire-1), avec une survie médiane allant de 3,5 à 5,7 ans.

Tableau 7 : Calcul du score IPSS (50)

	0	0.5	1	1.5	2
Pourcentage de blastes médullaires	<5	5-10	-	11-20	21-30
Caryotype	<b>Bon:</b> Caryotype normal, -Y, del(5q), del(20q)	<b>Intermédiaire:</b> autres situations cytogénétiques	<b>Mauvais:</b> caryotype complexe, anomalie du 7		
Cytopénies	0/1	2/3			

Tableau 8 : Interprétation du score IPSS (50)

	IPSS score	25% d'évolution en LAM* (ans)	Survie globale (ans)
<b>Bas</b>	0	9.4	5.7
<b>Intermédiaire-1</b>	0.5-1	3.3	3.5
<b>Intermédiaire-2</b>	1.5-2	1.1	1.2
<b>Haut</b>	≥ 2.5	0.2	0.4

\* La LAM était définie à l'époque par la présence de plus de 30 % de blastes médullaires.

Ce score présente néanmoins des limites : son utilisation est restreinte au diagnostic des patients atteints d'un SMD primaire non traités et il ne prend pas en considération la profondeur des cytopénies.

## 2) Score IPSS-R

En 2012, une méta-analyse portant sur les données de 7012 patients atteints de SMD primitifs non traités a permis d'affiner les critères du score IPSS, menant à l'élaboration de l'IPSS-R. Ce dernier prend en compte la profondeur des cytopénies ainsi que la révision de la classification cytogénétique (Tableaux 9 et 10) (51).

Cette classification pronostique se divise en cinq catégories, permettant ainsi d'évaluer le risque comme très faible, faible, intermédiaire, élevé ou très élevé. La médiane de survie variant de 8,8 ans pour la catégorie de risque la plus faible à 0,8 an pour la catégorie de risque la plus élevé.

Bien que l'IPSS-R ait été initialement développé à partir de données de patients non traités, il a ensuite été validé chez des patients traités par lénalidomide (52), azacitidine (AZA) (53), ou encore qui ont bénéficié d'une allo-greffe de cellules souches hématopoïétique (54).

Tableau 9 : Calcul du score IPSS révisé (40)

	0	0.5	1	1.5	2	3	4
<b>Cytogénétique</b>	Très bon		Bon		Intermédiaire	Défavorable	Très défavorable
<b>Blastes médullaires</b>	≤ 2		>2 - <5%		5-10%	>10%	
<b>Hémoglobine (g/dL)</b>	≥ 10		8 - <10	<8			
<b>Plaquettes</b>	≥ 100	50 - <100	<50				
<b>Neutrophiles</b>	≥ 0.8	<0.8					

Tableau 10 : Interprétation du score IPSS révisé (40)

Catégorie de risque	Score	Survie médiane (années)	Temps à 25 % de transformation en LAM (années)
<b>Très bas</b>	≤ 1.5	8.8	Non atteinte
<b>Bas</b>	>1.5-3	5.3	10.8
<b>Intermédiaire</b>	>3-4.5	3.0	3.2
<b>Haut</b>	>4.5-6	1.6	1.4
<b>Très haut</b>	>6	0.8	0.7

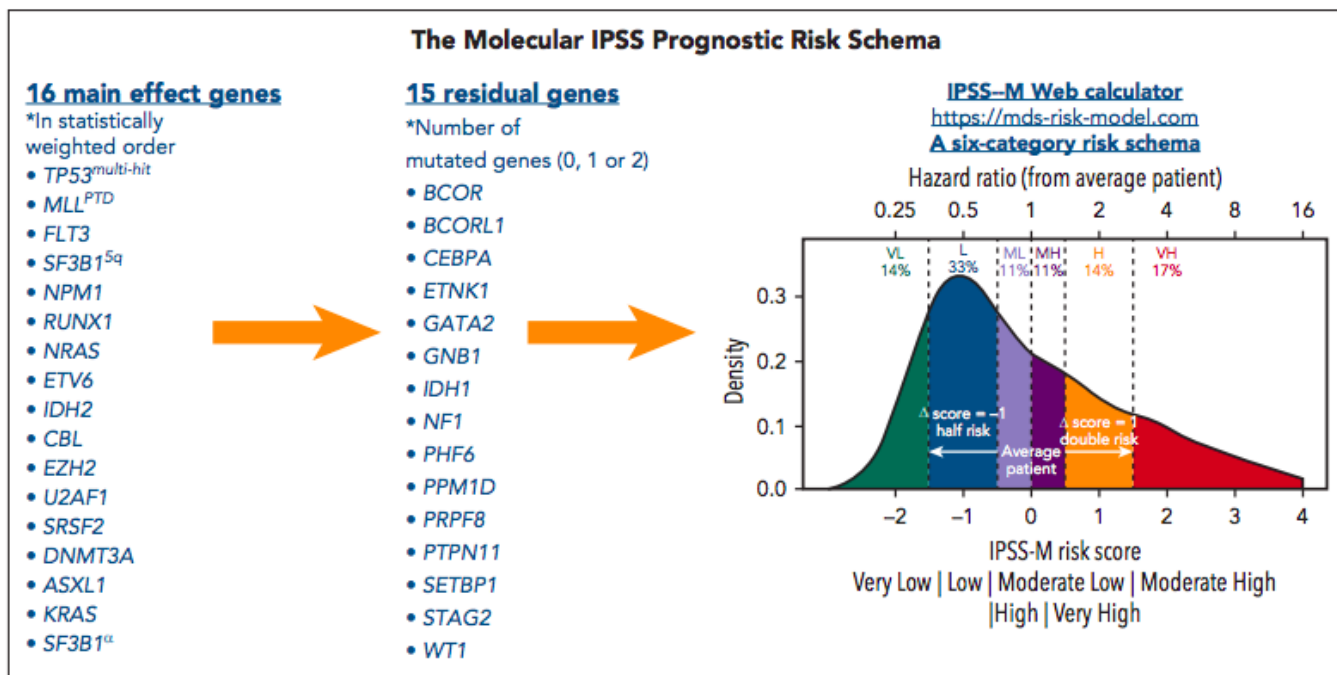
### 3) Score IPSS-M

Les mutations somatiques ont été intégrées et validées dans un score moléculaire appelé IPSS-M.

L'étude à l'origine du développement de ce score a analysé une cohorte de 2957 patients dont 894 activement traités, avec en cohorte de validation un ensemble de 754 patients (8).

En intégrant les mutations somatiques identifiées dans 31 gènes aux critères du score IPSS-R, ce nouveau score définit six sous-groupes pronostiques (Figure 7). Ainsi, 58% des patients atteints de SMD sont classés comme à faible risque (incluant les catégories très faible, faible et modéré-faible), tandis que 42 % des patients sont

classés comme à haut risque (incluant les catégories modéré-haut, haut et très haut risque).



SF3B1<sup>5q</sup> : mutation SF3B1 avec del(5q) isolée ou avec une autre anomalie à l'exception d'une monosomie 7/del(7q) ; SF3B1<sup>α</sup> : Mutation SF3B1 non associée à des mutations de BCOR, BCORL, RUNX1, NRAS, STAG2, SRSF2 ou une del(5q).

Figure 7 : Score IPSS-M (55)

Ce score moléculaire, calculable en renseignant les variables sur une page web, permet de reclasser le risque évolutif de 46 % des patients précédemment évalués par le score IPSS-R.

## H. Prise en charge

Les scores pronostiques permettent de distinguer les SMD à faible risque de ceux à haut risque, ce qui permet de déterminer les options thérapeutiques appropriées. Pour les formes à faible risque, il s'agit de corriger les cytopénies et/ou d'améliorer la qualité de vie, tandis que pour les formes à haut risque, l'objectif est de prolonger la survie globale et la survie sans leucémie.

## **1) Traitement des SMD de bas risque**

Lorsque les cytopénies sont modérées ou asymptomatiques, l'abstention thérapeutique est généralement proposée.

### **a) Traitement de l'anémie**

Quand l'anémie est symptomatique, il est préférable de mettre en place des traitements susceptibles de la corriger et éviter les transfusions globulaires.

Les agents stimulant l'érythropoïèse n'ont obtenu l'autorisation de mise sur le marché (AMM) qu'en 2018 pour traiter l'anémie dans SMD à faible risque, avec un taux d'hémoglobine inférieur à 10 g/dl et une concentration d'érythropoïétine (EPO) endogène inférieure à 200 UI/L. Cette approbation repose sur les résultats de deux grands essais cliniques multicentriques qui ont évalué l'efficacité de l'époétine alfa ou de la darbépoétine par rapport à un placebo dans les SMD à faible risque (56,57).

Les posologies sont généralement, pour les érythropoïétines alfa ou bêta de 40 000 à 60 000 U/semaine et pour la forme pégylée (darbépoétine) de 300 U/semaine. Ils donnent des résultats équivalents avec 65 % de répondeurs (58).

La réponse au traitement est généralement observée dans les douze premières semaines (59) et la durée médiane de réponse est de deux ans (60).

Il est à noter que les SMD de faible risque avec délétion 5q présentent une probabilité de réponse significativement plus faible par rapport aux autres SMD de faible risque. Leur durée de réponse est également plus courte (61).

Le lénalidomide (REVLIMID<sup>®</sup>), un immuno-modulateur, est d'ailleurs indiqué en deuxième intention pour le traitement des patients présentant une anémie avec dépendance transfusionnelle dans un contexte de SMD de bas risque associé à une anomalie cytogénétique de type délétion 5q isolée (62). Il permet ainsi de corriger l'anémie du syndrome 5q<sup>-</sup> dans deux tiers des cas, avec une durée médiane de réponse de 2 ans également (63).

De la même manière, le luspatercept, REBLOZYL<sup>®</sup> est indiqué en deuxième intention dans les cas de SMD de bas risque avec sidéroblastes en couronnes qui ont présenté une réponse non satisfaisante à la thérapie à base d'érythropoïétine ou qui y sont inéligibles (64).

D'autres options thérapeutiques sont évoquées dans les recommandations nationales et européennes pour certaines populations spécifiques, mais elles ne bénéficient pas encore d'une AMM en France à ce jour.

Les transfusions de concentrés de globules rouges doivent, quant à elle, être envisagées uniquement après l'échec de l'EPO et en l'absence d'autres alternatives thérapeutiques. Dans ce cas, le traitement repose sur des transfusions itératives de concentrés érythrocytaires phénotypés, dans le but de maintenir une hémoglobine sanguine supérieure à 10-11g/dL(1). Ces transfusions peuvent entraîner à long terme une surcharge en fer ou une hémochromatose post-transfusionnelle, ce qui nécessite de considérer un traitement chélateur du fer.

### **b) Traitement de la neutropénie**

Le traitement immédiat des infections par des antibiotiques à large spectre reste fondamental. Cependant, l'intérêt des facteurs de croissance granulocytaires, tels que le *Granulocyte Colony-Stimulating Factor* (G-CSF), dans la neutropénie associée aux SMD n'est pas démontré.

Si le G-CSF est capable de corriger la neutropénie dans environ deux tiers des cas, son utilisation au long cours pourrait comporter un risque théorique de stimulation des blastes médullaires (1). De plus, il n'a pas d'effet significatif sur l'incidence du risque infectieux et sur la survie.

En France, le G-CSF n'a pas d'AMM dans les SMD, sauf en cas de chimiothérapie.

## **c) Traitement de la thrombopénie**

L'androgénothérapie est efficace dans environ 30% des cas, notamment le danatrol à fortes doses (65). Par ailleurs, les rares cas de thrombopénie immunologiques peuvent être traités par corticothérapie ou splénectomie. Concernant la transfusion de concentrés de plaquettes, elle présente un risque d'allo-immunisation, elle doit donc être réservée aux épisodes de saignements ne répondant pas aux traitements locaux ou à la préparation d'une intervention chirurgicale. Ainsi, une transfusion plaquettaire ne doit pas être envisagée uniquement en raison d'un faible taux de plaquettes.

Les deux analogues de la thrombopoïétine actuellement disponibles n'ont pas d'AMM dans l'indication de SMD. L'évaluation du romiplostim chez des patients présentant une thrombopénie dans un contexte de SMD de risque IPSS faible ou intermédiaire 1 a montré une réponse plaquettaire dans 50 % des cas. Cependant, une augmentation du pourcentage de blastes, réversible à l'arrêt du traitement, a été observée chez 10 à 15 % des patients traités (66).

Quant à l'eltrombopag, il est efficace dans environ 40 à 50% des cas de SMD (67).

Actuellement, seul le romiplostim est indiqué dans le cadre d'une recommandation temporaire d'utilisation (RTU) dans le traitement des SMD avec thrombopénie symptomatique chez les patients ayant moins de 5% de blastes médullaires et de risque très faible, faible et intermédiaire selon le score R-IPSS (68).

## **2) Traitement des SMD de haut risque**

### **a) Chimiothérapie**

Avant l'introduction des agents hypométhylants, la chimiothérapie était souvent la seule option thérapeutique pour SMD, en dehors des soins de support.

La chimiothérapie intensive qui est principalement basée sur des combinaisons d'anthracycline et de cytarabine comme dans les LAM, donne 40 à 60% de rémission complète (RC) avec une durée médiane de réponse de douze mois. Cependant, ces résultats sont inférieurs à ceux observés chez les patients atteints de LAM (69,70).

Il est important de noter que les patients ayant un caryotype défavorable ont des taux de RC plus bas et des survies très courtes.

Par conséquent, la chimiothérapie intensive est généralement réservée aux patients les plus jeunes, présentant une cytogénétique favorable ou intermédiaire, souvent en vue d'une greffe (70).

### **b) Agents hypométhylants**

Les agents hypométhylants (HMA), l'azacitidine étant le seul disponible en France, constituent actuellement le traitement de première ligne pour la plupart des SMD de haut risque.

En effet, un essai randomisé chez les patients atteints de SMD de haut risque a montré que l'AZA offre un avantage en termes de survie par rapport aux soins conventionnels, incluant les soins de support, la cytarabine à faible dose ou la chimiothérapie intensive : la survie médiane était de 24,5 mois contre 15 mois.

De plus, cette étude a démontré que l'AZA permet de retarder la progression vers la LAM et d'augmenter l'indépendance transfusionnelle (71).

Cependant, le délai médian de réponse étant de plus de trois mois, les réponses à l'AZA sont souvent lentes à apparaître, certains patients ne répondant qu'après six cycles (72).

Bien qu'une réponse ait été observée chez 49 % des patients, seuls 17 % ont obtenu une RC. La majorité des réponses correspondait à une «amélioration hématologique» soit une amélioration des cytopénies.

### **c) Greffe de CSH**

Enfin, l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques est à ce jour le seul traitement potentiellement curatif des SMD.

Elle est généralement réservée aux patients de moins de 70 ans présentant un SMD de haut risque et nécessitant un donneur HLA identique, qu'il soit familial ou non, ce qui représente environ 10 à 15 % des cas de SMD (21).

L'allogreffe reste néanmoins une option thérapeutique à considérer pour les SMD de plus faible risque, principalement chez les patients présentant des cytopénies sévères avec des besoins transfusionnels importants, en présence de mutations somatiques de mauvais pronostic, en cas de mauvaise réponse au traitement, ou encore en cas d'évolution vers un risque plus élevé au cours du suivi (72,73).

L'indication d'allogreffe dans les SMD repose sur le rapport bénéfice/risque entre le risque de décès lié à la maladie sans allogreffe et le risque de mortalité lié à la transplantation. Ce rapport est évalué en fonction de critères liés à l'hémopathie et de critères propres au patient, tels que l'âge et les comorbidités.

Les résultats obtenus par l'allogreffe sont très variables et dépendent notamment fortement des caractéristiques cytogénétiques et moléculaires. Les cytogénétiques défavorables, telles qu'un caryotype complexe ou monosomal, sont associées à un risque accru de rechute et de mortalité (74,75).

La mortalité liée à l'allogreffe est généralement précoce, survenant au cours des deux années suivant la greffe, bien que le risque accru de mortalité persiste à long terme. (76).

Les principales causes de décès sont la maladie du greffon contre l'hôte, les infections bactériennes, virales ou fongiques, ainsi que la toxicité des chimiothérapies de conditionnement.

## II. La cartographie optique du génome : un nouvel outil

### A. Principe

La cartographie optique du génome (COG ou OGM anglais), initialement décrite par Schwartz *et al.* dans les années 1990 (77) , est une technique permettant une reconstitution de haute résolution du génome à partir de molécules d'ADN marquées de manière spécifique.

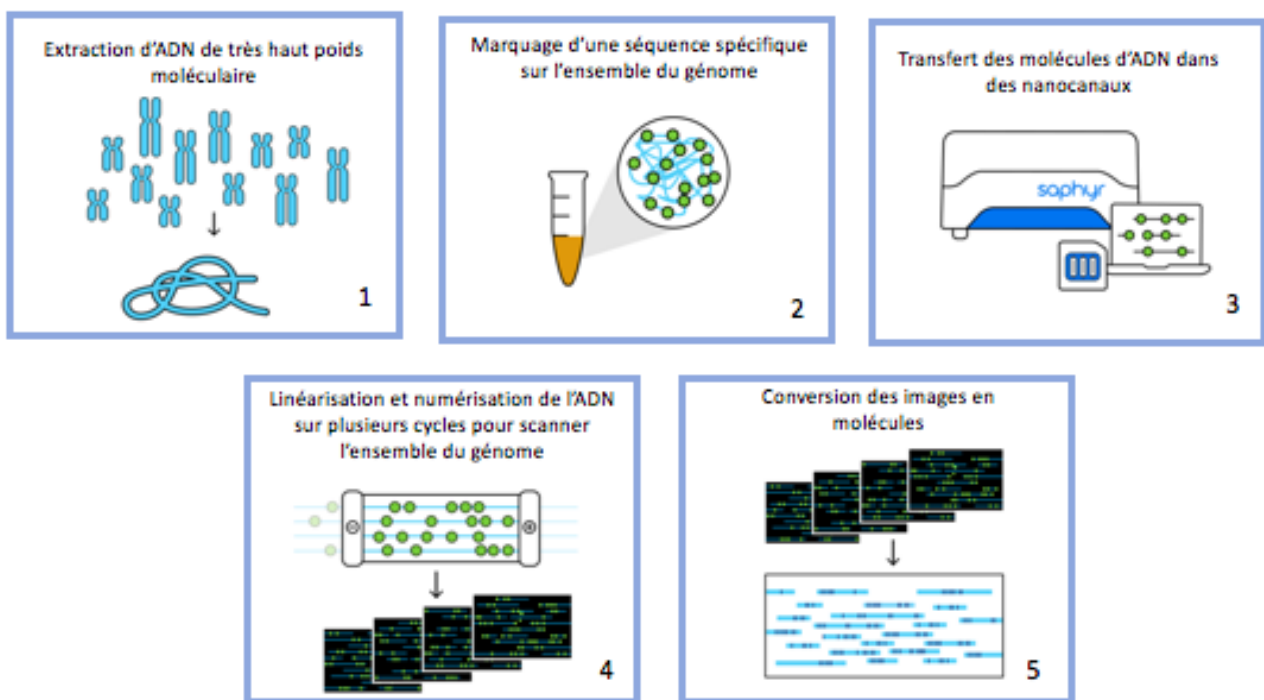


Figure 8 : Résumé des étapes techniques de la COG (78)

Cette technique nécessite l'extraction d'ADN de très haut poids moléculaire (THPM) (>150 kb), qui est par la suite marqué par une enzyme. Celle-ci reconnaît une séquence de 6 nucléotides (CTTAAG) qui se répète environ tous les 6-7 kb, et y transfère un marqueur fluorescent par liaison covalente (Figure 8).

Cet ADN marqué est ensuite déposé sur une puce comportant des nanocanaux de lecture. Les molécules sont alors linéarisées sous un champ électrique et les signaux

fluorescents sont séquentiellement lus sur plusieurs cycles, restituant des images assimilables à un « code-barres » spécifique à chaque chromosome. Ces images sont converties en molécules numériques, puis assemblées bioinformatiquement pour aboutir à une analyse du génome permettant d'identifier de manière pangénomique et non ciblée les variants de structure (SV) et les anomalies du nombre de copies (CNV). Cette reconstitution peut être réalisée selon deux algorithmes. L'algorithme *De Novo Assembly* permet un assemblage de proche en proche en reliant les molécules acquises par chevauchement. L'assemblage obtenu est ensuite aligné sur un génome de référence.

L'algorithme *Rare Variant Analysis* (RVA) assemble quant à lui directement les molécules sur le génome de référence, ce qui en fait l'algorithme le plus approprié pour détecter les événements rares (79).

La résolution de cette technique est 100x à 20 000x supérieure à celle du caryotype en fonction du type d'anomalie (80).

## **B. Apport en oncohématologie**

La COG a démontré son utilité dans divers domaines de la génétique humaine. Initialement utilisée à des fins de recherche, la COG s'intègre désormais parmi les outils disponibles pour le diagnostic.

En effet, des études ont montré que cette technique peut être utile pour élucider des anomalies complexes retrouvées dans les tumeurs solides . Elle a par ailleurs produit de bons résultats pour la détection de variants structuraux ainsi que la caractérisation de pathologies constitutionnelles (81,82).

De plus, plusieurs publications récentes se sont intéressées aux performances de la COG dans des contextes d'hémopathies à la fois myéloïdes (83,84) et lymphoïdes (85–88).

Ces études, aux résultats très prometteurs, ont démontré que la COG possède une sensibilité et une résolution égales ou supérieures aux techniques de cytogénétiques conventionnelles pour la détection des anomalies diagnostiques et pronostiques dans les hémopathies malignes, avec relativement peu de discordances.

Ainsi, de nombreux laboratoires ont commencé à envisager l'utilisation de la COG pour la détection des anomalies cytogénétiques dans les hémopathies.

Dans ce contexte, un consortium a été formé par un groupe international de cytogénéticiens utilisant la COG dans des contextes d'hémopathies. Leur objectif est d'établir un cadre consensuel et d'uniformiser l'implémentation de cette technique en oncohématologie (89).

De plus, sous l'égide du Groupe Francophone de Cytogénétique Hématologique (GFCH), un groupe rassemblant des laboratoires de cytogénétique de France, Montréal, Suisse et Belgique s'est récemment structuré pour également promouvoir une étude médico-économique de cette nouvelle technologie : French-speaking OGM Group of GFCH (FrOGG).

## **OBJECTIFS DE L'ETUDE**

Parce que cet outil permet d'obtenir en une seule approche les informations complémentaires jusqu'à présent recherchées en cytogénétique par une analyse du caryotype et de la FISH, il semble intéressant de pouvoir évaluer sa performance dans des pathologies nécessitant la réalisation de ces deux techniques complémentaires. C'est déjà le cas au sein de l'Institut de Génétique Médicale du CHU de Lille, où la COG est utilisée dans le contexte de leucémies aiguës, notamment les leucémies aiguës lymphoblastiques pédiatriques dans le cadre d'un essai clinique européen (ALLTogether).

Les SMD représentent l'indication majoritaire des prescriptions de cytogénétique au laboratoire, avec environ 50 % des patients présentant un caryotype sans anomalie identifiable.

Étant donné que la COG offre une résolution nettement supérieure et que les anomalies cytogénétiques jouent un rôle crucial dans la stratification pronostique des SMD, nous avons voulu évaluer, à travers ce travail, la place de la COG dans cette indication.

Nous avons pour cela comparé les résultats de la COG à ceux obtenus par cytogénétique conventionnelle sur une cohorte rétrospective de 50 patients avec un diagnostic de SMD avéré, puis évalué l'impact potentiel de cette nouvelle technique sur les scores pronostiques habituels.

# MATERIELS ET METHODES

## I. Patients

Dans le cadre de ce travail, les 50 cas de SMD ont été sélectionnés de manière rétrospective entre octobre 2020 et juin 2024 dans le cadre d'une prescription de cytogénétique dans un contexte de diagnostic ou de suivi de SMD.

Parmi ces 50 demandes, 16 proviennent du CHU de Lille (32%) et 34 d'autres centres hospitaliers (CH) de la région (68%) : Lens, Arras, Valenciennes, Roubaix, Dunkerque, Saint-Philibert et Hazebrouck.

Les critères d'inclusions sont les suivants : un âge supérieur à 18 ans, des caractéristiques cytologiques, cytogénétiques ou moléculaires permettant de retenir le diagnostic de SMD selon la classification OMS 2022.

Les caractéristiques des patients sélectionnés sont résumées dans le Tableau 11.

Tableau 11 : Caractéristiques de la cohorte étudiée

<b>Caractéristiques des patients</b>	
Femmes	24 (48%)
Hommes	26 (52%)
Âge minimal	53 ans
Âge maximal	91 ans
Âge médian	75 ans
<b>Caractéristiques des SMD</b>	
SMD <i>de novo</i>	40 (80%)
SMD secondaire	10 (20%)
SMD au diagnostic	39 (78%)
SMD en suivi	11 (22%)
<b>Nature des prélèvements</b>	
Sang	1 (2%)
Moelle osseuse	49 (98%)
<b>Caractéristiques cytogénétiques</b>	
Caryotype normal	25 (50%)
Caryotype/FISH avec au moins une anomalie	24 (48%)
Échec du caryotype	1 (2%)
Caryotypes complexes	3 (6%)

La répartition des patients analysés selon la classification OMS 2022 est présentée dans la Figure 9.

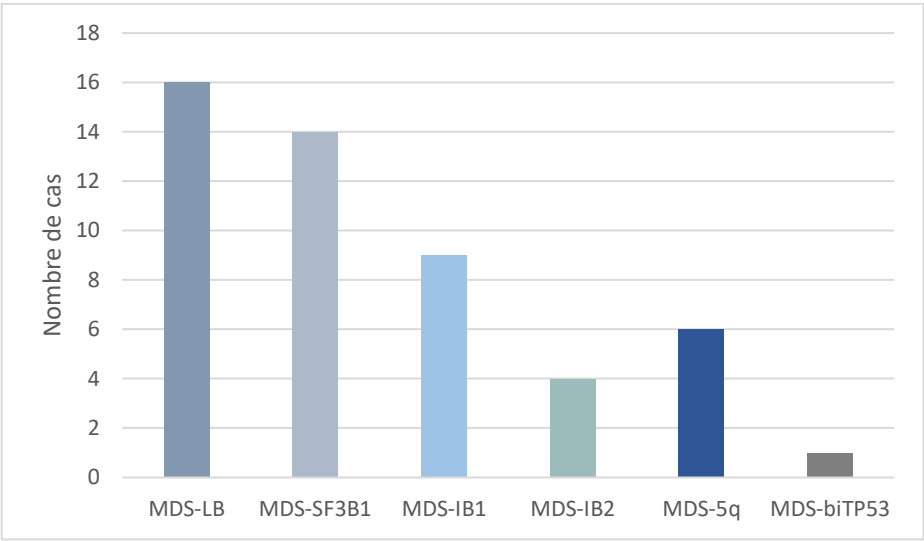


Figure 9 : Répartition de la cohorte étudiée selon la classification OMS 2022

Les scores cytogénétiques et IPSS-R ont été calculés pour chaque patient et sont présentés dans les Figures 10 et 11.

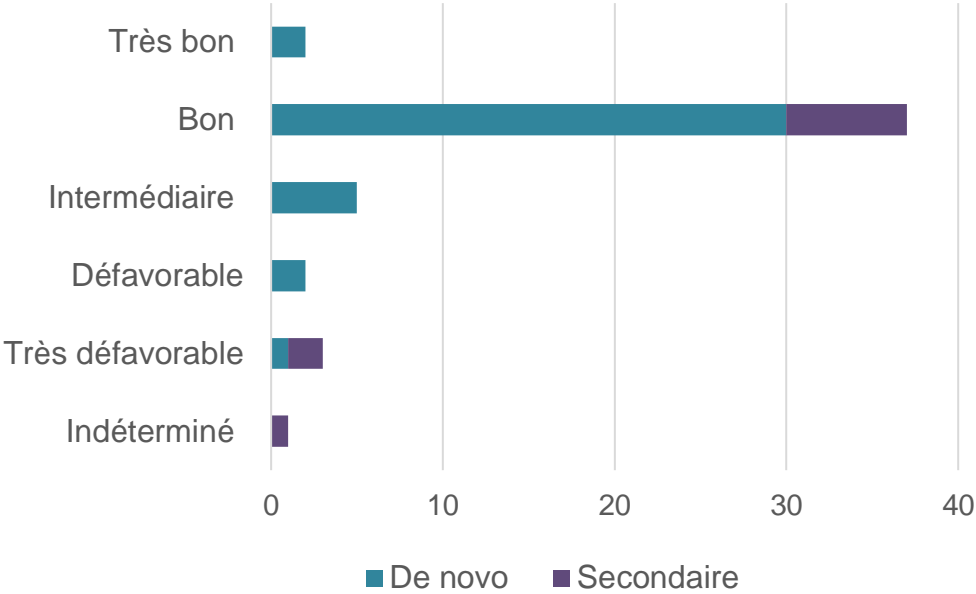


Figure 10 : Répartition des scores cytogénétiques de la cohorte

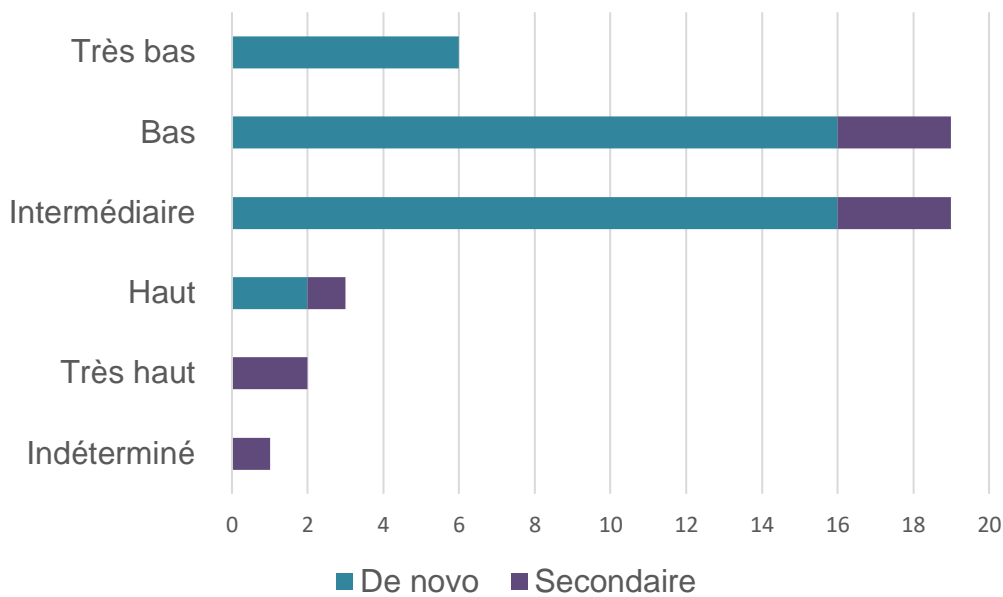


Figure 11 : Répartition des scores IPSS-R de la cohorte

## II. Cytogénétique conventionnelle

Les cultures ont été réalisées pendant 24 ou 48h à 37°C en milieu *Roswell Park Memorial Institute Medium* (RPMI) supplémenté de G-CSF.

À la fin de la culture, de la colchicine est ajoutée pour bloquer les divisions cellulaires en métaphase, suivie d'un choc hypotonique au KCl appliqué sur le culot cellulaire.

Les échantillons sont ensuite fixés par un mélange éthanol/méthanol avant d'être étalés sur des lames de verre pour obtenir des métaphases analysables.

Par la suite, les chromosomes sont dénaturés par une digestion ménagée enzymatique à l'aide d'une solution de trypsine, puis colorés au Giemsa, ce qui permet l'obtention d'un «banding » chromosomique spécifique de chaque paire de chromosomes. L'analyse des métaphases est réalisée à l'aide du logiciel Cytovision (*Leica Biosystems*) après lecture au microscope automatisé. Pour chaque échantillon, 20 métaphases sont analysées au minimum conformément au guide des bonnes

pratiques de cytogénétique (37). Les formules chromosomiques sont établies selon la nomenclature en vigueur.

### **III. Hémogramme et cytologie**

Les paramètres de l'hémogramme ainsi que la lecture des myélogrammes ont été réalisés par les centres respectifs.

Ces données ont permis à la fois de confirmer le diagnostic pour les cas de SMD définis morphologiquement, mais également le calcul du score IPSS-R pour chaque patient.

### **IV. Biologie moléculaire**

Parmi les 50 patients, 40 (80%) ont des résultats de biologie moléculaire associés issus du laboratoire d'Hématologie du CHU de Lille.

L'analyse du profil mutationnel par séquençage nouvelle génération (NGS) a été réalisée sur la plateforme NovaSeq (ILLUMINA®) avec un enrichissement préalable par capture TWIST®.

Le panel NGS dans le cadre des hémopathies myéloïdes comprend 90 gènes dont la liste est détaillée en annexe n°4.

### **V. Analyse par COG**

Des culots spécifiques ont été réalisés en vue de l'analyse par COG à partir des prélèvements reçus sur tubes héparinés dans le cadre de l'analyse cytogénétique.

Ces culots sont préparés de manière à contenir 1,5 million de cellules et 10% du volume d'EDTA, puis congelés à -80°C.

La technique de COG utilisée repose sur la technologie *Saphyr* de *Bionano Genomics*. Ainsi, le protocole opératoire a été réalisé selon les procédures recommandées (étapes détaillées en annexe n°2 et 3).

## **A. Extraction de l'ADN de THPM**

Cette étape a été réalisée à l'aide du « Kit Bionano Prep SP-G2 blood and cell DNA isolation » en suivant le protocole correspondant intitulé « Protocole Bionano Prep SP-G2 pour l'extraction d'ADN à partir de culots de cellules congelées » (90).

Ce protocole permet d'obtenir de l'ADN génomique (ADNg) de THPM en environ trois heures et demie à partir de 1,5 million de cellules congelées.

La lyse cellulaire et la digestion par la protéinase K thermolabile ont lieu dans un tampon chaotrope. L'ADNg ainsi libéré se lie à un disque magnétique lors de l'ajout d'isopropanol. Ensuite, trois étapes de lavage sont nécessaires avant de transférer le disque dans un nouveau tube où l'ADNg est élué.

L'ADNg de THPM obtenu est soumis à une fragmentation mécanique limitée afin de le rendre plus homogène. Il est ensuite mélangé et laissé à température ambiante pendant une nuit afin d'améliorer son homogénéité avant de le quantifier le jour suivant.

Cette quantification permet de déterminer la concentration et sert d'indicateur de l'homogénéité de l'ADNg de THPM : trois dosages sont réalisés à différents endroits dans la solution. Ils sont préparés en parallèle de 2 échantillons calibrateurs puis dosés sur le Quantifluor (Promega).

En général, la concentration de l'ADNg est comprise entre 45 ng/μl et 120 ng/μl.

L'ADNg récupéré est considéré homogène si sa quantification est associée à un coefficient de variation (CV)  $\leq 0,30$ .

## **B. Marquage**

Cette étape a été réalisée à l'aide du kit Bionano Prep DLS-G en suivant le protocole correspondant. Il permet de marquer un motif de séquence spécifique au moyen de l'enzyme de marquage DLE-1.

Pour ce faire, une solution d'ADNg de THPM de 750 ng est incubée en présence de l'enzyme DLE-1 et de fluorophores verts. Après nettoyage de l'excès de fluorophores

et dénaturation rapide de l'enzyme DLE-1 restante par la protéinase K, l'ADNg marqué est coloré pour pouvoir visualiser le squelette de l'ADN.

L'homogénéité de cet ADNg est évaluée par deux quantifications dont le CV doit être inférieur à 30%. Si l'ADN marqué est homogène, la concentration peut être estimée avec précision, permettant un chargement plus uniforme de l'ADNg sur la puce.

La concentration de l'ADNg marqué doit être comprise entre 4 et 16 ng/ $\mu$ l.

### **C. Dépôt sur puce**

Enfin, les molécules d'ADNg de THPM marqué sont déposées dans les microcanaux de la puce, qui est ensuite insérée dans l'automate Saphyr de Bionano Genomics pour la lecture optique des signaux fluorescents. Cette lecture s'effectue après migration des brins d'ADNg de THPM par électrophorèse au sein des nanocanaux de la puce et se poursuit jusqu'à atteindre une couverture de 300X. A noter qu'une puce comprend 3 cellules de flux et que 2 puces peuvent être chargées simultanément sur l'instrument. La lecture de la série dure généralement entre 24 à 48 heures.

### **D. Analyse informatique**

L'analyse des données a été effectuée via le logiciel Bionano Access (v1.8.2).

La première étape consiste à évaluer les paramètres de qualité de l'échantillon (Tableau 12), principalement :

- La répartition de la longueur des molécules extraites et marquées (N50 pour des molécules  $\geq 150$  kb et N50 des molécules  $\geq 20$  kb). Les molécules d'ADN de THPM ( $\geq 150$  kb) sont essentielles pour un alignement optimal sur le génome de référence et pour la détection des SV par le pipeline. Les molécules courtes qui peuvent résulter d'une dégradation de l'ADN pendant la préparation de l'échantillon ou provenant d'un échantillon initialement dégradé, entraîneront probablement un taux de cartographie inférieur et une analyse moins sensible.
- Le taux de cartographie (*Map Rate*) : il correspond au pourcentage de molécules qui sont alignées sur le génome de référence. Ce taux est un

indicateur utile de la proportion de données brutes pouvant être utilisée dans l'analyse. Un taux de cartographie supérieur à 70 % est recommandé.

- La profondeur effective (*Effective coverage*) : elle est calculée à partir de la quantité totale d'ADN collectée (en Gb), multipliée par le taux de cartographie et divisée par la taille du génome de référence.

Une couverture effective élevée est essentielle pour détecter des événements à VAF faible et pour une détection précise des variations du nombre de copies.

Tableau 12 : Cibles des paramètres analytiques évaluant la qualité de l'échantillon (89)

Paramètre	Cible
Profondeur effective	≥ 340x
N50 (≥ 150 kb)	≥230 kb
N50 (≥ 20 kb)	≥150 kb
Taux de cartographie	≥70%

Lorsque le fichier « molécules » est jugé de qualité suffisante, il peut être analysé en utilisant le pipeline informatique RVA, celui-ci étant plus adapté à l'analyse par COG en onco-hématologie que le *De Novo Assembly* (79).

L'analyse des données a été réalisée simultanément par deux algorithmes distincts :

- L'algorithme CNV qui permet une analyse quantitative du génome en se basant sur la profondeur de couverture de l'alignement des molécules pour identifier les segments de gain et de perte du nombre de copie.
- L'algorithme SV qui offre quant à lui une analyse qualitative du génome en se basant sur la séquence des marqueurs fluorescents et les variations éventuelles par rapport au génome de référence.

Les échantillons ayant complété un pipeline d'analyse génèrent un rapport informatique permettant de vérifier si les données répondent aux critères de qualité recommandés afin d'évaluer les limites de l'analyse finale.

Les échantillons doivent notamment avoir une profondeur effective post-analyse supérieure ou égale à 300X. Cela permet d'atteindre une sensibilité de 90% pour la détection de SV ayant une VAF allant jusqu'à 5% et de CNV ayant une VAF allant jusqu'à 10 % à 15 %.

Les échantillons qui n'atteignent pas les cibles énoncées pour les paramètres cités, sont donc de qualité suboptimale mais restent informatifs et peuvent tout de même être analysés. Cependant, il faut faire preuve de prudence dans l'interprétation, car la sensibilité pour la détection des SV et des CNV pourrait être réduite.

Enfin, le paramétrage des filtres d'analyse est une étape cruciale de l'analyse des données de cartographie optique. En effet, les anomalies peuvent être rendues visibles ou masquées selon les filtres appliqués.

Le Tableau 13 résume les filtres retenus pour l'analyse des patients. Ils correspondent à ceux recommandés par le consortium international pour l'analyse par COG dans les hémopathies (89). Ces filtres se basent principalement sur les recommandations de *Bionano Genomics* (91).

Afin de s'affranchir d'une partie des polymorphismes de la population générale, les anomalies présentes chez plus de 1 % de la cohorte contrôle de Bionano Genomics composée de patients indemnes de pathologie, ont été éliminées.

La taille minimale retenue pour les anomalies vues par l'algorithme CNV est fixée à 500 kb (en comparaison, on estime que la résolution moyenne d'un caryotype est de 10 Mb).

Tableau 13 : Filtres d'analyse recommandés (89)

Filter section	Filter parameters	Recommended setting
SV type	Insertion, deletion, inversion, duplication, intra-fusion, inter-translocation	Recommended
General SV filters	SV masking filter VAF filter min VAF filter max	All structural variants 0 1
Variant annotation filters	SV in $\leq$ this % in control db with the same enzyme SV self-molecule check Self-molecule count SV in $\leq$ to this % of the control db SV overlapping genes filter	1% SV found in self molecules 5 1% All SVs
Copy number filters	Copy number variant type Copy number variant confidence Copy number variant minimum sizes (bp) Copy number variant masking filter	All Recommended 500 000 All copy number variants
Aneuploidy filters	Aneuploidy type Aneuploidy confidence	All Recommended

## E. Interprétation

L'interprétation des dossiers a été faite par le même opérateur (W.CHKILI : interne en biologie médicale) en aveugle par rapport aux résultats des techniques de cytogénétique conventionnelles et de biologie moléculaire.

Les variants filtrés ont été triés en éliminant tout d'abord les artefacts. Pour ce faire, le fichier BED (*Browser Extensible Data*) « DLE SV Mask » a été utilisé. Il permet de visualiser les régions où les artefacts sont plus fréquents. C'est notamment le cas des régions présentant des lacunes dans les séquences de référence, des régions hautement répétées présentes à de multiples emplacements dans le génome (par exemple, les transposons) ou encore des duplications segmentaires. Ainsi, les

variants se chevauchant avec ces régions difficiles à cartographier sont très probablement des artéfacts.

Les translocations avec un alignement incorrect ou situées à proximité de ces régions ont également été exclues.

Parmi les anomalies restantes, celles qui ont été retenues sont les suivantes :

- Les translocations non considérées comme des artéfacts.
- Tous les CNV > 500 kb.
- Tous les SV > 10 Mb.
- Tous les variants, quelle que soit leur taille, s'ils chevauchent l'un des gènes définis comme pertinents dans les hémopathies myéloïdes (en se fiant au fichier BED réalisé à partir du panel NGS myéloïde de 90 gènes utilisé pour l'analyse mutationnelle de ces patients).

Les résultats ont été par la suite confrontés aux données de cytogénétique conventionnelle pour chaque dossier.

Les anomalies supplémentaires identifiées par COG ont été confirmées, dans la mesure du possible, par une autre technique (cytogénétique ou moléculaire).

# RESULTATS

Sur les 50 patients sélectionnés, 48 ont pu être analysés avec une profondeur moyenne de 328x. Les résultats sont résumés dans le Tableau 14 ci-dessous.

Tableau 14 : Résumé des anomalies détectées en cytogénétique conventionnelle et en COG

N° patient	Cytogénétique conventionnelle	OGM	del(7q)	del(5q)	- Y	del(20q)	del(12p)	+21	inv(3q)	Complexe	KMT2A-PTD	del(9q)	del(13q)	del(4q)	ider(20q)	t(7;12)	de(1p)	inv(22)	inv(2)				
25	Normal =25	Échec																					
33																							
5		Normal=18																					
8																							
9																							
10																							
11																							
12																							
15																							
16																							
18																							
22																							
24																							
28																							
31																							
32																							
37																							
38																							
41																							
49																							
2	Échec	Anormal=30																					
3																							
23																							
36																							
47																							
45																							
1			Anormal=24	Anormal=30																			
4																							
6																							
7																							
13																							
14																							
17																							
19																							
20																							
21																							
26																							
27																							
29																							
30																							
34																							
35																							
39																							
40																							
42																							
43																							
44																							
46																							
48																							
50																							

- Anomalies détectées au caryotype/FISH et COG
- Anomalies détectées en COG mais pas au caryotype/FISH
- Anomalies détectées au caryotype/FISH mais pas en COG
- Anomalies détectées au caryotype/FISH et précisées en COG

## I. Cas à cytogénétique conventionnelle normale

La COG n'a pas retrouvé d'anomalie significative pour 18 des 25 patients présentant un caryotype normal.

Parmi les 7 patients restants, deux n'ont pas pu être analysés à cause de données de qualité insuffisante. En effet, les cas n°25 et 33 avaient une profondeur de 56x et 28x respectivement. Ils ont ainsi été considérés comme des échecs.

Pour les 5 autres cas, la COG a révélé des anomalies additionnelles :

- Patient n°36 : une délétion 1p de 5Mb qui a également été identifiée en NGS.
- Patient n°23 : une délétion 7q de 60 kb dans le gène *CUX1*, qui n'a pas pu être confirmée par la technique FISH. Ce patient n'a pas pu bénéficier par ailleurs d'un bilan moléculaire.
- Patient n°47 : une insertion dans le gène *KMT2A* qui correspond à une duplication partielle en tandem (*KMT2A-PTD*) (Figure 12). Cette anomalie n'a pas été mentionnée dans les résultats de biologie moléculaire.
- Patient n°3 : une inversion 22q paracentrique de 11,5 Mb
- Patient n°2 : une inversion 2q paracentrique de 43 Mb

Ces deux dernières inversions ne sont pas identifiables par les outils moléculaires utilisés en routine onco-hématologique actuellement.

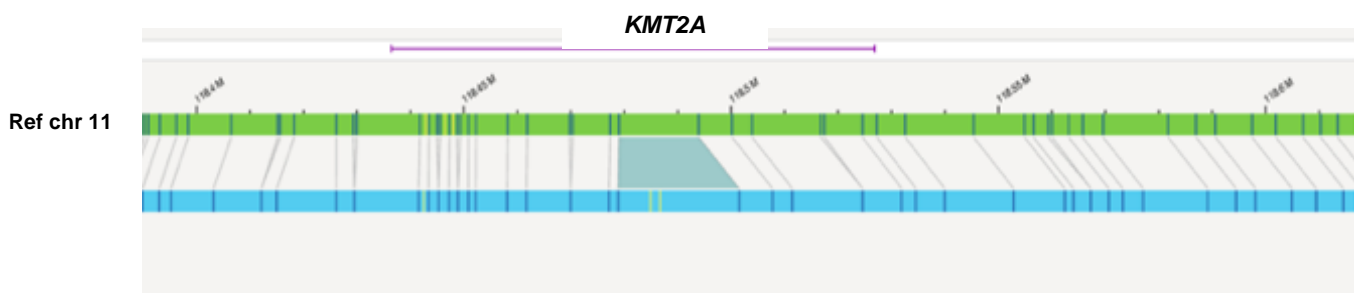


Figure 12 : Anomalie *KMT2A-PTD* du patient n°47

## II. Cas à cytogénétique avec au moins une anomalie

La COG a détecté la plupart des anomalies observées en cytogénétique conventionnelle, notamment les aneuploïdies telles que la perte du chromosome Y ou encore le gain d'un chromosome 21, ainsi que les SV déséquilibrés comme, par exemple, les délétions des bras longs des chromosomes 5 et 20 (Figures 13, 14 et 15).

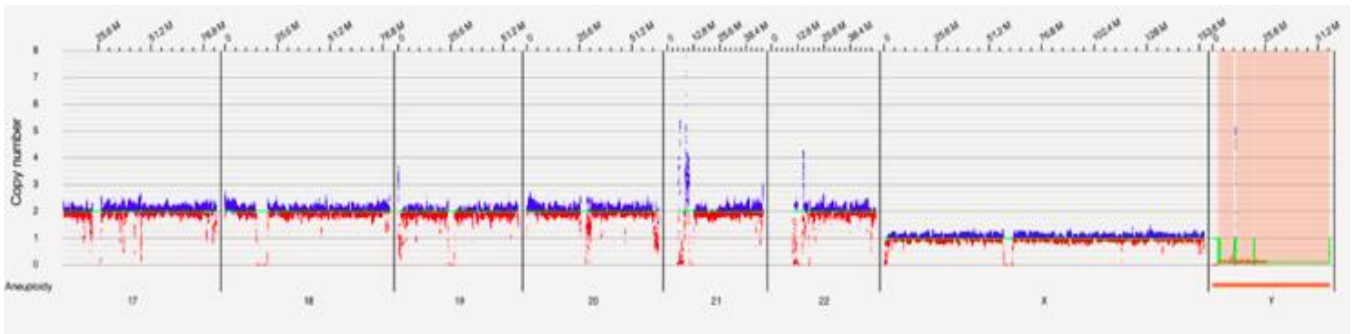


Figure 13 : Anomalie -Y du patient n°20

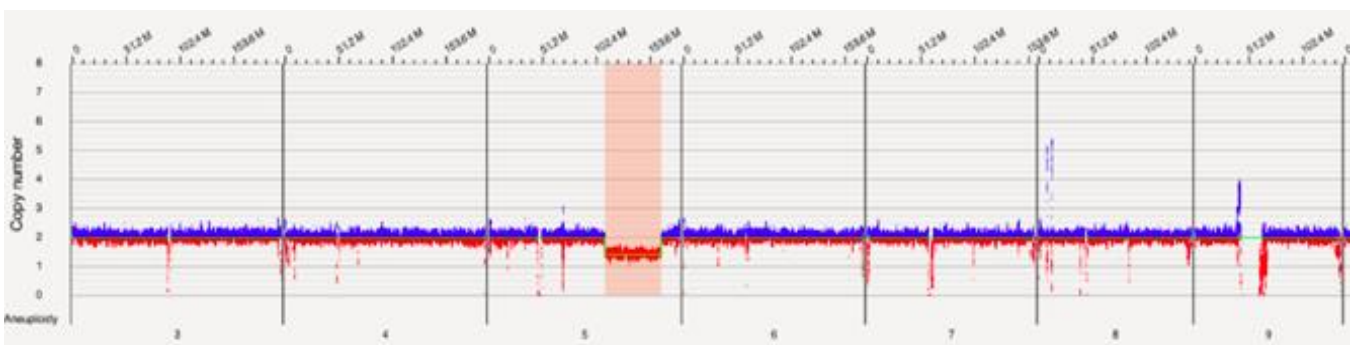


Figure 14 : Délétion 5q du patient n°29

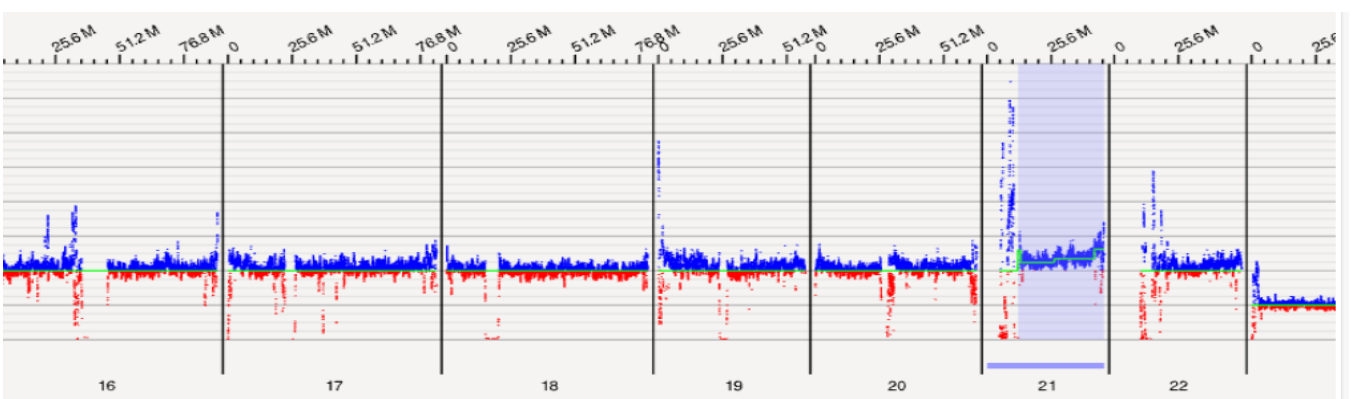


Figure 15 : Anomalie +21 du patient n°4

La COG a également permis de révéler des anomalies additionnelles pour les patients suivants :

- Patient n°4 : une délétion 4q de 171 kb qui emporte le gène *TET2*. Cette anomalie a également été identifiée en NGS (Figure 16).

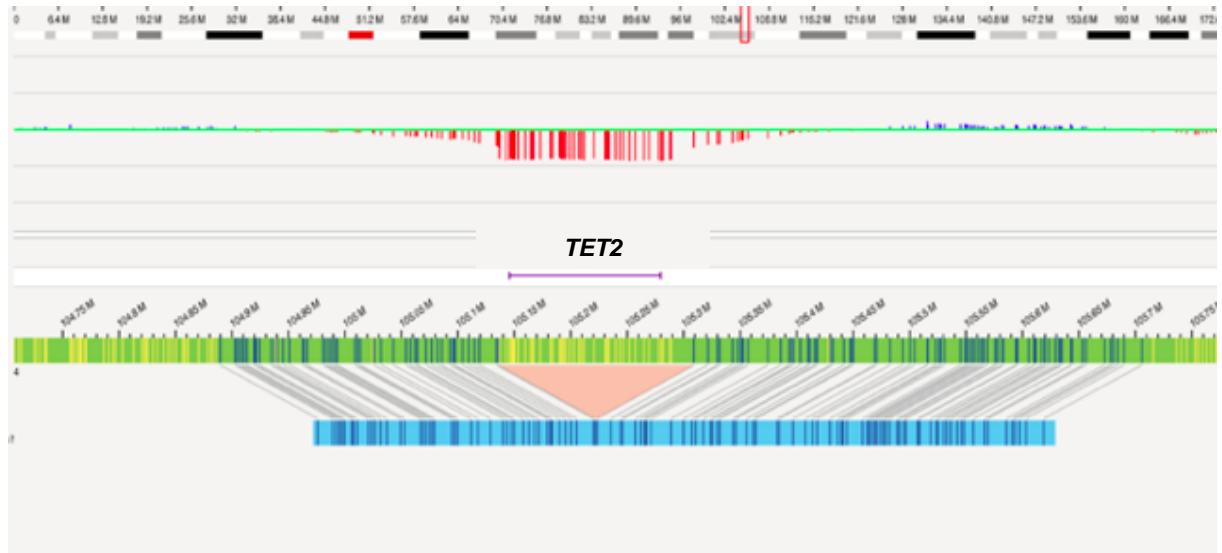


Figure 16 : Délétion 4q du patient n°4

- Patient n°40 : une délétion 7q de 874 kb qui emporte le gène *CUX1*. Cette anomalie a été confirmée en FISH (Figure 17)

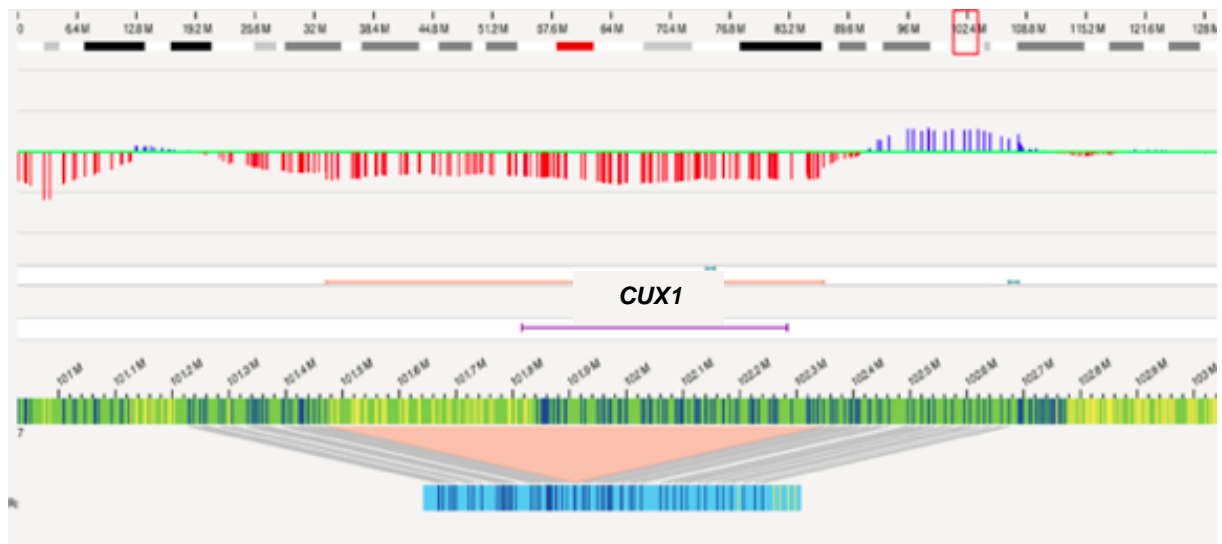


Figure 17 : Délétion 7q du patient n°40

- Patient n°50 : une inversion 3q aboutissant à un réarrangement de *MECOM* menant à la fusion *MECOM::TBL1XR1*, non visible en FISH et sans surexpression de *MECOM* associée en biologie moléculaire (Figure 18).

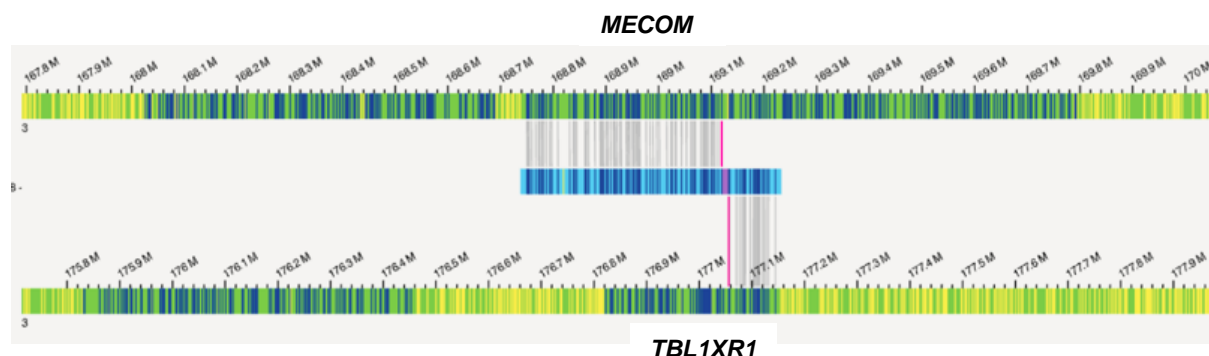


Figure 18 : Fusion *MECOM::TBL1XR1* (patient n°50)

- Patient n°30 : une délétion 4q de 16Mb emportant le locus *TET2* ainsi qu'une amplification ciblée du gène *ERG*. Les deux anomalies ont également été identifiées en NGS.

De plus, la COG a permis de préciser les anomalies observées en cytogénétique conventionnelle :

- Patient n°34 : le caryotype complexe de ce patient correspond à un profil de chromoanagenesis en COG. Il s'agit plus précisément d'un chromothripsis impliquant notamment les chromosomes 5, 7 et 15 (Figure 19).
- Patient n°13 : la délétion 20q décrite au caryotype correspond, en COG, à un isochromosome du bras long du chromosome 20 avec une perte de matériel interstitiel, soit une *ider(20q)*.
- Patient n°1 : la translocation (7;12) décrite au caryotype est bien retrouvée en COG mais, elle n'est pas équilibrée. En effet la COG révèle une délétion 12p associée de 3 Mb qui emporte *ETV6*. Ce patient n'a par ailleurs pas bénéficié d'un bilan moléculaire.
- Patient n°30 : le caryotype complexe de ce patient présentait plusieurs chromosomes marqueurs que la COG a permis de caractériser : il s'agit de remaniements complexes impliquant notamment les chromosomes 9 et 21.

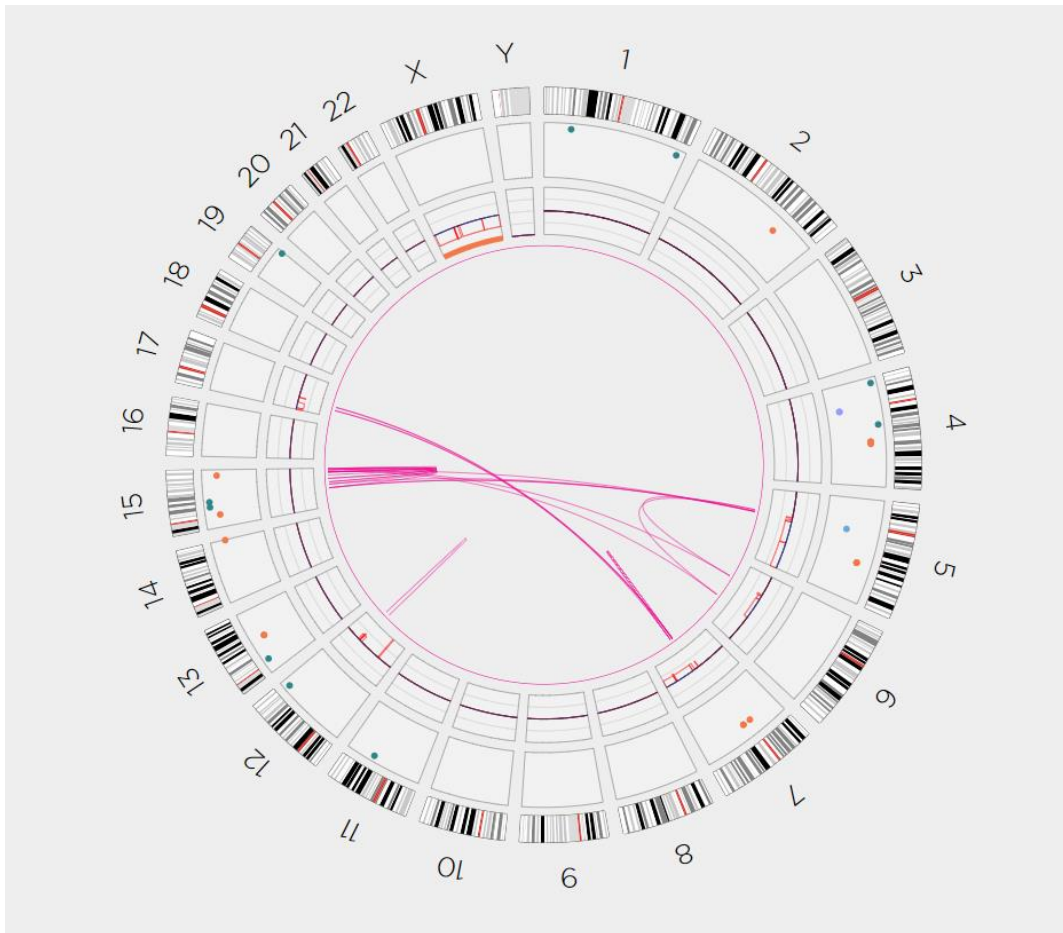


Figure 19 : Chromothripsis du patient n°34

Par ailleurs, deux anomalies vues au caryotype n'ont pas été retrouvées en COG :

- Patient n°42 : la délétion 9q observée dans 2 métaphases sur 20 au caryotype n'est pas visible en COG. Le clone n'a malheureusement pas pu être quantifié avec une sonde FISH adaptée.
- Patient n°26 : le caryotype est complexe, avec un clone initial portant une délétion 11q et plusieurs sous-clones présentant notamment une délétion 5q et une délétion 20q.

Toutes les anomalies sont retrouvées en COG, à l'exception du dernier sous-clone, décrit dans 3 métaphases sur 22 analysées, qui présente un chromosome 9 dérivé associé à une délétion 13q.

Enfin, pour le patient n°45 dont le caryotype était un échec, la COG a permis de mettre en évidence une délétion 7q confirmée en FISH (Figure 20).

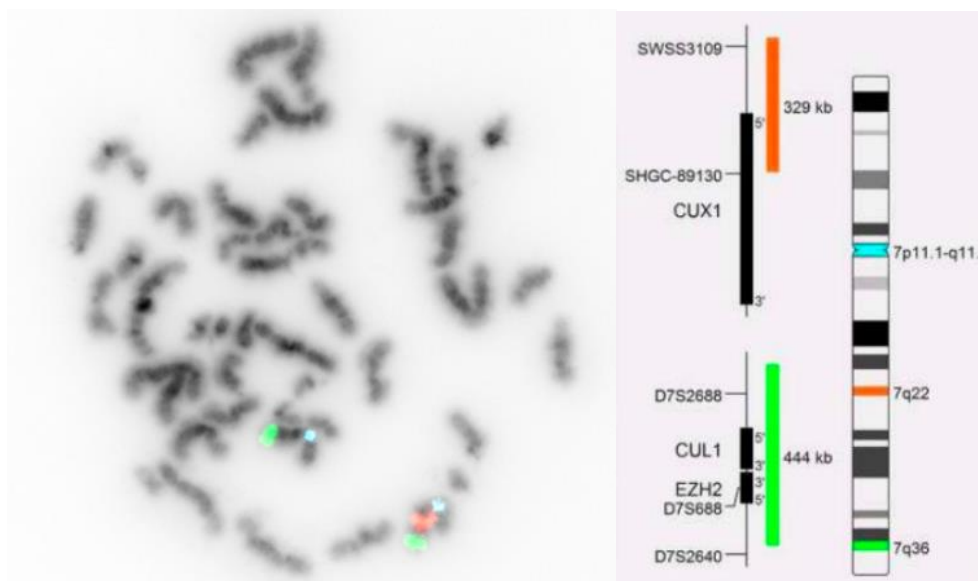


Figure 20 : Délétion 7q du patient n°45 confirmée en FISH à droite, et schéma de la sonde utilisée à gauche

### III. Comparaison des scores pronostiques

Afin d'estimer l'impact clinique potentiel de cette technique, les scores cytogénétiques et IPSS-R ont été comparés en utilisant d'un côté, les résultats du caryotype et de la FISH, et de l'autre, ceux de la COG.

Concernant le score cytogénétique de l'IPSS-R, les résultats sont concordants dans 37 cas sur 50, soit 74 % (Figure 21).

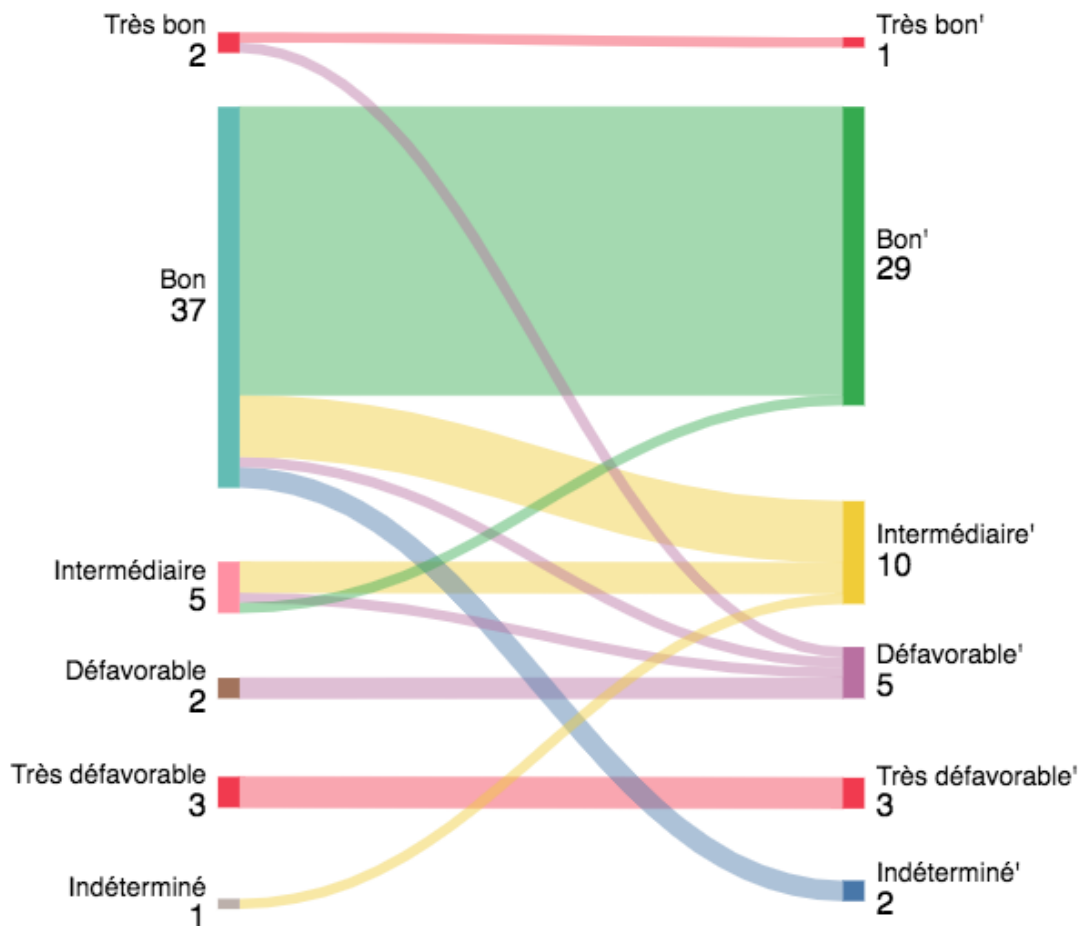


Figure 21 : Comparaison du score cytogénétique entre les résultats de caryotype/FISH à gauche et les résultats de la COG à droite

Le score global de l'IPSS-R, quant à lui, reste concordant dans 40 cas sur 50, soit 80% (Figure 22).

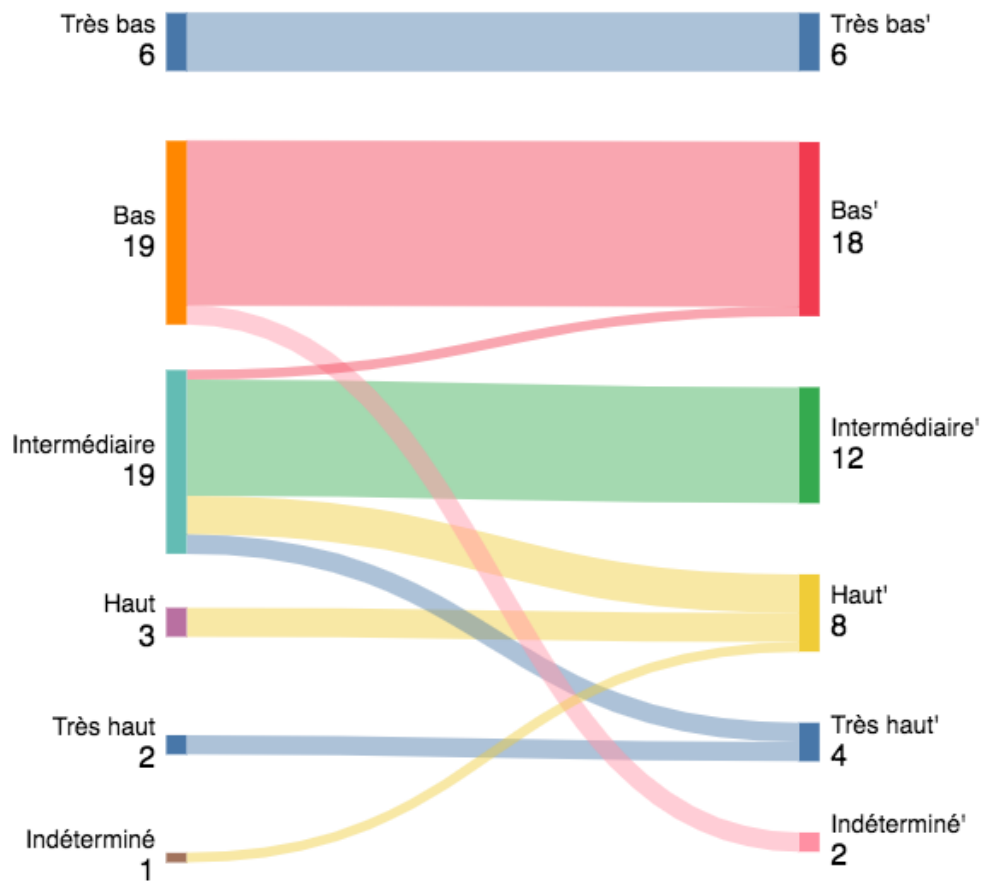


Figure 22 : Comparaison du score IPSS-R entre les résultats de caryotype/FISH à gauche et les résultats de la COG à droite

Si l'on omet les deux échecs de la technique, les résultats de la COG ont ainsi conduit à une modification du risque cytogénétique pour 23 % des patients (11/48), ce qui a entraîné un changement de la catégorie de risque IPSS-R chez 8 patients, soit 17 %. Parmi ces 8 patients, 6 sont passés d'un risque intermédiaire à la catégorie de haut ou très haut risque, un patient est passé d'un score indéterminé à un haut risque, et un autre de la catégorie de risque intermédiaire à celle de bas risque.

# DISCUSSION

## I. Les échecs en COG et au caryotype

Concernant les deux échecs observés en COG, ceux-ci présentaient une faible profondeur (56x et 28x) accompagnée de taux de cartographie avoisinant les 40 % pour les deux échantillons, ainsi que des valeurs de N50 plus basses que les cibles attendues. Cela suggère que les molécules d'ADN étaient vraisemblablement trop courtes, probablement en raison d'une dégradation excessive de l'ADN lors de l'extraction ou d'un échantillon initialement détérioré.

Les publications récentes qui ont évalué la COG dans les SMD ne mentionnent pas d'échecs en OGM.

Par ailleurs, la cohorte étudiée ne présente qu'un seul cas d'échec de caryotype, soit 2 %. Cela ne reflète pas la réalité, puisque les échecs de caryotype ont représenté 8% de l'ensemble des caryotypes de SMD en 2023 (43/515).

La COG a permis, pour le patient n°45 dont le caryotype était un échec, non seulement d'obtenir des résultats cytogénétiques, mais également de détecter une anomalie stratifiante (délétion 7q).

## II. Les anomalies additionnelles vues en COG

Au total, la COG a identifié des anomalies cytogénétiques supplémentaires chez 20 % (5/25) des SMD sans anomalies au caryotype.

Pour 25 % (6/24) des SMD présentant un caryotype anormal, cette technique a permis de préciser les anomalies déjà décrites ou d'en détecter de nouvelles.

Dans deux des trois cas de caryotypes complexes, la COG a révélé des anomalies supplémentaires, accentuant ainsi leur complexité.

Ces résultats sont cohérents avec ceux de la littérature. En effet, Balducci *et al.* rapportent des anomalies supplémentaires détectées par la COG dans 17 % des SMD à caryotype normal et 22,2 % des SMD à caryotype anormal. De plus, tout comme dans notre cohorte, la COG a révélé une complexité accrue des caryotypes complexes (84).

Certaines anomalies additionnelles retrouvées dans notre cohorte sont présentées plus en détail ci-dessous :

### **A. KMT2A-PTD**

Concernant le patient n°47, l'anomalie *KMT2A-PTD* a été détectée par la COG comme une insertion, au vu de la faible taille de la duplication.

Néanmoins, cette insertion a finalement été interprétée comme une duplication partielle en tandem, en se basant sur des articles décrivant cette anomalie en COG (84,92).

Elle a récemment été décrite comme associée à un mauvais pronostic chez les patients atteints de SMD dans le score IPSS-M, montrant ainsi l'importance de la rapporter (8).

De ce fait, le score IPSS-M pour ce patient avec les données de cytogénétique conventionnelle est évalué à 1,08 soit un haut risque. Ce même score calculé en prenant en compte les résultats de la COG et donc l'anomalie *KMT2A-PTD* passe à 2,23 soit un très haut risque (Figure 23).

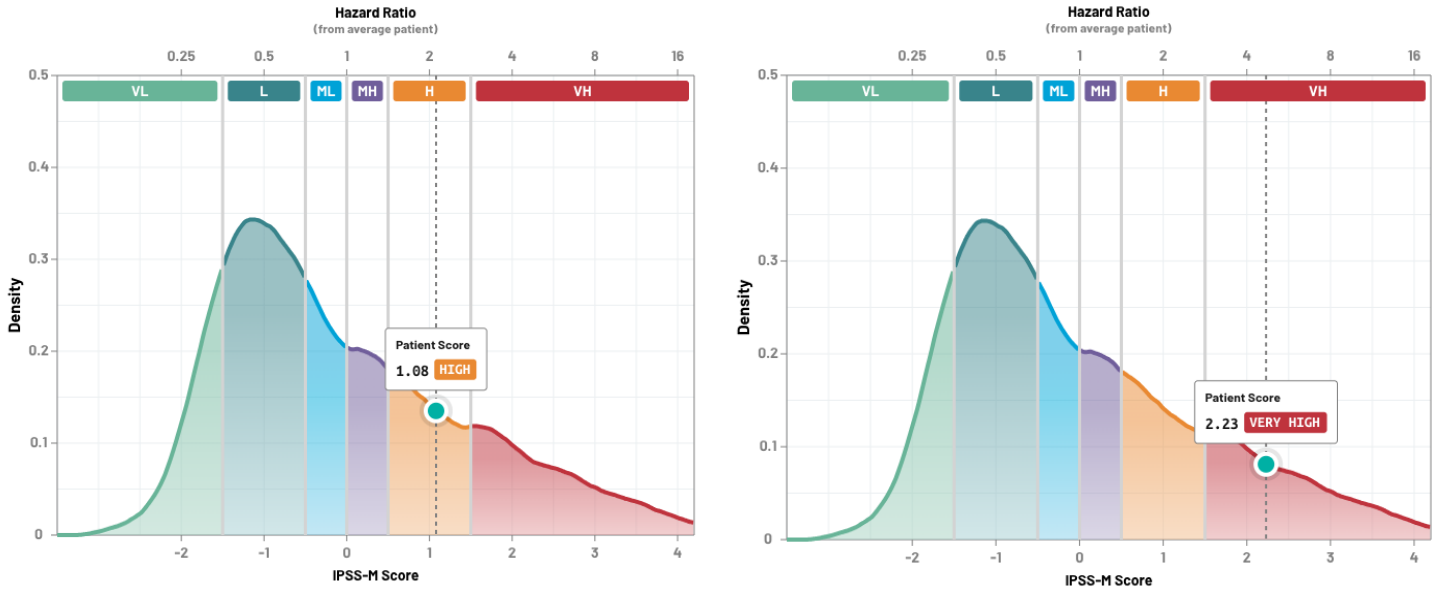


Figure 23 : Score IPSS-M du patient n°47 (à droite avec les données de caryotype/FISH et à gauche avec les données de la COG)

## B. Chromoanagenesis

Le patient n°34 présente un SMD classé « MDS-biTP53 » selon l’OMS 2022. En effet, il possède une mutation TP53 associée à une délétion 17p.

Il présente en COG un profil de chromoanagenesis, plus particulièrement de chromothripsis.

Ce terme fait référence à un éclatement chromosomique relativement groupé, suivi d'un réarrangement aléatoire des fragments chromosomiques aboutissant à la formation de réarrangements génomiques complexes (93).

Cette anomalie a été décrite comme fortement associée aux SMD/LAM avec mutation TP53 : en effet, une étude de 2023 d’Abel *et al.* a détecté un chromothripsis dans 60% des SMD/LAM mutés TP53 de leur cohorte (25 sur 42 cas) (94).

Le chromothripsis a été identifié comme un facteur de mauvais pronostic dans plusieurs hémopathies, notamment dans le myélome multiple (95) et les LAM (96,97). Il est plausible que cette anomalie soit également associée à un pronostic défavorable dans les SMD. Des études complémentaires seraient nécessaires pour confirmer cette hypothèse.

### C. Réarrangement MECOM

Le patient n°50 présente un SMD classé « MDS-IB2 » selon la classification OMS 2022 avec, de manière surprenante, un caryotype de type « favorable » (délétion 5q isolée) mais associée à un excès de blastes évalué à 12 %. Sur le plan moléculaire, ce patient présente deux mutations, *DNMT3A* et *GNAS*, à faible VAF.

La COG met en évidence une inversion 3q menant à la fusion *MECOM::TBL1XR1*. Cette anomalie a été décrite dans l'Atlas de génétique et cytogénétique en oncologie et hématologie chez un patient de 44 ans qui présente une leucémie aiguë indifférenciée (98).

Par ailleurs, cette inversion 3q n'est pas visible en FISH et n'est pas associée à une surexpression d'*EVI1*. Il serait donc intéressant de pouvoir la confirmer par une autre technique moléculaire (séquençage par nanopore ou RNA-Seq par exemple).

À noter que la classification OMS 2022 décrit les réarrangements de *MECOM*, quels qu'ils soient, comme des anomalies qui classent en LAM indépendamment du taux de blastes, sans préciser la présence de surexpression d'*EVI1*.

Ainsi, en cas de confirmation de l'anomalie, ce cas pourrait être classé en LAM. Cela serait d'ailleurs plus cohérent avec la présentation clinico-biologique du patient.

### D. Amplification de *ERG*

Concernant le patient n°30, la COG a permis de préciser les anomalies du caryotype complexe qui présente, entre autres, plusieurs chromosomes marqueurs : il s'agit de remaniements complexes impliquant notamment les chromosomes 9 et 21. L'amplification de *ERG* également retrouvée en COG est d'ailleurs décrite dans la littérature comme souvent associée dans les hémopathies myéloïdes aux caryotypes complexes et mutations *TP53*, comme c'est le cas pour ce patient (99).

## E. Délétion 7q non confirmée par la FISH

La COG a montré pour le patient n°23 une délétion 7q de 60 kb dans le gène *CUX1*. Cette anomalie n'a pas pu être confirmée par la technique FISH car la région délétée n'est pas couverte par la sonde commerciale utilisée au laboratoire, comme illustré ci-dessous (Figure 24).

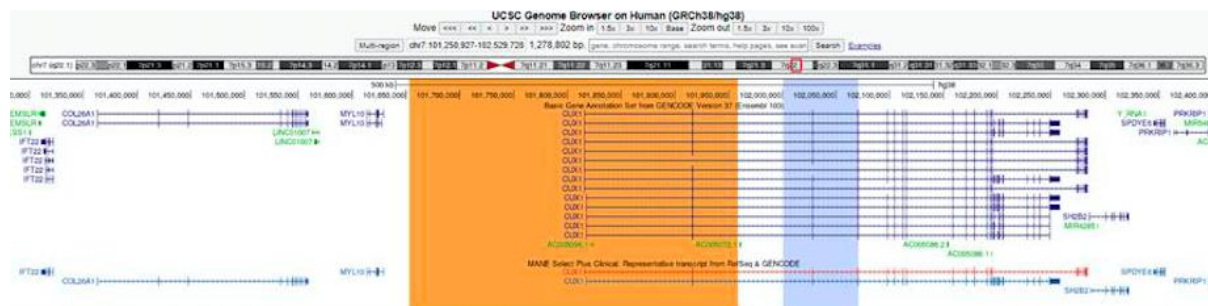


Figure 24 : Zone de la délétion 7q en bleu et zone couverte par la sonde FISH en orange

## III. Les anomalies non vues en COG

La délétion 9q du patient n°42 n'est pas retrouvée de manière significative en COG, probablement à cause de la faible taille du clone. Cependant, celle-ci peut être suspectée après recherche manuelle attentive.

Il est donc important de vérifier manuellement l'outil de visualisation et d'interprétation des CNV sur l'ensemble des chromosomes (« Whole Genome ») en accordant une attention particulière aux régions d'intérêt dans les SMD.

Concernant le patient n°26, toutes les anomalies du caryotype complexe sont retrouvées en COG à l'exception du dernier sous-clone décrit qui présente un chromosome 9 anormal associé à une délétion 13q. Cependant, en choisissant des filtres moins restrictifs, une translocation  $t(9;13)$  est retrouvée en COG. Elle n'apparaissait pas initialement car elle n'a été retrouvée que dans 3 molécules (les filtres appliqués initialement ne montrent que les anomalies vues sur au moins 5 molécules).

Cependant, cette translocation apparaît comme équilibrée en COG alors qu'elle est déséquilibrée au caryotype. Cela s'explique par la faible représentation du clone associée à la sensibilité inférieure de la COG dans la détection des CNV comme évoqué dans la partie « matériels et méthodes ».

Par ailleurs, ce changement de filtres a permis de détecter deux délétions cryptiques 13q de 4,7 Mb et 807 kb emportant *DLEU*.

La FISH confirme la présence de ces délétions qui sont probablement à mettre en lien avec le clone lymphoïde du patient qui est également atteint d'une LLC.

Ce cas soulève la problématique de l'interprétation des données de COG chez les patients présentant plusieurs hémopathies. En effet, cette technique, qui ne permet pas d'obtenir une vue d'ensemble de l'architecture clonale, rend la classification des anomalies plus complexe. Dans ce contexte, le recours à la culture cellulaire avant extraction d'ADN peut être particulièrement pertinente.

#### **IV. Les scores pronostiques**

Le ratio des changements de catégories pronostiques dans notre cohorte est cohérent avec les données des récentes études ayant évalué la COG dans les SMD (84,100). Par exemple, dans une étude portant sur 101 patients atteints de SMD, Yang *et al.* rapportent une modification du score cytogénétique avec la COG chez 21 % des patients (contre 23 % dans notre cohorte) et une modification du score IPSS-R chez 17 % des patients (identique à notre cohorte).

Les changements de catégorie du score IPSS-R s'orientent principalement vers une aggravation du risque, notamment en tenant compte des anomalies supplémentaires. De plus, la COG permet de préciser certaines anomalies, ce qui peut entraîner une réévaluation du score pronostique en raison de l'augmentation du nombre d'anomalies détectées. C'est le cas, par exemple, du patient n°1. Le caryotype avait révélé un ider(20q) ainsi qu'une translocation t(7;12). Ces anomalies ont bien été confirmées par COG, mais celle-ci a montré que la translocation t(7;12) n'était pas équilibrée. En effet, la COG a mis en évidence une délétion 12p impliquant le gène *ETV6*.

Ainsi, la translocation et la délétion sont comptabilisées comme deux anomalies distinctes, portant le total à trois anomalies et classant ce cas parmi les caryotypes complexes.

Par ailleurs, le seul patient dont le score pronostique s'est amélioré est le patient n°42. Il est passé d'un risque intermédiaire à un risque faible en raison de la délétion 9q, qui n'avait pas été détectée en COG initialement.

En outre, bien que cela ne soit pas le cas dans notre cohorte, un changement de score vers une catégorie de meilleur pronostic peut également résulter de la résolution supérieure de la COG qui permet de préciser les anomalies du caryotype en identifiant par exemple, des chromosomes marqueurs ou dérivés. Cela qui peut finalement entraîner une réduction du nombre total d'anomalies cytogénétiques.

Les changements de groupes pronostiques concernent principalement les SMD présentant un excès de blastes. En effet, sur les 8 patients ayant changé de groupe de risque IPSS-R, 5 sont classés selon la classification OMS 2022 « MDS-IB1 » ou « MDS-IB2 » : 4 d'entre eux possédant un caryotype normal et les 2 autres un caryotype à anomalie simple (délétion 5q et délétion 20q).

La COG serait donc particulièrement intéressante à réaliser sur les SMD présentant un excès de blastes.

## CONCLUSION

La COG est une technique en plein essor qui s'intègre progressivement dans les laboratoires de cytogénétique.

Elle permet en une seule technique d'apporter l'ensemble des informations jusqu'alors obtenues par l'approche combinée du caryotype et de la FISH, avec une résolution allant jusqu'à 5 kb et un seuil de détection allant jusqu'à 5% de VAF.

Les résultats obtenus à partir de notre cohorte confirment les données publiées concernant l'efficacité de la COG dans les SMD.

Comme attendu, cette technique, disponible sur site, a non seulement confirmé les anomalies détectées par la cytogénétique conventionnelle, mais elle a également révélé des anomalies cryptiques additionnelles y compris en cas d'échec du caryotype, et a précisé certaines anomalies.

Elle permet de travailler avec une quantité de matériel tumoral dix fois inférieure à celle requise pour le caryotype et la FISH, tout en permettant d'obtenir un résultat complet en seulement 72 heures, ce qui en fait une technique d'une efficacité remarquable.

La comparaison des scores pronostiques nous a permis d'estimer le potentiel impact clinique de la COG. Toutefois, étant donné que les scores pronostiques actuels ont été initialement établis sur la base des données de la cytogénétique conventionnelle, de nouveaux scores intégrant les données de la COG devraient être développés.

Par ailleurs, de nouvelles règles seront nécessaires pour ajuster la nomenclature ISCN (International System for Human Cytogenomic Nomenclature) ainsi que la notion de complexité cytogénétique à l'ère de la COG et de la détection des évènements de chromoanagenesis.

La COG s'impose donc comme le nouvel outil de cytogénomique, permettant à court terme une précision du diagnostic conformément aux exigences de l'OMS et des sociétés savantes, et à moyen et long terme une contribution à la médecine de précision par l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques inexplorées jusqu'à présent.

Dans un contexte d'évolution technologique sans précédent, incluant notamment le déploiement des techniques de séquençage du génome et du RNAseq, la COG se distingue aujourd'hui comme un outil pangénomique à résolution génique efficace, rapide, et simple d'utilisation.

Une évaluation de la concordance et de la complémentarité de ces nouvelles technologies, intégrées en routine, devra probablement être menée dans un avenir proche.

## BIBLIOGRAPHIE

1. Fenaux P, Ades L, Fontenay M, Raynaud S, Eclache V, Rose C, et al. Consensus français sur les syndromes myélodysplasiques et la leucémie myélomonocytaire chronique : diagnostic, classifications, traitement. *Hématologie*. 2015;21(1):28-45.
2. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, et al. Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group. *Br J Haematol*. 1976;33(4):451-8.
3. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, et al. Proposals for the classification of the myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol*. 1982;51(2):189-99.
4. Arber DA, Orazi A, Hasserjian RP, Borowitz MJ, Calvo KR, Kvasnicka HM, et al. International Consensus Classification of Myeloid Neoplasms and Acute Leukemias: integrating morphologic, clinical, and genomic data. *Blood*. 2022;140(11):1200-28.
5. Khoury JD, Solary E, Abla O, Akkari Y, Alaggio R, Apperley JF, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms. *Leukemia*. 2022;36(7):1703-19.
6. Le Gueyrou S. Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine entre 1990 et 2018. Volume 2 – Hémopathies malignes. Étude à partir des registres des cancers du réseau Francim. *Santé Publique France*; 2019 p. 169.
7. HAS. Guide du parcours de soins : Insuffisances médullaires et autres cytopénies chroniques Syndromes myélodysplasiques [Internet]. [cité 29 févr 2024]. Disponible sur : [https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/guidem\\_syndrome\\_myelo\\_version\\_web\\_2008\\_05\\_20\\_\\_8\\_32\\_46\\_696.pdf](https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/guidem_syndrome_myelo_version_web_2008_05_20__8_32_46_696.pdf)
8. Bernard E, Tuechler H, Greenberg PL, Hasserjian RP, Arango Ossa JE, Nannya Y, et al. Molecular International Prognostic Scoring System for Myelodysplastic Syndromes. *NEJM Evid*. 2022;1(7)

9. Tefferi A, Vardiman JW. Myelodysplastic Syndromes. *New England Journal of Medicine*.2009;361(19):1872-85.
10. Cazzola M. Myelodysplastic Syndromes. *New England Journal of Medicine*.2020;383(14):1358-74.
11. Steensma DP, Bejar R, Jaiswal S, Lindsley RC, Sekeres MA, Hasserjian RP, et al. Clonal hematopoiesis of indeterminate potential and its distinction from myelodysplastic syndromes. *Blood*.2015;126(1):9-16.
12. Haferlach T, Nagata Y, Grossmann V, Okuno Y, Bacher U, Nagae G, et al. Landscape of genetic lesions in 944 patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia*.2014;28(2):241-7.
13. Bejar R, Stevenson K, Abdel-Wahab O, Galili N, Nilsson B, Garcia-Manero G, et al. Clinical effect of point mutations in myelodysplastic syndromes. *N Engl J Med*. 2011;364(26):2496-506.
14. Makishima H, Yoshizato T, Yoshida K, Sekeres MA, Radivoyevitch T, Suzuki H, et al. Dynamics of clonal evolution in myelodysplastic syndromes. *Nat Genet*.2017;49(2):204-12.
15. Bruzzese A, Martino EA, Mendicino F, Lucia E, Olivito V, Capodanno I, et al. Myelodysplastic syndromes del(5q): Pathogenesis and its therapeutic implications. *Eur J Haematol*. 2024;112(6):860-9.
16. Saygin C, Godley LA. Genetics of Myelodysplastic Syndromes. *Cancers (Basel)*. 2021;13(14):3380.
17. Schneider M, Rolfs C, Trumpp M, Winter S, Fischer L, Richter M, et al. Activation of distinct inflammatory pathways in subgroups of LR-MDS. *Leukemia*. 2023;37(8):1709-18.
18. Blau O, Baldus CD, Hofmann WK, Thiel G, Nolte F, Burmeister T, et al. Mesenchymal stromal cells of myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia patients have distinct genetic abnormalities compared with leukemic blasts. *Blood*. 2011;118(20):5583-92.
19. Kotsianidis I, Bouchliou I, Nakou E, Spanoudakis E, Margaritis D, Christophoridou AV, et al. Kinetics, function and bone marrow trafficking of CD4+CD25+FOXP3+ regulatory T cells in myelodysplastic syndromes (MDS). *Leukemia*. 2009;23(3):510-8.

20. Chamuleau MED, Westers TM, van Dreunen L, Groenland J, Zevenbergen A, Eeltink CM, et al. Immune mediated autologous cytotoxicity against hematopoietic precursor cells in patients with myelodysplastic syndrome. *Haematologica*. 2009;94(4):496-506.
21. Société française d'hématologie. *Hématologie*. 4ème édition. Elsevier Masson; 2021. 400 p. (Les référentiels des Collèges).
22. Hochman MJ, DeZern AE. Myelodysplastic syndrome and autoimmune disorders: two sides of the same coin? *Lancet Haematol*. 2022;9(7):e523-34.
23. Jachiet V, Hadjadj J, Zhao LP, Chasset F, Fain O, Fenaux P, et al. Manifestations dysimmunitaires associées aux syndromes myélodysplasiques et leucémies myélomonocytaires chroniques. *Bulletin du Cancer*. 2023;110(11):1147-55.
24. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al., editors. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Revised 4th ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2017 [cité 4 avr 2024]. Disponible sur: <https://archive.org/details/whoclassificatio00swer>
25. Wagner-Ballon O, Imbert M. Dysmyélopoïèse et syndromes myélodysplasiques : description – démarche diagnostique. *Revue Francophone des Laboratoires*. 2009;2009(413):39-47.
26. Hasserjian RP, Germing U, Malcovati L. Diagnosis and classification of myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2023;142(26):2247-57.
27. Wagner-Ballon O, Kosmider O. SMD & LMMC : diagnostic et classification. *Bulletin du Cancer*. 2023;110(11):1106-15.
28. Lours C, Cottin L, Wiber M, Andrieu V, Baccini V, Baseggio L, et al. Perls' Stain Guidelines from the French-Speaking Cellular Hematology Group (GFHC). *Diagnostics*. 2022;12(7):1698.
29. Mufti GJ, Bennett JM, Goasguen J, Bain BJ, Baumann I, Brunning R, et al. Diagnosis and classification of myelodysplastic syndrome: International Working Group on Morphology of myelodysplastic syndrome (IWGM-MDS) consensus proposals for the definition and enumeration of myeloblasts and ring sideroblasts. *Haematologica*. 2008;93(11):1712-7.

30. Goasguen JE, Bennett JM, Bain BJ, Brunning R, Vallespi MT, Tomonaga M, et al. Proposal for refining the definition of dysgranulopoiesis in acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes. *Leukemia Research*. 2014;38(4):447-53.
31. Cunningham JM, Patnaik MM, Hammerschmidt DE, Vercellotti GM. Historical perspective and clinical implications of the Pelger-Huet cell. *American Journal of Hematology*. 2009;84(2):116-9.
32. Goasguen JE, Bennett JM, Bain BJ, Brunning RD, Vallespi MT, Tomonaga M, et al. Quality control initiative on the evaluation of the dysmegakaryopoiesis in myeloid neoplasms: Difficulties in the assessment of dysplasia. *Leuk Res*. 2016;45:75-81.
33. Malcovati L, Hellström-Lindberg E, Bowen D, Adès L, Cermak J, del Cañizo C, et al. Diagnosis and treatment of primary myelodysplastic syndromes in adults: recommendations from the European LeukemiaNet. *Blood*. 2013;122(17):2943-64.
34. Kern W, Westers TM, Bellos F, Bene MC, Bettelheim P, Brodersen LE, et al. Multicenter prospective evaluation of diagnostic potential of flow cytometric aberrancies in myelodysplastic syndromes by the ELN iMDS flow working group. *Cytometry Part B: Clinical Cytometry*. 2023;104(1):51-65.
35. Della Porta MG, Picone C, Pascutto C, Malcovati L, Tamura H, Handa H, et al. Multicenter validation of a reproducible flow cytometric score for the diagnosis of low-grade myelodysplastic syndromes: results of a European LeukemiaNET study. *Haematologica*. 2012 Aug;97(8):1209-17.
36. Mathis S, Chapuis N, Debord C, Rouquette A, Radford-Weiss I, Park S, et al. Flow cytometric detection of dyserythropoiesis: a sensitive and powerful diagnostic tool for myelodysplastic syndromes. *Leukemia*. 2013;27(10):1981-7.
37. Guide des bonnes pratiques en cytogénétique [Internet]. [cité 29 juin 2024]. Disponible sur: [http://www.eaclf.org/docs/GBPcyto/GBPC-ACLF\\_15122021.pdf](http://www.eaclf.org/docs/GBPcyto/GBPC-ACLF_15122021.pdf)
38. Auger N, Douet-Guilbert N, Quessada J, Theisen O, Lafage-Pochitaloff M, Troadec MB. Cytogenetics in the management of myelodysplastic neoplasms (myelodysplastic syndromes, MDS): Guidelines from the groupe francophone de cytogénétique hématologique (GFCH). *Curr Res Transl Med*. 2023;71(4):103409.
39. Ouseph MM, Hasserjian RP, Dal Cin P, Lovitch SB, Steensma DP, Nardi V, et al. Genomic alterations in patients with somatic loss of the Y chromosome as the sole cytogenetic finding in bone marrow cells. *Haematologica*. 2020;106(2):555-64.

40. Greenberg PL, Tuechler H, Schanz J, Sanz G, Garcia-Manero G, Solé F, et al. Revised International Prognostic Scoring System for Myelodysplastic Syndromes. *Blood*. 2012;120(12):2454-65.
41. Papaemmanuil E, Gerstung M, Malcovati L, Tauro S, Gundem G, Van Loo P, et al. Clinical and biological implications of driver mutations in myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2013;122(22):3616-27.
42. Dermawan JK, Wensel C, Visconte V, Maciejewski JP, Cook JR, Bosler DS. Clinically Significant CUX1 Mutations Are Frequently Subclonal and Common in Myeloid Disorders With a High Number of Co-mutated Genes and Dysplastic Features. *Am J Clin Pathol*. 2022;157(4):586-94.
43. Galli A, Todisco G, Catamo E, Sala C, Elena C, Pozzi S, et al. Relationship between clone metrics and clinical outcome in clonal cytopenia. *Blood*. 2021;138(11):965-76.
44. Shanmugam V, Parnes A, Kalyanaraman R, Morgan EA, Kim AS. Clinical utility of targeted next-generation sequencing–based screening of peripheral blood in the evaluation of cytopenias. *Blood*. 2019;134(24):2222-5.
45. Desai P, Mencia-Trinchant N, Savenkov O, Simon MS, Cheang G, Lee S, et al. Somatic mutations precede acute myeloid leukemia years before diagnosis. *Nat Med*. 2018;24(7):1015-23.
46. Zink F, Stacey SN, Norddahl GL, Frigge ML, Magnusson OT, Jonsdottir I, et al. Clonal hematopoiesis, with and without candidate driver mutations, is common in the elderly. *Blood*. 2017;130(6):742-52.
47. Weeks LD, Niroula A, Neuberg D, Wong W, Lindsley RC, Luskin M, et al. Prediction of risk for myeloid malignancy in clonal hematopoiesis. *NEJM Evid*. 2023;2(5).
48. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW, editors. *Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues* [Internet]. 3rd ed .Lyon: IARC Press; 2001 [cité 14 juill 2024]. Disponible sur: <https://publications.iarc.fr/Book-And-Report-Series/Who-Classification-Of-Tumours/Pathology-And-Genetics-Of-Tumours-Of-Haematopoietic-And-Lymphoid-Tissues-2001>

49. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al., editors. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues [Internet]. 4th ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2008 [cité 14 juill 2024]. Disponible sur: <https://publications.iarc.fr/Book-And-Report-Series/Who-Classification-Of-Tumours/WHO-Classification-Of-Tumours-Of-Haematopoietic-And-Lymphoid-Tissues-2008>
50. Greenberg P, Cox C, LeBeau MM, Fenaux P, Morel P, Sanz G, et al. International Scoring System for Evaluating Prognosis in Myelodysplastic Syndromes. *Blood*. 1997;89(6):2079-88.
51. Schanz J, Tüchler H, Solé F, Mallo M, Luño E, Cervera J, et al. New Comprehensive Cytogenetic Scoring System for Primary Myelodysplastic Syndromes (MDS) and Oligoblastic Acute Myeloid Leukemia After MDS Derived From an International Database Merge. *J Clin Oncol*. 2012;30(8):820-9.
52. Sekeres MA, Swern AS, Fenaux P, Greenberg PL, Sanz GF, Bennett JM, et al. Validation of the IPSS-R in lenalidomide-treated, lower-risk myelodysplastic syndrome patients with del(5q). *Blood Cancer J*. 2014;4(8):e242.
53. Lamarque M, Raynaud S, Itzykson R, Thepot S, Quesnel B, Dreyfus F, et al. The revised IPSS is a powerful tool to evaluate the outcome of MDS patients treated with azacitidine: the GFM experience. *Blood*. 2012;120(25):5084-5.
54. Della Porta MG, Alessandrino EP, Bacigalupo A, van Lint MT, Malcovati L, Pascutto C, et al. Predictive factors for the outcome of allogeneic transplantation in patients with MDS stratified according to the revised IPSS-R. *Blood*. 2014;123(15):2333-42.
55. DeZern AE, Greenberg PL. The trajectory of prognostication and risk stratification for patients with myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2023;142(26):2258-67.
56. Fenaux P, Santini V, Spiriti MAA, Giagounidis A, Schlag R, Radinoff A, et al. A phase 3 randomized, placebo-controlled study assessing the efficacy and safety of epoetin- $\alpha$  in anemic patients with low-risk MDS. *Leukemia*. 2018;32(12):2648-58.

57. Platzbecker U, Symeonidis A, Oliva EN, Goede JS, Delforge M, Mayer J, et al. A phase 3 randomized placebo-controlled trial of darbepoetin alfa in patients with anemia and lower-risk myelodysplastic syndromes. *Leukemia*. 2017;31(9):1944-50.
58. Park S. Traitement des syndromes myélodysplasiques de bas risque. *Bull Cancer*. 2023;110(11):1156-61.
59. Park S, Grabar S, Kelaidi C, Beyne-Rauzy O, Picard F, Bardet V, et al. Predictive factors of response and survival in myelodysplastic syndrome treated with erythropoietin and G-CSF: the GFM experience. *Blood*. 2008;111(2):574-82.
60. Moyo V, Lefebvre P, Duh MS, Yektashenas B, Mundle S. Erythropoiesis-stimulating agents in the treatment of anemia in myelodysplastic syndromes: a meta-analysis. *Ann Hematol*. 2008;87(7):527-36.
61. Kelaidi C, Park S, Brechignac S, Mannone L, Vey N, Dombret H, et al. Treatment of myelodysplastic syndromes with 5q deletion before the lenalidomide era; the GFM experience with EPO and thalidomide. *Leuk Res*. 2008;32(7):1049-53.
62. VIDAL [Internet]. [cité 21 juill 2024]. REVLIMID 10 mg gél. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/revlimid-10-mg-gel-79667.html>
63. Kelaidi C, Eclache V, Fenaux P. The role of lenalidomide in the management of myelodysplasia with del 5q. *Br J Haematol*. 2008;140(3):267-78.
64. Haute Autorité de Santé [Internet]. [cité 25 juill 2024]. REBLOZYL (luspatercept) (syndrome myélodysplasique - SMD). Disponible sur: [https://www.has-sante.fr/jcms/p\\_3281443/fr/reblozyl-luspatercept-syndrome-myelodysplasique-smd](https://www.has-sante.fr/jcms/p_3281443/fr/reblozyl-luspatercept-syndrome-myelodysplasique-smd)
65. Marini B, Bassan R, Barbui T. Therapeutic efficacy of danazol in myelodysplastic syndromes. *Eur J Cancer Clin Oncol*. 1988;24(9):1481-9.
66. Kantarjian H, Fenaux P, Sekeres MA, Becker PS, Boruchov A, Bowen D, et al. Safety and efficacy of romiplostim in patients with lower-risk myelodysplastic syndrome and thrombocytopenia. *J Clin Oncol*. 2010;28(3):437-44.
67. Oliva EN, Alati C, Santini V, Poloni A, Molteni A, Niscola P, et al. Eltrombopag versus placebo for low-risk myelodysplastic syndromes with thrombocytopenia (EQoL-MDS): phase 1 results of a single-blind, randomised, controlled, phase 2 superiority trial. *Lancet Haematol*. 2017;4(3):e127-36.
68. Haute Autorité de Santé [Internet]. [cité 26 juill 2024]. NPLATE (romiplostim). Disponible sur: [https://www.has-sante.fr/jcms/p\\_3293684/fr/nplate-romiplostim](https://www.has-sante.fr/jcms/p_3293684/fr/nplate-romiplostim)

69. Kantarjian H, Beran M, Cortes J, O'Brien S, Giles F, Pierce S, et al. Long-term follow-up results of the combination of topotecan and cytarabine and other intensive chemotherapy regimens in myelodysplastic syndrome. *Cancer*. 2006;106(5):1099-109.
70. Knipp S, Hildebrand B, Kündgen A, Giagounidis A, Kobbe G, Haas R, et al. Intensive chemotherapy is not recommended for patients aged >60 years who have myelodysplastic syndromes or acute myeloid leukemia with high-risk karyotypes. *Cancer*. 2007;110(2):345-52.
71. Fenaux P, Mufti GJ, Hellstrom-Lindberg E, Santini V, Finelli C, Giagounidis A, et al. Efficacy of azacitidine compared with that of conventional care regimens in the treatment of higher-risk myelodysplastic syndromes: a randomised, open-label, phase III study. *The Lancet Oncology*. 2009;10(3):223-32.
72. Silverman LR, McKenzie DR, Peterson BL, Holland JF, Backstrom JT, Beach CL, Larson RA. Further analysis of trials with azacitidine in patients with myelodysplastic syndrome: studies 8421, 8921, and 9221 by the Cancer and Leukemia Group B. *J Clin Oncol*. 2006;24(24):4092-8.
73. DeFilipp Z, Ciurea SO, Cutler C, Robin M, Warlick ED, Nakamura R, et al. Hematopoietic Cell Transplantation in the Management of Myelodysplastic Syndrome: An Evidence-Based Review from the American Society for Transplantation and Cellular Therapy Committee on Practice Guidelines. *Transplantation and Cellular Therapy*. 2023;29(2):71-81.
74. van Gelder M, de Wreede LC, Schetelig J, van Biezen A, Volin L, Maertens J, et al. Monosomal karyotype predicts poor survival after allogeneic stem cell transplantation in chromosome 7 abnormal myelodysplastic syndrome and secondary acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 2013;27(4):879-88.
75. Onida F, Brand R, Biezen A van, Schaap M, Borne PA von dem, Maertens J, et al. Impact of the International Prognostic Scoring System cytogenetic risk groups on the outcome of patients with primary myelodysplastic syndromes undergoing allogeneic stem cell transplantation from human leukocyte antigen-identical siblings: a retrospective analysis of the European Society for Blood and Marrow Transplantation-Chronic Malignancies Working Party. *Haematologica*. 2014;99(10):1582-90.

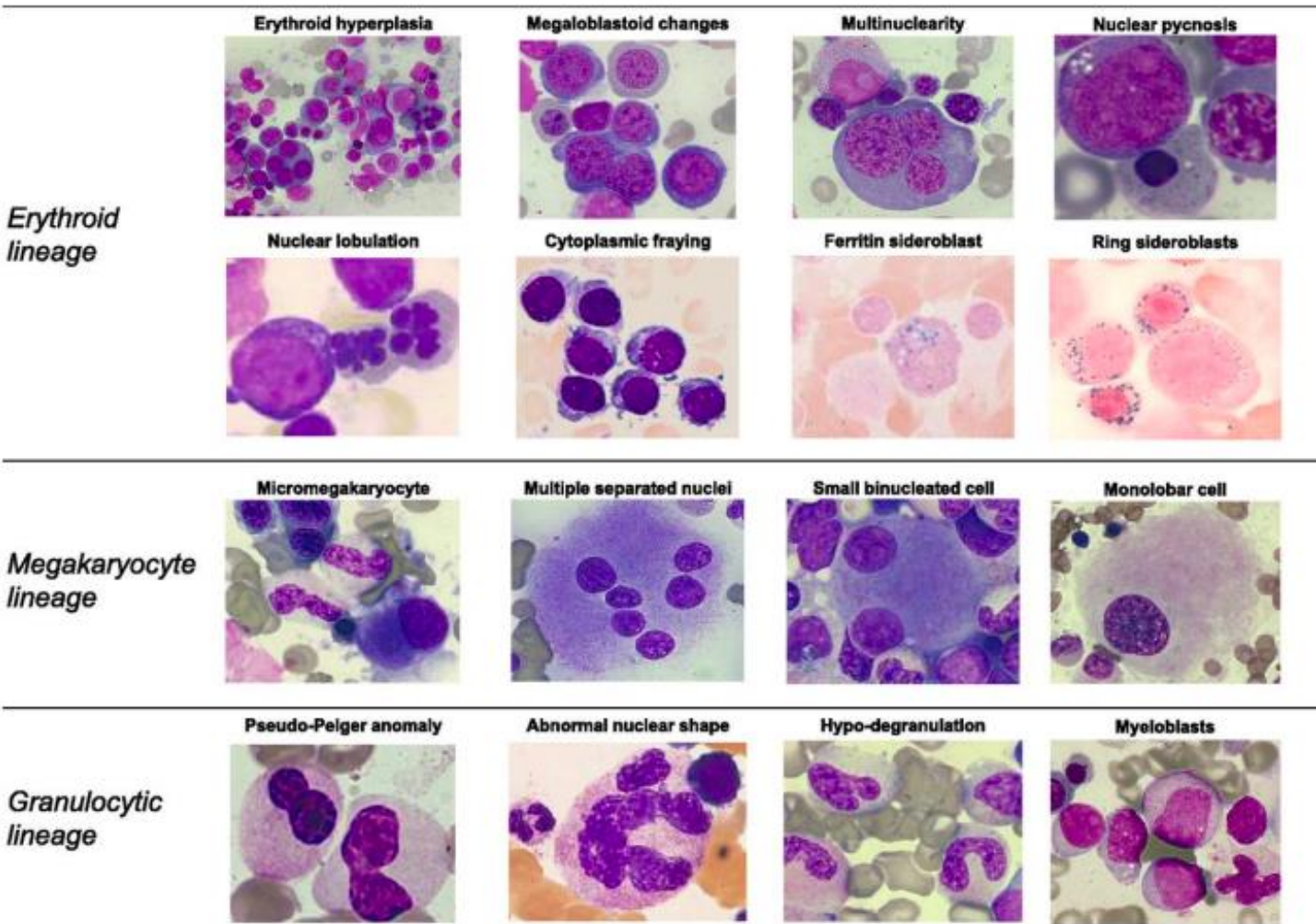
76. Schetelig J, de Wreede LC, van Gelder M, Koster L, Finke J, Niederwieser D, et al. Late treatment-related mortality versus competing causes of death after allogeneic transplantation for myelodysplastic syndromes and secondary acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 2019;33(3):686-95.
77. Schwartz DC, Li X, Hernandez LI, Ramnarain SP, Huff EJ, Wang YK. Ordered restriction maps of *Saccharomyces cerevisiae* chromosomes constructed by optical mapping. *Science*. 1993;262(5130):110-4.
78. bionanogenomics [Internet]. [cité 6 sept 2024]. How Optical Genome Mapping (OGM) Works | Bionano. Disponible sur: <https://bionano.com/how-ogm-works/>
79. Smith AC, Neveling K, Kanagal-Shamanna R. Optical genome mapping for structural variation analysis in hematologic malignancies. *Am J Hematol*. 2022;97(7):975-82.
80. Smith AC, Neveling K, Kanagal-Shamanna R. Optical genome mapping for structural variation analysis in hematologic malignancies. *American Journal of Hematology*. 2022;97(7):975-82.
81. Mantere T, Neveling K, Pebrel-Richard C, Benoist M, van der Zande G, Kater-Baats E, et al. Optical genome mapping enables constitutional chromosomal aberration detection. *Am J Hum Genet*. 2021;108(8):1409-22.
82. Sahajpal NS, Barseghyan H, Kolhe R, Hastie A, Chaubey A. Optical Genome Mapping as a Next-Generation Cytogenomic Tool for Detection of Structural and Copy Number Variations for Prenatal Genomic Analyses. *Genes (Basel)*. 2021;12(3):398.
83. Levy B, Baughn LB, Akkari Y, Chartrand S, LaBarge B, Claxton D, et al. Optical genome mapping in acute myeloid leukemia: a multicenter evaluation. *Blood Advances*. 2023;7(7):1297-307.
84. Balducci E, Kaltenbach S, Villarese P, Duroyon E, Zalmai L, Friedrich C, et al. Optical genome mapping refines cytogenetic diagnostics, prognostic stratification and provides new molecular insights in adult MDS/AML patients. *Blood Cancer J*. 2022;12(9):126.
85. Puiggros A, Ramos-Campoy S, Kamaso J, de la Rosa M, Salido M, Melero C, et al. Optical Genome Mapping: A Promising New Tool to Assess Genomic Complexity in Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL). *Cancers (Basel)*. 2022;14(14):3376.

86. Rack K, De Bie J, Ameye G, Gielen O, Demeyer S, Cools J, et al. Optimizing the diagnostic workflow for acute lymphoblastic leukemia by optical genome mapping. *Am J Hematol*. 2022;97(5):548-61.
87. Lestringant V, Duployez N, Penther D, Luquet I, Derrieux C, Lutun A, et al. Optical genome mapping, a promising alternative to gold standard cytogenetic approaches in a series of acute lymphoblastic leukemias. *Genes Chromosomes Cancer*. 2021;60(10):657-67.
88. Lühmann JL, Stelter M, Wolter M, Kater J, Lentjes J, Bergmann AK, et al. The Clinical Utility of Optical Genome Mapping for the Assessment of Genomic Aberrations in Acute Lymphoblastic Leukemia. *Cancers (Basel)*. 2021;13(17):4388.
89. Levy B, Kanagal-Shamanna R, Sahajpal NS, Neveling K, Rack K, Dewaele B, et al. A framework for the clinical implementation of optical genome mapping in hematologic malignancies. *American Journal of Hematology*. 2024;99(4):642-61.
90. Protocole Bionano Prep SP-G2 pour l'extraction d'ADN à partir de culots de cellules congelées [Internet]. [cité 28 août 2024]. Disponible sur: <https://bionano.com/wp-content/uploads/2023/08/CG-00004-5-Bionano-Prep-SP-G2-Frozen-Cell-Pellet-DNA-Isolation-Protocol-fr-FR.pdf>
91. Bionano Solve™ Theory of Operation: Structural Variant Calling [Internet]. [cité 29 août 2024]. Disponible sur: [https://bionano.com/wp-content/uploads/2024/01/CG-30110\\_Bionano-Solve-Theory-of-Operation-Structural-Variant-Calling.pdf](https://bionano.com/wp-content/uploads/2024/01/CG-30110_Bionano-Solve-Theory-of-Operation-Structural-Variant-Calling.pdf)
92. Seto A, Downs G, King O, Salehi-Rad S, Baptista A, Chin K, et al. Genomic Characterization of Partial Tandem Duplication Involving the KMT2A Gene in Adult Acute Myeloid Leukemia. *Cancers (Basel)*. 2024;16(9):1693.
93. Pellestor F, Gaillard J, Schneider A, Puechberty J, Gatinois V. Chromoanagenesis, the mechanisms of a genomic chaos. *Seminars in Cell & Developmental Biology*. 2022;123:90-9.
94. Abel HJ, Oetjen KA, Miller CA, Ramakrishnan SM, Day RB, Helton NM, et al. Genomic landscape of TP53-mutated myeloid malignancies. *Blood Advances*. 2023;7(16):4586-98.
95. Magrangeas F, Avet-Loiseau H, Munshi NC, Minvielle S. Chromothripsis identifies a rare and aggressive entity among newly diagnosed multiple myeloma patients. *Blood*. 2011;118(3):675-8.

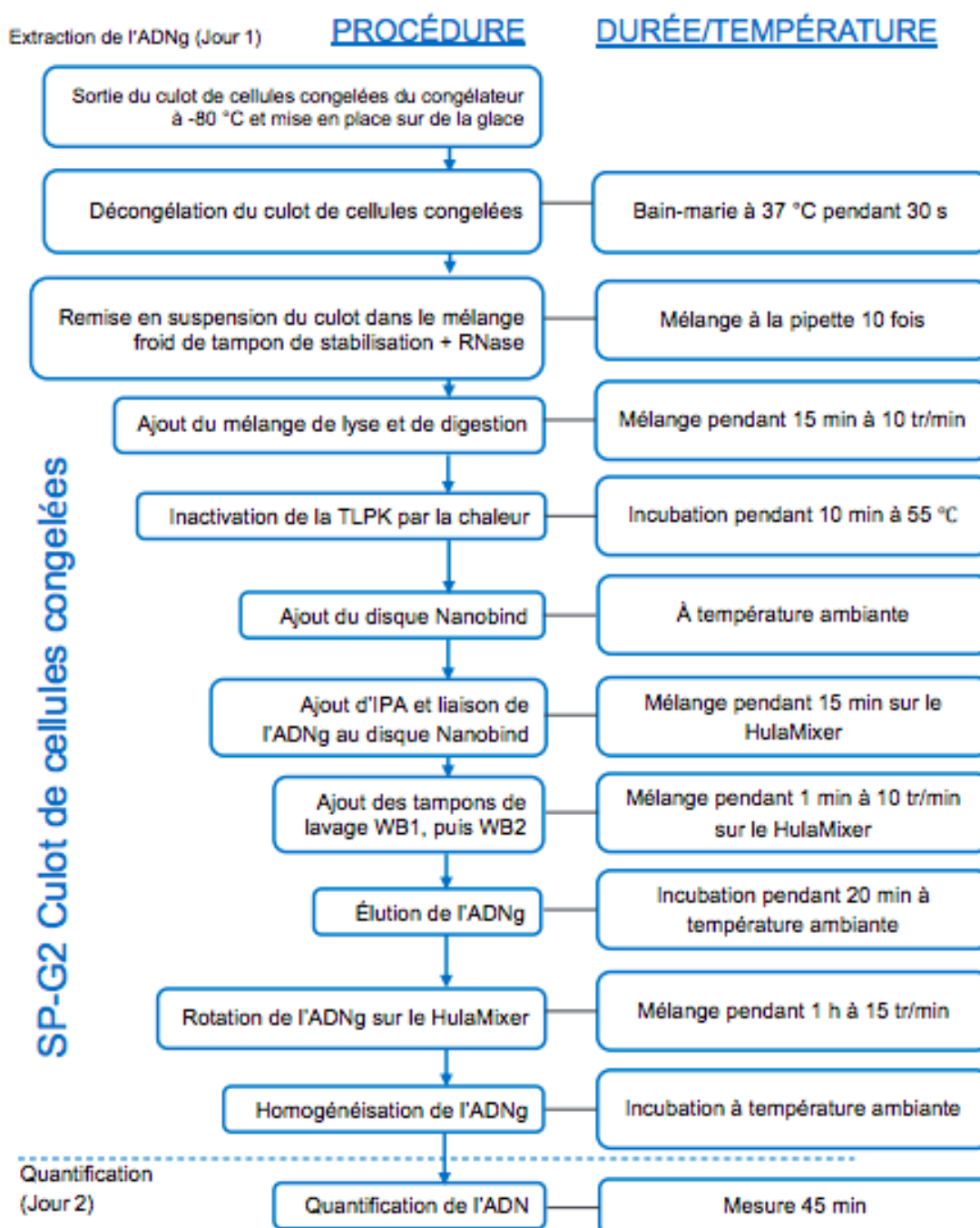
96. Bochtler T, Granzow M, Stölzel F, Kunz C, Mohr B, Kartal-Kaess M, et al. Marker chromosomes can arise from chromothripsis and predict adverse prognosis in acute myeloid leukemia. *Blood*. 2017;129(10):1333-42.
97. Fontana MC, Marconi G, Feenstra JDM, Fonzi E, Papayannidis C, Ghelli Luserna di Rorá A, et al. Chromothripsis in acute myeloid leukemia: biological features and impact on survival. *Leukemia*. 2018;32(7):1609-20.
98. TBL1XR1/MECOM fusion del(3)(q26.2q26.3) TBL1XR1/MECOM [Internet]. [cité 18 sept 2024]. Disponible sur: [https://atlasgeneticsoncology.org/haematological/1823/tbl1xr1-mecom-fusion del\(3\)\(q26-2q26-3\)-tbl1xr1-mecom](https://atlasgeneticsoncology.org/haematological/1823/tbl1xr1-mecom-fusion del(3)(q26-2q26-3)-tbl1xr1-mecom)
99. Lee WY, Gutierrez-Lanz EA, Xiao H, McClintock D, Chan MP, Bixby DL, et al. ERG amplification is a secondary recurrent driver event in myeloid malignancy with complex karyotype and TP53 mutations. *Genes Chromosomes Cancer*. 2022;61(7):399-411.
100. Yang H, Garcia-Manero G, Sasaki K, Montalban-Bravo G, Tang Z, Wei Y, et al. High-resolution structural variant profiling of myelodysplastic syndromes by optical genome mapping uncovers cryptic aberrations of prognostic and therapeutic significance. *Leukemia*. 2022;36(9):2306-16.
101. Cazzola M, Della Porta MG, Malcovati L. The genetic basis of myelodysplasia and its clinical relevance. *Blood*. 2013;122(25):4021-34.
102. Protocole Bionano Prep DLS-G2 [Internet]. [cité 20 sept 2024]. Disponible sur: [https://bionano.com/wp-content/uploads/2024/01/CG-30553-5\\_Bionano-Prep-DLS-G2-Protocol-FR.pdf](https://bionano.com/wp-content/uploads/2024/01/CG-30553-5_Bionano-Prep-DLS-G2-Protocol-FR.pdf)

# ANNEXES

## Annexe 1 : Exemples de dysmyélopoïèse (101)

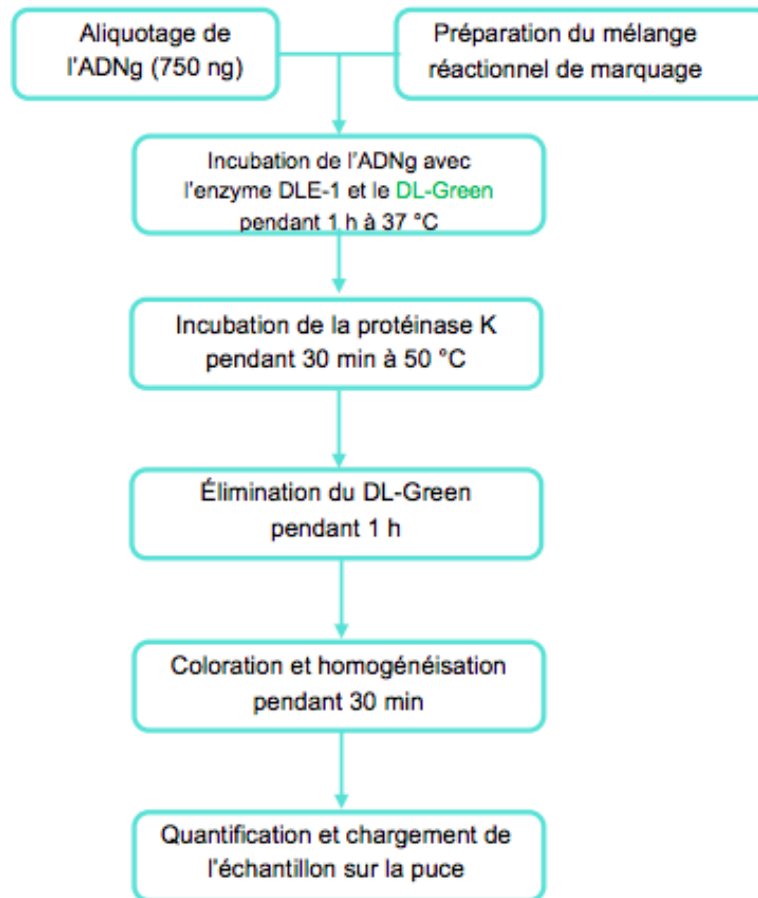


## Annexe 2 : Résumé du protocole d'extraction (90)



## Annexe 3: Résumé du protocole de marquage (102)

### ÉTAPES DU PROTOCOLE



#### Annexe 4: Panel NGS myéloïde de 90 gènes

ABL1	GNB1	PTEN
ANKRD26	HRAS	PTPN11
ASXL1	IDH1	RAD21
ASXL2	IDH2	RIT1
ATRX	IKZF1	RUNX1
BCOR	IL7R	SAMD9
BCORL1	JAK1	SAMD9L
BRAF	JAK2	SETBP1
CALR	JAK3	SETD2
CBL	KDM6A	SF3B1
CEBPA	KIT	SH2B3
CHEK2	KMT2A	SMC1A
CREBBP	KRAS	SMC3
CRLF2	LUC7L2	SRP72
CSF3R	MBD4	SRSF2
CUX1	MPL	STAG2
DDX41	MYC	STAT3
DHX15	NF1	STAT5A
DHX34	NFE2	STAT5B
DNMT3A	NIPBL	TERC
EP300	NOTCH1	TERT
ETNK1	NPM1	TET2
ETV6	NRAS	TP53
EZH2	PAX5	TYK2
FBXW7	PDGFRA	U2AF1
FGFR1	PDGFRB	UBA1
FLT3	PHF6	UBTF
GATA1	PIGA	WT1
GATA2	PPM1D	ZBTB7A
GNAS	PRPF8	ZRSR2

Université de Lille  
UFR3S-Pharmacie  
**DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**  
Année Universitaire 2023/2024

**Nom : CHKILI**  
**Prénom : Wissal**

**Titre de la thèse :**

**ÉVALUATION DE LA PLACE DE LA CARTOGRAPHIE OPTIQUE DU GÉNOME  
DANS LA PRISE EN CHARGE CYTOGÉNÉTIQUE DES SYNDROMES  
MYÉLODYSPLASIQUES.**

**Mots-clés : syndromes myélodysplasiques, cartographie optique du génome,  
cytogénétique**

---

**Résumé :**

La cartographie optique du génome permet, en une seule analyse, de regrouper toutes les informations auparavant obtenues via la combinaison du caryotype et de la FISH, avec une résolution pouvant atteindre 5 kb.

Ce travail a montré sa faisabilité sur site ainsi que son efficacité dans notre cohorte rétrospective de 50 cas de SMD de la région Nord Pas-de-Calais.

Dans notre étude, son utilisation a permis de redéfinir les scores pronostiques pour 23% et 17% des patients, respectivement, pour les scores cytogénétique et IPSS-R.

Dans la majorité des cas, cette reclassification s'est orientée vers un score plus défavorable, en raison des anomalies additionnelles détectées.

Cette technique permet de fournir des résultats complets en 72 heures. Elle est plus précise et exhaustive qu'une analyse combinée caryotype et FISH et nécessite 10 fois moins de matériel biologique. De plus, elle permet de contourner les échecs de culture. Elle s'impose ainsi comme le nouvel outil en cytogénomique, permettant à court terme d'améliorer la précision diagnostique conformément aux recommandations de l'OMS et des sociétés savantes.

---

**Membres du jury :**

**Président :**

Monsieur le Professeur Thierry BROUSSEAU, PU-PH, CHU de Lille

**Directrice :**

Madame le Professeur Catherine ROCHE-LESTIENNE, PU-PH, CHU de Lille

**Assesseurs :**

Madame le Professeur Marie-Bérengère TROADEC, PU-PH, CHU de Brest

Madame le Docteur Sophie KALTENBACH, PH, Hôpital Necker-Enfants malades, AP-HP

Monsieur le Docteur Adrien DANIEL, Assistant spécialiste, CHU de Lille-CH de Dunkerque