

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

**Soutenue publiquement le 15 Octobre 2024  
Par Madame Corentine KLOS**

---

**EVALUATION ET APPORT DE LA CARTOGRAPHIE OPTIQUE DU  
GENOME DANS LES LYMPHOMES DIFFUS A GRANDES CELLULES B**

---

**Membres du jury :**

**Président :**

Madame le Professeur Stéphanie POULAIN, PU-PH, Laboratoire  
d'hématologie, CHU de Lille

**Directrice de thèse :**

Madame le Docteur Pauline ROYNARD, AHU, Laboratoire de cytogénétique,  
CHU de Lille

**Assesseur(s) :**

Madame le Docteur Doriane CAVALIERI, PH, Service d'hématologie clinique,  
CHU de Lille

Monsieur le Docteur Romain DUBOIS, PH, Laboratoire d'anatomopathologie,  
CHU de Lille



|                                                                                                                                                                     |                                                    |                                            |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|--------------------------------------------|
|   | LISTE GEREE                                        | LG/FAC/001                                 |
| FACULTE DE PHARMACIE                                                                                                                                                | Enseignants et Enseignants-chercheurs<br>2023-2024 | Version 2.2<br>Applicable au<br>02/01/2022 |

| REDACTION                                           | VERIFICATION                                     | APPROBATION                      |
|-----------------------------------------------------|--------------------------------------------------|----------------------------------|
| <b>Audrey Hennebelle</b><br>Assistante de direction | <b>Cyrille Porta</b><br>Responsable des Services | <b>Delphine Allorge</b><br>Doyen |

### 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<br>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<br>Albert Lespagnol     | 86 |
| M.  | FLIPO                 | Marion          | Chimie organique                                          | 86 |
| M.  | FRULEUX               | Alexandre       | Sciences végétales et fongiques                           |    |
| M.  | FURMAN                | Christophe      | Institut de Chimie Pharmaceutique<br>Albert Lespagnol     | 86 |
| M.  | GERVOIS               | Philippe        | Biochimie                                                 | 87 |
| Mme | GOOSSENS              | Laurence        | Institut de Chimie Pharmaceutique<br>Albert Lespagnol     | 86 |
| Mme | GRAVE                 | Béatrice        | Toxicologie et Santé publique                             | 86 |
| M.  | HAMONIER              | Julien          | Biomathématiques                                          | 26 |
| Mme | HAMOUDI-BEN<br>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<br>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<br>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 ma présidente de jury de thèse,

**Madame le Professeur Stéphanie Poulain**

*Professeur des Universités – Praticien Hospitalier  
Laboratoire d'hématologie  
Centre Hospitalier et Universitaire de Lille*

Je vous remercie de me faire l'honneur de présider le jury de ma thèse et pour l'intérêt que vous avez porté à mon travail. Soyez assurée de ma reconnaissance et de mon profond respect.

A mes assesseurs,

**Madame le Docteur Doriane Cavalieri**

*Praticien Hospitalier  
Service d'hématologie, Hôpital Claude Huriez  
Centre Hospitalier et Universitaire de Lille*

**Monsieur le Docteur Romain Dubois**

*Praticien Hospitalier  
Laboratoire d'anatomopathologie  
Centre Hospitalier et Universitaire de Lille*

Vous me faites l'honneur de participer à ce jury de thèse. Je vous remercie pour l'attention et l'intérêt que vous avez porté à mon travail. Soyez assurés de ma sincère reconnaissance et de mon profond respect.

A ma directrice de thèse,

**Madame le Docteur Pauline Roynard**

*Assistance Hospitalo-Universitaire  
Laboratoire de cytogénétique  
Centre Hospitalier et Universitaire de Lille*

Je te remercie sincèrement de m'avoir encadrée pour ce travail de grande envergure. Merci pour ton implication, ton soutien, ta bienveillance et pour le temps que tu m'as accordée. Merci également pour ta bonne humeur et tes conseils durant mes six mois en cytogénétique. Je suis ravie d'avoir eu l'occasion de te rencontrer et de travailler à tes côtés. Sois assurée de mon profond respect.

A mes parents,

Que je remercie du fond du cœur, car sans vous, rien de tout ça n'aurait été possible. Vous avez toujours été là pour moi, à me soutenir et m'aider dans mes choix.

Maman, est-ce que tu te souviens quand nous sommes montées à la faculté de Médecine de Lille parce que j'étais refusée en PACES sur post-bac après mon BTS à cause de mon « parcours atypique » ? Et bien je suis sûre que c'est grâce à toi, ta détermination (et sûrement aussi un peu ta colère à ce moment-là) que j'ai été admise. Et voilà où je suis aujourd'hui...

Je vous aime.

A mes compagnons de vie,

**Bounty**, tu auras été le plus incroyable des lapins. Les personnes qui ne t'ont pas connu ne peuvent pas comprendre la relation qui nous unissait. Merci d'avoir toujours été près de ta maman pendant ses études de pharmacie, mais surtout merci du plus profond de mon cœur pour toute la compagnie et le soutien émotionnel que tu m'auras apportés pendant ma préparation au concours de l'internat. Merci pour tout l'amour que tu m'as donné pendant six ans. Je t'aime.

**Ulysse**, tu es actuellement en train de faire le fou à côté de moi pendant que j'écris tout ça. Merci d'être le carlin exceptionnel que tu es. Comme je dis t'es un super chien et sans toi je n'aurais jamais réussi à traverser toutes les épreuves de 2024. Merci de rendre mon quotidien aussi joyeux et mouvementé. Je t'aime.

*Ulysse, nous sommes le 28 Septembre 2024 quand j'édite ces remerciements que j'avais écrits il y a quelques semaines déjà... Tu as traversé le pont de l'arc-en-ciel le 19 Septembre, laissant ta maman horriblement triste... Tu étais fantastique et je te remercie du plus profond de mon cœur pour tout ce que tu m'as donné. Tu me manques tellement mon chien...*

**Duchesse**, la petite dernière de la famille, arrivée il y a peu. Du haut de tes deux petits mois, tu remplis nos cœurs de douceur et de folie. Je t'aime.

A mon amoureux,

**Arthur...** Tu es arrivé dans ma vie au moment où je m'y attendais le moins, et pourtant tu as pris rapidement une très grande place dans mon cœur, comme si nous avions toujours été ensemble. Je t'aime.

A ma marraine,

Qui aura toujours été là pour moi, avec qui j'ai partagé énormément de passe-temps. Merci de m'avoir appris à coudre, grâce à toi Maman de Bounty a vu le jour. Je t'aime.

A ma meilleure amie,

**Manon**, ma sœur, mon binôme, ma raison. Notre amitié m'est tellement précieuse. J'aurais tellement adoré être à nouveau en stage avec toi. Gros cœur sur le stage à Arras. Je suis ravie de connaître ton futur mari et ton petit bout. Je t'aime.

A mes amis,

**Lucie & Amélie**, mes amies de la fac avec qui j'aurais pu partager de nombreux moments d'euphorie, de joie, de larmes, de rires... Bref des années extraordinaires.

**Mélanie** ma Totally Spie, **Ilyes** ma Martine & **Tasnim** ma Bactériologiste préférée, sans qui mon internat n'aurait pas eu la même saveur de folie.

**Flavie, Elise & Jen'** mes coups de cœur Valenciennois, en espérant pouvoir un jour retravailler avec vous trois.

**Tim & Claire, Robin & Claire, Martin & Romain**, mes fidèles amis qui m'auront accompagnée pendant des mois, des années, sans que notre amitié ne change d'un poil malgré la distance, le manque de temps et le travail de chacun. Loin des yeux mais près du cœur.

A mes collègues,

**Pauline, Zoe & Alice**, mes grandes sœurs de Parasito, et l'équipe de parasitologie et sérologie fongique du CBP. Merci pour ces six mois d'externat fantastiques. **Team Lama** !

**JD**, mon grand frère de Bioch, & **Rebecca** ma belle-sœur de l'EFS. Tellement contente d'avoir une sœur comme Sélène.

**Clara, Apolline, Khalil, Coco, Justine, Emma, Mara, Thomas, Hachem, Laura & Calixte**, mes co-internes.

**Mathis, Momo, Dodo & Aymeric** les zouzous, **Agathe** mon bébé, mes externes.

Au laboratoire de Biochimie et secteur de Métabo' du CBP,

Merci pour ce premier semestre d'interne qui m'aura directement plongée dans le grand bain !

Au laboratoire du CH d'Arras,

**Marie-Noëlle, Simone, Monique, Marie, Maha, Boushra, Caroline, Pascal, Benoît, Fabien & Jean-Maxime**, l'équipe de Biologistes qui aura su me faire confiance et qui m'auront appris énormément de choses, et qui me connaissent pour certains depuis mon premier FFI en 2021. L'équipe technique de Bactériologie, d'Hématologie, le secrétariat, le dépôt de sang, pour vos rires et votre bonne humeur.

**Ingrid, Laura, Pauline, Nathalie & Thérèse** qui m'auront connue bébé interne.

**Séverine, Lolo, Sabiche, Clairette, Jérémy, Thomas, François et les autres techniciens d'hématologie** qui m'auront supportée pendant un an et demi à Arras.

Merci à l'équipe d'hématologie clinique pour ce dernier semestre : **Pauline, Marc, Stéphane et Walid**. J'aurais été très heureuse de partager cette expérience avec vous !

Au laboratoire du CH de Valenciennes,

**Mr Bisiau, Claire, Benoît, Justine, Sophie & Quentin**, les Biologistes d'hémato. Merci de m'avoir transmis cette passion pour l'hématologie. Grâce à vous et aux super'techniciens du secteur, j'aurais passé deux semestres absolument incroyables, et j'ai d'autant plus hâte de revenir comme DJ !

Merci également à l'ensemble biologistes, des techniciens, agents du pré-ana, secrétaires car c'est grâce à vous tous que j'ai eu un si gros coup de cœur pour ce labo.

Au laboratoire de Cytogénétique de Jeanne de Flandre,

Merci maman Catherine pour ta confiance quand je suis venue me présenter en Juillet 2023.

Merci **Paupau, Agnes, Helene, Marine, Sonia & Elise**, vous êtes la dream team des Biologistes, ne changez pas !

Merci **Lola, Marthe, Etienne & Steven** pour les fourires, et merci à tout le personnel du laboratoire, vous êtes adorables !

Mais aussi...

Merci à l'équipe pédagogique du BTS d'Analyses de Biologie Médicale du lycée Henri Darras de Liévin de m'avoir permis de découvrir et de m'épanouir dans le domaine de la Biologie Médicale. Merci à **Mme Roboubi & Mme Martin**, qui m'auront soutenue, que ce soit en BTS, ou dans mon choix de partir en PACES après avoir été diplômée technicienne de laboratoire.

Merci à **Cerballiance**, notamment au laboratoire place Guy Mollet à l'époque, durant lequel j'aurais pu effectuer mon stage de Bactériologie dans une équipe très familiale, mais aussi au laboratoire des Bonnettes qui m'aura supportée pendant des années (et je ne parle pas de **Carole** !!) : comme stagiaire, bébé technicienne, et technicienne. Merci aux Biologistes qui étaient au courant de mon projet professionnel et qui auront su me pousser à aller de l'avant pour ne rien regretter.

Merci également à l'équipe de la **Pharmacie du Marais de Feuchy, Caro, Isa, Michèle, Christelle, et Salomé**, pour ces folles années passées à vos côtés en officine. Je n'oublierais jamais ce que toutes ces années m'ont apportée, notamment en termes de connaissances, de relations humaines, et sauvetage de partiels en révisant les médicaments au comptoir !

Mais surtout merci à **Mlle Messeant**, vous êtes un véritable exemple pour moi. D'ailleurs merci de m'avoir mise en relation avec Cerballiance de Saint-Amand-Les-Eaux. J'ai rencontré des personnalités adorables, passionnées et surtout très enjoués que je les rejoigne prochainement. Alors aussi merci aux Biologistes qui m'ont accueillie et qui se font une joie de bientôt vivre une nouvelle expérience avec moi !

*Je dédie cette thèse à mon Papa,  
A l'occasion de ses 60 ans, le 6 Octobre 2024*



## ABREVIATIONS

**ABC** : Lymphocyte B activé

**AID** : *Activation-induced cytidine desaminase*

**BCR** : *B-cell receptor*

**CG** : Centre germinatif

**CSH** : Cellule souche hématopoïétique

**COG** : Cartographie optique du génome

**DLBCL** : Lymphome diffuse à grandes cellules B

**DLBCL-LT** : Lymphome diffuse à grandes cellules B de type jambe

**EBV** : Virus d'Epstein-Barr

**FISH** : *Fluorescence In Situ Hybridization*

**GCB** : Cellule B du centre germinatif

**GEP** : Profil d'expression génique

**HAS** : Haute autorité de santé

**IG** : Immunoglobuline

**IHC** : Immunohistochimie

**LAL** : Leucémie aiguë lymphoblastique

**LB** : Lymphocyte B

**LF** : Lymphome folliculaire

**LNH** : Lymphome non Hodgkinien

**LTP** : Lymphome testiculaire primaire

**LyB** : Lymphome de Burkitt

**LZM** : Lymphome de la zone marginale

**MAI** : Maladie auto-immune

**MMP** : Cellules souche multipotente

**NF-KB** : *Nuclear factor-kappa B*

**NGS** : *Next Generation Sequencing*

**PMBCL** : Lymphome médiastinal primitif à grandes cellules B

**RAG** : Recombination-activating genes

**SNC** : Système nerveux central

**VIH** : Virus de l'immunodéficience humaine



## TABLE DES MATIERES

|      |                                                                   |    |
|------|-------------------------------------------------------------------|----|
| I.   | INTRODUCTION .....                                                | 33 |
| A.   | Le lymphome diffus à grandes cellules B.....                      | 33 |
| 1.   | Définition .....                                                  | 33 |
| 2.   | Épidémiologie.....                                                | 33 |
| 3.   | Clinique.....                                                     | 33 |
| 4.   | Étiologies et facteurs de risques .....                           | 34 |
| 5.   | Diagnostic anatomopathologique .....                              | 35 |
| 6.   | Diagnostic biologique.....                                        | 37 |
| 7.   | Examens d'imagerie .....                                          | 38 |
| 8.   | Cytogénétique des DLBCLs et lymphomes B agressifs .....           | 39 |
| 9.   | Biologie moléculaire.....                                         | 43 |
| 10.  | Pronostic.....                                                    | 45 |
| 11.  | Thérapeutique.....                                                | 46 |
| B.   | La cartographie optique du génome .....                           | 47 |
| 1.   | Principe technique .....                                          | 47 |
| 2.   | Historique .....                                                  | 49 |
| 3.   | Implémentation en onco-hématologie.....                           | 51 |
| 4.   | Intérêt et limites de l'OGM .....                                 | 52 |
| II.  | OBJECTIF .....                                                    | 53 |
| III. | MATERIEL ET METHODES.....                                         | 54 |
| A.   | Sélection des échantillons et caractéristiques de la cohorte..... | 54 |
| B.   | Caryotype .....                                                   | 55 |
| C.   | FISH.....                                                         | 56 |
| D.   | Préparation des échantillons pour la COG.....                     | 59 |
| 1.   | Préparation des échantillons .....                                | 59 |
| 2.   | Extraction UHMW .....                                             | 59 |
| 3.   | Marquage des molécules d'ADN .....                                | 60 |
| 4.   | Passage sur le Saphyr .....                                       | 61 |
| E.   | Analyse OGM : Pipeline et filtres utilisés .....                  | 62 |
| 1.   | Algorithme de traitement des données .....                        | 62 |

|     |                                                                                         |    |
|-----|-----------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.  | Détection des variants structuraux et des variants de nombre de copies .....            | 62 |
| 3.  | Évaluation des critères de qualité.....                                                 | 65 |
| 4.  | Logiciel Bionano Access .....                                                           | 66 |
| 5.  | Choix des filtres d'analyses .....                                                      | 68 |
| 6.  | Analyse des profils de cartographie optique.....                                        | 69 |
| IV. | RESULTATS.....                                                                          | 71 |
| A.  | Évaluation qualitative des échantillons .....                                           | 71 |
| B.  | Comparaison de méthodes.....                                                            | 72 |
| 1.  | Données initiales .....                                                                 | 72 |
| 2.  | Comparaison des données caryotype/FISH à la cartographie optique.....                   | 74 |
| 3.  | Partenaires des translocations impliquant <i>MYC</i> , <i>BCL2</i> et <i>BCL6</i> ..... | 76 |
| 4.  | Précision des points de cassure autour de <i>MYC</i> .....                              | 80 |
| C.  | Apport d'informativité .....                                                            | 82 |
| 1.  | Autres translocations d'intérêt impliquant les <i>loci IG</i> .....                     | 82 |
| 2.  | Détection d'anomalies récurrentes d'intérêt.....                                        | 83 |
| V.  | DISCUSSION .....                                                                        | 87 |
| VI. | CONCLUSION .....                                                                        | 92 |

## TABLE DES FIGURES

|                                                                                                                                                  |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figure 1 : Localisations anatomiques et sous-types de DLBCL d'après De Groot et al (2022) (3).                                                   | 34 |
| Figure 2 : Histologie du lymphome diffus à grandes cellules B d'après Bosly et al, 2023 (7)....                                                  | 35 |
| Figure 3 : Structure d'un ganglion d'après Weller et al, 2015 (8). ....                                                                          | 36 |
| Figure 4 : Algorithme de Hans pour la classification du DLBCL d'après Rutherford et al, 2018 (12).....                                           | 37 |
| Figure 5 : Aspect cytologie du DLBCL. ....                                                                                                       | 38 |
| Figure 6 : Classification d'Ann Arbor d'après Montravers et al (18). ....                                                                        | 39 |
| Figure 7 : Caryotype anormal complexe > 3 anomalies. On note notamment la présence d'une translocation t(8;14)(q24;q32) IGH::MYC. ....           | 40 |
| Figure 8 : Algorithme de classification des lymphomes agressifs à cellules B dans la cinquième version de la classification OMS (2022) (23)..... | 42 |
| Figure 9 : Classification selon Wright (27). ....                                                                                                | 44 |
| Figure 10 : Classification selon Chapuy (28). ....                                                                                               | 44 |
| Figure 11 : Score IPI d'après (29). ....                                                                                                         | 45 |
| Figure 12 : Stratification du R-IPI : 3 groupes de risque selon le score IPI (30). ....                                                          | 46 |
| Figure 13 : Principes techniques de la COG. ....                                                                                                 | 48 |
| Figure 14 : Chronologie des découvertes et améliorations de la COG au cours des deux dernières décennies selon Yuxuan et al, 2020 (44). ....     | 49 |
| Figure 15 : Étapes techniques de réalisation d'un caryotype ....                                                                                 | 55 |
| Figure 16 : Sondes Metasystems pour exploration d'un remaniement de MYC. ....                                                                    | 57 |
| Figure 17 : <b>A</b> : Sonde XL t(14;18) IGH/BCL2 DF (Metasystems). <b>B</b> : signaux observés sur une métaphase sans anomalie. ....            | 58 |
| Figure 18 : <b>A</b> : Sonde XL BCL6 BA (Metasystems) <b>B</b> : signaux observés sur une métaphase et noyaux sans anomalie. ....                | 58 |
| Figure 19 : Ensemble des étapes techniques permettant d'obtenir la cartographie optique du génome.....                                           | 59 |
| Figure 20 : Automate Saphyr Bionano Genomics®.....                                                                                               | 61 |
| Figure 21 : Visualisation des variants structuraux par la technologie Bionano. ....                                                              | 63 |
| Figure 22 : Performances de sensibilité pour la détection des variants structuraux évaluées par Bionano Genomics sur données réelles. ....       | 64 |
| Figure 23 : Sensibilité de détection de variants de nombre de copies établis par Bionano Genomics sur données simulées en couverture 300X. ....  | 65 |
| Figure 24 : Le Circosplot permet d'obtenir un résumé du génome entier des variants détectés. ....                                                | 67 |
| Figure 25 : Interface « Whole Genome ».....                                                                                                      | 67 |
| Figure 26 : Genome Browser Interface, pipeline RVA. ....                                                                                         | 68 |
| Figure 27 : Mise en évidence des anomalies touchant les loci d'intérêt en appliquant le fichier bed, simplifiant leur visualisation.....         | 69 |

|                                                                                                                                                                                                                 |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figure 28 : Insertion cryptique d'une séquence de 350kb, issu du chromosome 9, au locus du gène MYC (8q24) mise en évidence par cartographie optique et invisible en FISH et caryotype pour le patient 15. .... | 76 |
| Figure 29 : Implication du locus 9p13 dans 3 remaniements non-IG avec les oncogènes MYC et BCL6. ....                                                                                                           | 78 |
| Figure 30 : Translocation t(8;12)(q24.21;p12.1) juxtaposition MYC::LRMP, patient 3. ....                                                                                                                        | 79 |
| Figure 31 : Remaniement complexe et déséquilibrée du locus de BCL6, patient 13. ....                                                                                                                            | 80 |
| Figure 32 : Représentation schématiques des points de cassure identifiés au locus MYC dans la série. ....                                                                                                       | 81 |
| Figure 33 : Translocations du locus IGH avec un partenaire sur le chromosome 19. ....                                                                                                                           | 82 |
| Figure 34 : Translocation t(14;17)(q32;q12) menant à une juxtaposition IGH::DUSP14, patient 13. ....                                                                                                            | 83 |
| Figure 35 : Délétions récurrentes du locus 9p21.3 incluant CDKN2A et CDKN2B (patient 3, 9, 10, 15) et CDKN2B (patient 6). ....                                                                                  | 84 |
| Figure 36 : Amplification BCL11A et REL, patient 14. ....                                                                                                                                                       | 85 |
| Figure 37 : Amplification de CD44 chez le patient 12. ....                                                                                                                                                      | 86 |
| Figure 38 : Amplification du locus 14q31.1 chez le patient 13. ....                                                                                                                                             | 86 |

## INDEX DES TABLEAUX

|                                                                                                                                                                       |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tableau 1 : Caractéristiques de la cohorte. ....                                                                                                                      | 54 |
| Tableau 2 : Critères de validité de la COG d’après Brynn Levy et al (56).....                                                                                         | 66 |
| Tableau 3 : Les cinq niveaux de qualité pouvant être attribués à un échantillon selon Brynn L. et al (56) .....                                                       | 66 |
| Tableau 4 : Positions des gènes d’intérêt dans notre extension de fichier.....                                                                                        | 70 |
| Tableau 5 : Résultats de l’évaluation qualitative pour les 14 patients de notre cohorte, d’après Brynn Levy et al.....                                                | 72 |
| Tableau 6 : Formules chromosomiques des 15 patients.....                                                                                                              | 86 |
| Tableau 7 : Synthèse des données de caryotype et FISH des 15 patients.....                                                                                            | 74 |
| Tableau 8 : Identification des remaniements aux loci BCL6, MYC, BCL2. Les cases colorées désignent l’identification du remaniement par caryotype/FISH ou par COG..... | 75 |
| Tableau 9 : Partenaires non-IG impliqués dans les remaniements de MYC pour les patients 2, 3 et 15, et BCL6 pour les patients 12 et 13.....                           | 77 |

## TABLE DES ANNEXES

|               |     |
|---------------|-----|
| ANNEXE 1..... | 101 |
|---------------|-----|





# I. INTRODUCTION

## A. Le lymphome diffus à grandes cellules B

### 1. Définition

Le lymphome diffus à grandes cellules B (DLBCL) est un type de lymphome non hodgkinien (LNH) de haut grade, classé parmi les hémopathies malignes. Il se caractérise par une prolifération diffuse de grandes cellules B, responsable d'infiltrats au sein des ganglions lymphatiques et détruisant leur architecture physiologique.

### 2. Épidémiologie

Il s'agit de la forme la plus courante des LNH et représente 30 à 58% des cas (1). De plus, c'est l'une des formes les plus agressives de lymphome en raison de sa prolifération rapide et incontrôlée des lymphocytes B tumoraux. Selon les estimations de 2018, on estime à 5 071 le nombre de nouveaux cas de DLBCL en France chaque année. Les taux d'incidence standardisés monde sont de 4,7 pour 100 000 personnes-années chez l'homme et de 3,2 pour 100 000 personnes-années chez la femme. L'incidence en Europe est de 3,8 nouveaux cas pour 100 000 habitants par an. Cette incidence augmente avec l'âge avec un âge médian au diagnostic de soixante-dix ans, et une discrète prépondérance masculine (2).

### 3. Clinique

Les DLBCLs forment un ensemble hétérogène de sous-types présentant des caractéristiques cliniques, biologiques et moléculaires distinctes (figure 1). Bien que la majorité de ces lymphomes soient primitifs, comprenant des entités telles que le lymphome médiastinal primitif à grandes cellules B, le lymphome primitif des séreuses ou encore le lymphome intravasculaire à grandes cellules B, ils peuvent également résulter d'une transformation secondaire d'un LNH indolent tel que le lymphome folliculaire (LF), le lymphome de MALT, le lymphome de la zone marginale (LZM) splénique ou le lymphome lymphoplasmocytaire.

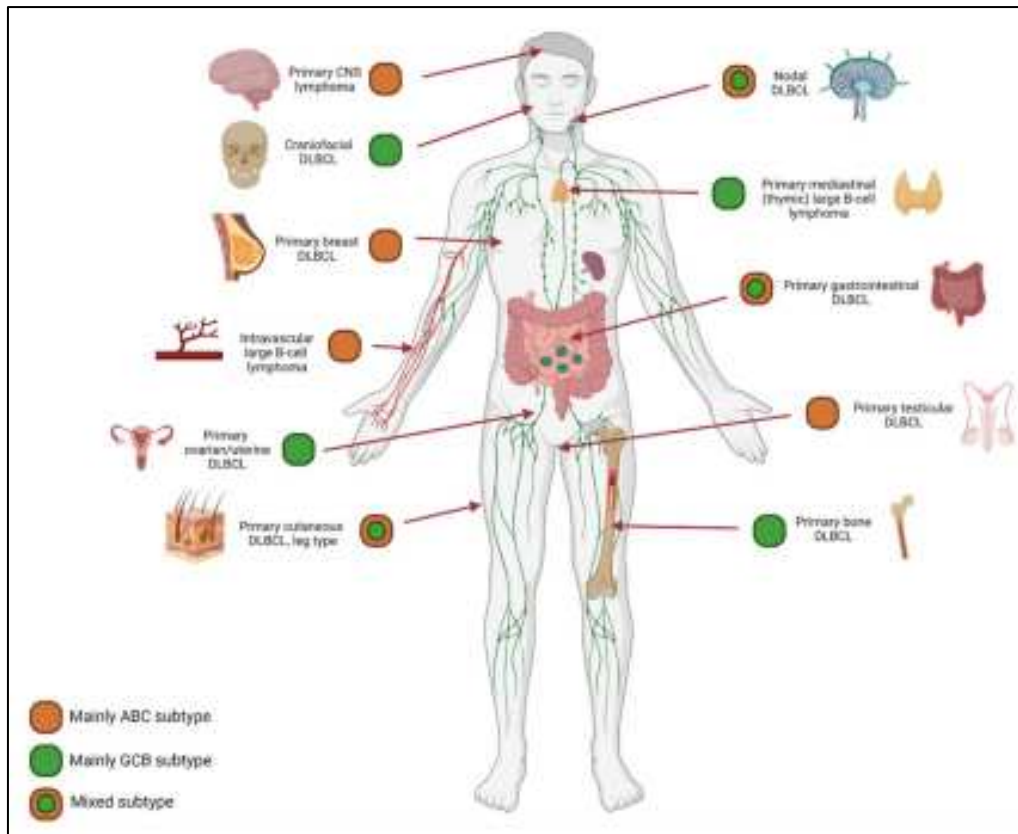


Figure 1 : Localisations anatomiques et sous-types de DLBCL d'après De Groot et al (2022) (3).

Le signe le plus fréquent au début de la maladie est la présence d'adénomégalie(s), car dans 40 % des cas, il s'agit d'une forme localisée (4). Les adénopathies sont rarement douloureuses, même lorsqu'elles deviennent volumineuses et apparentes. Elles se situent le plus souvent au niveau cervical et axillaire, mais peuvent également être retrouvées au niveau thoracique et abdominal. Lorsque les ganglions deviennent trop volumineux, ils peuvent entraîner des troubles liés à leur localisation. Par exemple, une hypertrophie des ganglions lymphatiques au niveau thoracique ou médiastinal peut provoquer une toux et un essoufflement, tandis qu'une masse abdominale peut causer des troubles digestifs ou des douleurs dorsales. Parmi les autres signes cliniques, on retrouve la triade de signes B : perte de poids, fièvre associée à une asthénie et sueurs nocturnes abondantes.

#### 4. Étiologies et facteurs de risques

Les causes des DLBCLs restent inconnues dans la grande majorité des cas. Cependant, des facteurs de risque susceptibles de favoriser l'apparition de cette maladie ont été identifiés.

Parmi eux, on retrouve les infections par certains virus, comme le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), le virus de l'hépatite C ou le virus d'Epstein-Barr (EBV). L'exposition à des pesticides, bien que controversée, pourrait également jouer un rôle. Il semblerait que des antécédents familiaux de LNH ou de maladies auto-immunes (MAI) puissent également favoriser la survenue de ce lymphome (5,6). Et enfin, les traitements immunosuppresseurs utilisés pour le traitement des rejets de greffe d'organe peuvent être à l'origine d'une immunodépression favorisant l'apparition de ce type de lymphome (5,6). Il est important de noter que le lymphome diffus à grandes cellules n'est ni héréditaire ni contagieux (4).

#### 5. Diagnostic anatomopathologique

Le diagnostic repose sur la mise en évidence d'une disparation complète de l'architecture folliculaire du ganglion associée à une infiltration diffuse par des grandes cellules lymphoïdes de phénotype B (CD20+) (figure 2). Ce diagnostic est effectué en anatomopathologie à partir d'une biopsie ganglionnaire ou d'un échantillon infiltré en cellules tumorales.

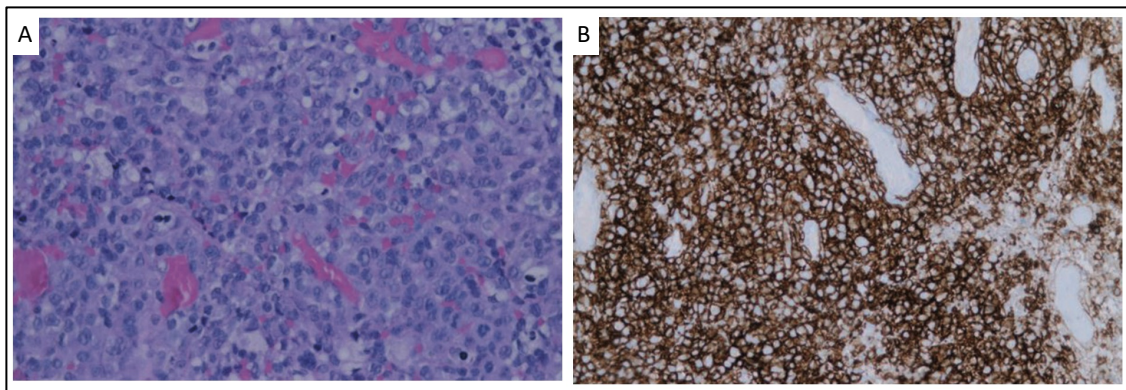


Figure 2 : Histologie du lymphome diffus à grandes cellules B d'après Bosly et al, 2023 (7).

**A** : Marquage HES. **B** : Marquage anti-CD20.

La structure d'un ganglion est notamment composée de follicules secondaires au sein desquels les lymphocytes B (LB) naïfs vont migrer et effectuer leur maturation (figure 3).

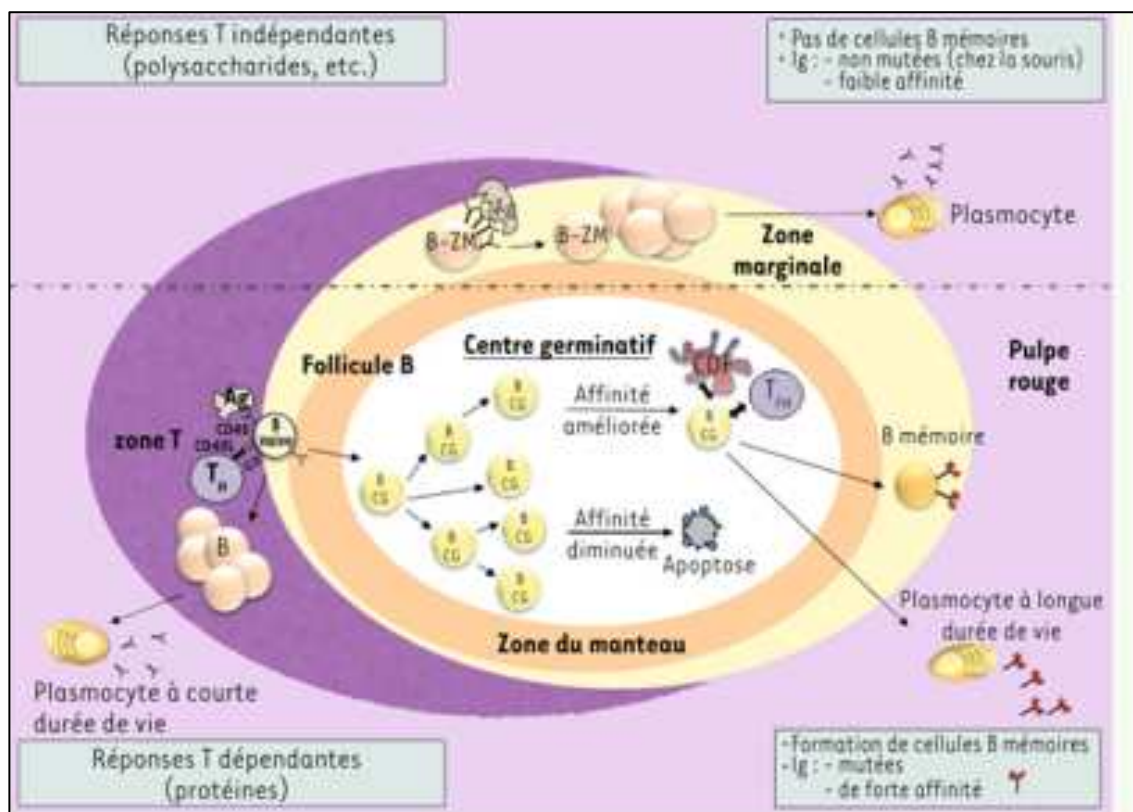


Figure 3 : Structure d'un ganglion d'après Weller et al, 2015 (8).

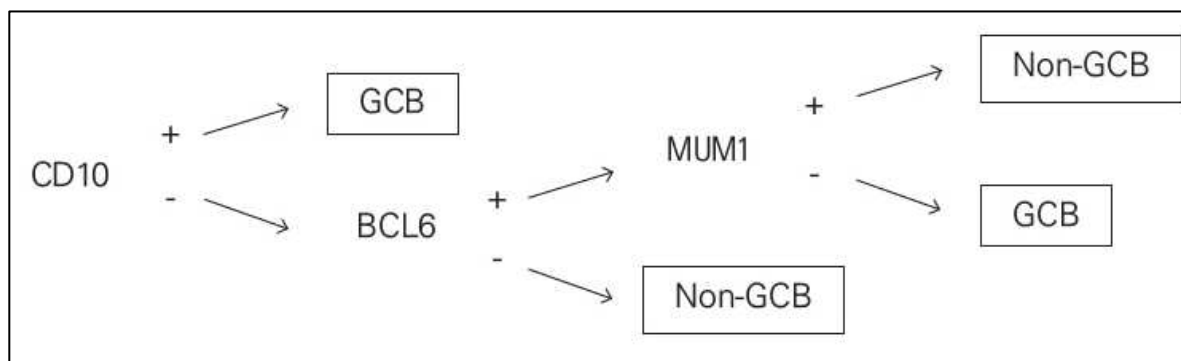
Dans le centre germinatif on distingue la zone sombre, en violet, qui est le siège d'une prolifération avec expansion oligoclonale des centroblastes et le lieu des mutations somatiques et la zone claire, en jaune, où s'effectue la différenciation en centrocytes avec sélection clonale.

CDF : cellules dendritiques folliculaires ; Ig : immunoglobuline ; B CG : cellule B du centre germinatif ; B-ZM : cellules B de la zone marginale ; T<sub>H</sub> : T helper ; T<sub>FH</sub> : T follicular helper.

Des mécanismes physiologiques s'effectuent dans le centre germinatif avec notamment l'hypermutation somatique par l'*activation-induced cytidine desaminase* (AID), qui est responsable des mutations ponctuelles sur les gènes codants pour les régions variables des chaînes lourdes et légères du *B-cell receptor*, ou BCR (les gènes des immunoglobulines, IG). Le but de ce premier mécanisme est la reconnaissance spécifique d'un antigène (Ag) par le BCR. On parle de mutation négative si cela aboutit à la formation d'un BCR de faible affinité, engendrant l'apoptose de la cellule, et de mutation positive si le BCR est de forte affinité, indispensable à la survie de la cellule. Le deuxième mécanisme est la commutation, ou permutation, de classe des IG. Lorsque les centroblastes sortent de cette phase de prolifération intense, ils deviennent des centrocytes et sont présents dans la zone claire. Ce centrocyte subira un test d'affinité de son récepteur. Les LB sélectionnés subissent un

remaniement moléculaire supplémentaire, la commutation de classe ou commutation isotypique qui permettra l'expression d'un BCR constitué d'autres isotypes que l'IgM et l'IgD de la cellule naïve initiale. L'ensemble de ces étapes de cassures et de recombinaisons de l'ADN entraînent des modifications de l'ADN qui peuvent concourir à l'émergence de cellules lymphomateuses et au développement de lymphomes. La morphologie des cellules et leur caractéristiques phénotypiques sont des arguments permettant de différencier les types de lymphomes et dans le cas des DLBCLs, de caractériser la cellule d'origine (COO), GC (cellule B du centre germinatif), non-GC, ABC (cellule B activée).

En effet, les entités anatomopathologiques distinguent à la fois des sous-types cytologiques : centroblastique, immunoblastique, ALK+, séreuses, intra-vasculaires ; et des **sous-types immunohistochimiques** en corrélation avec le profil d'expression génique (GEP) des cellules tumorales déterminé selon des algorithmes immunohistochimiques (IHC) tels que ceux de Visco-Young, Choi, Muris, Nyman et Tally (9,10). En routine l'algorithme le plus utilisé est celui de Hans, basé sur l'expression des marqueurs CD10, BCL6 et MUM1, avec un seuil de positivité de 30% (11) ([figure 4](#)).



[Figure 4](#) : Algorithme de Hans pour la classification du DLBCL d'après Rutherford et al, 2018 (12).

D'autres marqueurs immunohistochimiques sont généralement recherchés au diagnostic, tels que *BCL6*, *BCL2*, *C-MYC*, le KI67.

## 6. Diagnostic biologique

Au laboratoire d'hématologie, des prélèvements de moelle osseuse ou de sang peuvent être adressés dans le cadre d'explorations complémentaires (recherche d'infiltration médullaire

par exemple) ou dans le cadre du diagnostic lorsque des cytopénies sont à l'origine de la consultation du patient auprès d'un hématologue. Une infiltration médullaire par des cellules lymphomateuses est observée dans 10 à 25 % des cas. Cependant, la morphologie de ces cellules diffère souvent de celle retrouvée dans la biopsie ganglionnaire. On y observe de grandes cellules, dont le noyau est au moins deux fois plus volumineux que celui d'un lymphocyte normal. La présence de cellules circulantes dans le sang peut aussi être détectée, bien que la dissémination par voie sanguine reste rare (figure 5).

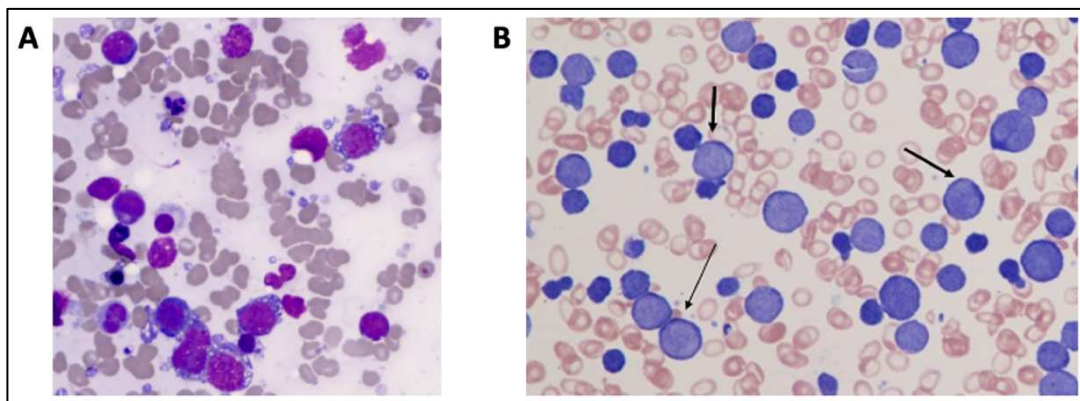


Figure 5 : Aspect cytologie du DLBCL.

**A** : Localisation médullaire du DLBCL. Il peut s'agir d'une atteinte de bas ou haut grade. Il arrive que le DLBCL affecte exclusivement la moelle osseuse : on parle alors de DLBCL primitif de la moelle osseuse (13). **B** : Dissémination sanguine d'un DLBCL avec mise en évidence des grandes cellules B par des flèches noires (14).

## 7. Examens d'imagerie

Une radiographie thoracique associée à un scanner corps entier sont effectués dans le cadre du diagnostic puis du suivi clinique. La tomographie par émission de positons (TEP-scan) est également utilisée pour identifier tous les foyers actifs de la maladie.

Les patients atteints de DLBCL se voient attribuer un stade anatomique à l'aide de la classification d'Ann Arbor, système de stratification largement utilisé dans les LNH et développé en 1971 puis modifié en 1989 (15,16) (figure 6). Bien qu'il s'agisse principalement d'un système de hiérarchisation anatomique, les stades d'Ann Arbor sont modifiés par la présence ou l'absence de symptômes systémiques (17). L'atteinte de la moelle osseuse par le DLBCL indique notamment une maladie de stade IV.

| <b>Tableau I</b><br>Classification d'Ann Arbor. La lettre E est ajoutée aux stades I et II, lorsqu'il existe une atteinte viscérale par contiguïté, incluable dans le champ de radiothérapie. |                                                                    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| <b>Stade I</b>                                                                                                                                                                                | Un seul groupe ganglionnaire.                                      |
| <b>Stade II</b>                                                                                                                                                                               | Deux groupes ganglionnaires du même côté du diaphragme.            |
| <b>Stade III</b>                                                                                                                                                                              | Plusieurs groupes ganglionnaires de part et d'autre du diaphragme. |
| <b>Stade IV</b>                                                                                                                                                                               | Présence de lésions viscérales.                                    |

Figure 6 : Classification d'Ann Arbor d'après Montravers et al (18).

Les stades sont sous-divisés selon l'absence (A) ou la présence (B) de symptômes systémiques.

#### 8. Cytogénétique des DLBCLs et lymphomes B agressifs

Une étude cytogénétique des cellules tumorales permet d'affiner la caractérisation du DLBCL. Les analyses cytogénétiques peuvent être réalisées à partir d'échantillons sanguins, médullaires ou de biopsies ganglionnaires et tissulaires infiltrés. Les caryotypes des DLBCLs et lymphomes B agressifs sont fréquemment complexes, avec la présence de plus de trois anomalies chromosomiques clonales (figure 7).

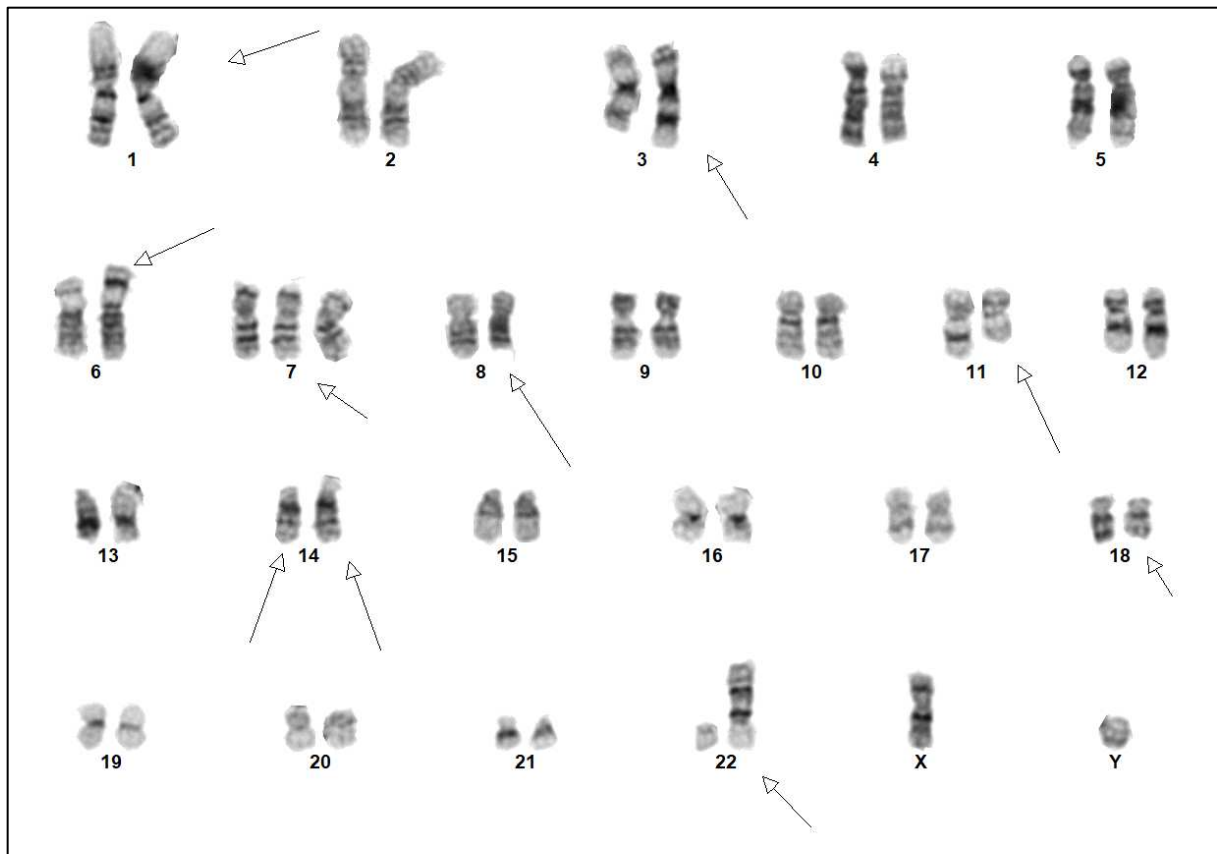


Figure 7 : Caryotype anormal complexe > 3 anomalies. On note notamment la présence d'une translocation  $t(8;14)(q24;q32)$  *IGH::MYC*.

Les anomalies cytogénétiques présentes dans les DLBCLs sont partagées avec d'autres sous-types d'hémopathies lymphoïdes, il n'y a pas d'anomalies spécifiques.

#### Remaniements des loci des IG :

On observe régulièrement des translocations impliquant les *loci* des gènes des immunoglobulines : *IGK* (2p11), *IGH* (14q32) et *IGL* (22q11). Les gènes des IG sont associés à des séquences régulatrices puissantes, séquences *enhancer*, qui en cas de translocation avec un oncogène et de la même manière que lorsqu'elle se juxtapose à *MYC*, *BCL2* ou *BCL6*, provoque l'hyperexpression majeure du gène et perturbe ainsi la physiologie de la cellule.

#### Remaniements de *MYC*, *BCL2*, *BCL6*

Dans le cadre des DLBCLs, des remaniements impliquant les oncogènes *MYC* (8q24), *BCL2* (18q21), et *BCL6* (3q27) sont observés dans 5 à 15%, 15% et 30% des cas respectivement (19). Ces remaniements s'opèrent fréquemment avec les gènes des IG et sont associés au sous-type cellulaire d'origine identifié en anatomopathologie : la translocation  $t(14;18)(q32;q21)$

induisant une hyperexpression de *BCL2* est plus fréquemment retrouvée dans les DLBCL de type GC, tandis que les remaniements de *BCL6* se voient plus fréquemment dans les DLBCL-ABC. Des remaniements de ces gènes avec des partenaires non-*IG* sont également décrits dans la littérature (20,21)

La t(8;14)(q24;q32) est la translocation de *MYC* majoritairement représentée dans les DLBCL, elle mène à la juxtaposition *IGH::MYC* et entraîne une hyperexpression majeure de *C-MYC*. *C-myc* est un facteur de transcription impliqué dans la prolifération cellulaire, la différenciation et l'apoptose en association avec *Bcl2*. *C-myc* s'ancre aux séquences *enhancer* et recrute des enzymes capables de recruter des acétylases d'histones. Cette translocation n'est pas spécifique des DLBCLs, et s'observe également dans les lymphomes de Burkitt où elle constitue généralement l'anomalie primaire et est le plus souvent dans un clone non complexe. On peut aussi la retrouver dans les lymphomes folliculaires et la leucémie lymphoïde chronique constituant alors une anomalie secondaire qui peut être associée à la progression ou rechute de la maladie (19). Les translocations avec les gènes des chaînes légères  $\kappa$  et  $\lambda$  sont plus rares, il s'agit de t(2;8)(p12;q24) *IGK::MYC* et de t(8;22)(q24;q11) *IGL::MYC*. L'ensemble de ces fusions représentent environ la moitié de toutes les translocations de *MYC* dans les DLBCL. Des gains ou des amplifications du gène *MYC* sont également observés dans 11 à 30 % des cas de DLBCL (4).

### Remaniements classants selon l'OMS 2022

La classification de l'OMS 2016 utilisait le terme « double/triple hit » pour décrire l'association de remaniements touchant *MYC* et *BCL2* et/ou *BCL6* (22). Dans la dernière version de la classification OMS, datant de 2022, ces termes ont été abandonnés et les remaniements de *MYC*, *BCL2* et *BCL6* définissent dorénavant les critères majeurs de distinction entre les différentes entités de DLBCL NOS, DLBCL/HGBL-MYC/BCL2, HGBL NOS, lymphome de Burkitt et HGBL avec aberrations 11q ([figure 8](#)).

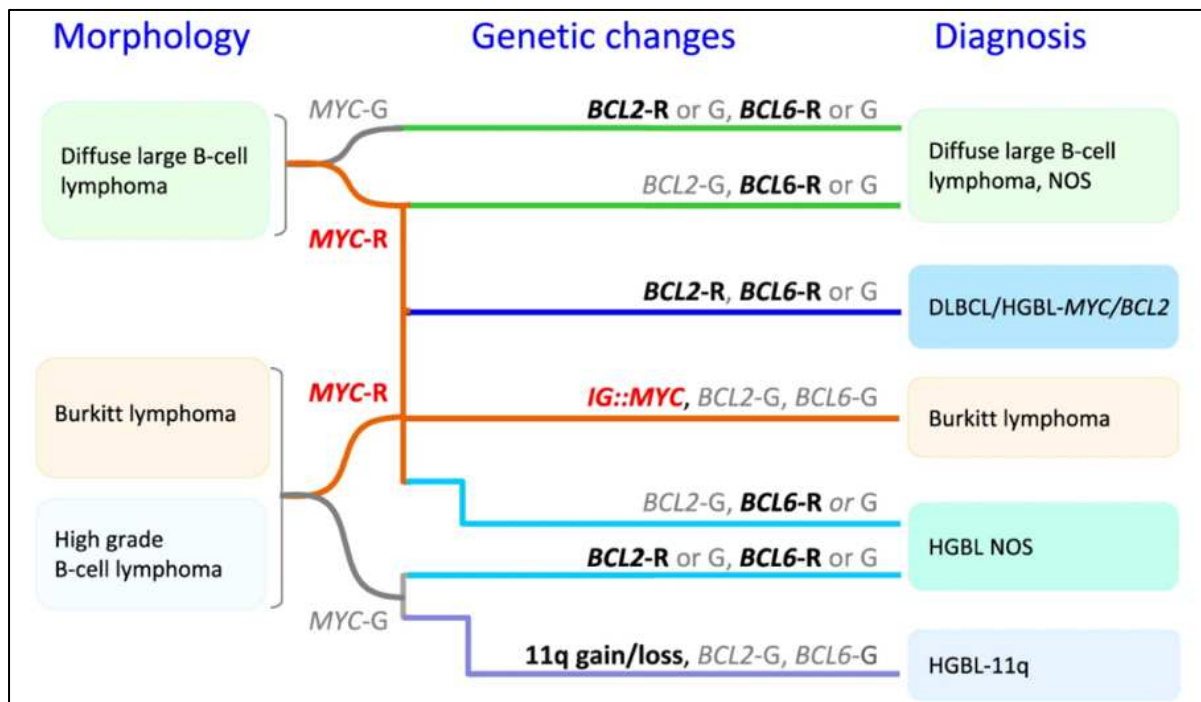


Figure 8 : Algorithme de classification des lymphomes agressifs à cellules B dans la cinquième version de la classification OMS (2022) (23).

#### Analyse FISH complémentaire :

Des analyses FISH (*Fluorescence In Situ Hybridization* ou hybridation fluorescente *in situ*) complémentaires sont réalisées dans le but de rechercher ou confirmer la présence de réarrangements des gènes *MYC*, *BCL2* et/ou *BCL6*.

Bien qu'elle soit parfois évidente au caryotype, l'anomalie des *loci MYC*, *BCL2* et *BCL6* peut être cryptique, par des mécanismes d'insertions notamment ou impliquée dans des réarrangements complexes rendant leur identification compliquée (24). Dans certains cas, la culture effectuée peut être un échec et l'absence d'obtention de métaphases nécessitent le recours à la FISH interphasique.

La technique de FISH utilise des sondes commerciales, qui selon leurs designs, ne sont pas exhaustives et équivalentes. Elles peuvent être couplées avec une sonde fluorescente ciblant le gène *IGH* (cas de la sonde XL *IGH/BCL2* Metasystems), ces sondes sont appelées « double/triple couleur- double fusion », ou elles peuvent être destinées à rechercher le remaniement d'un locus spécifique dite « breakapart » pour pallier le fait qu'un oncogène puisse avoir divers partenaires de translocation. La taille des gènes étant parfois très réduite

et les régions d'ADN non propices à l'hybridation d'une séquence d'oligonucléotide, la sonde fluorescente peut ne pas couvrir le gène et entraîner un résultat biaisé.

## 9. Biologie moléculaire

Les analyses moléculaires sont réalisées sur sang, moelle osseuse ou biopsie tissulaire en fonction des arguments cliniques et biologiques et sont devenues une véritable aide diagnostique pour identifier, en complément des analyses histologiques, cytologiques et cytogénétiques, un type ou un sous-type de LNH-B (25).

### Analyse d'expression :

Le concept de « cellule d'origine », ou « *cell of origin* », COO, distingue deux sous-types principaux basés sur l'expression de protéines spécifiques : « Cellule B du centre germinatif » (GCB) et « Lymphocyte B activé » (ABC), ainsi qu'un troisième type plus rare dit « inclassable ». Ces sous-types sont déterminés principalement par immunohistochimie, or la majorité de ces algorithmes sont binaires et classent les patients en phénotype GCB ou non-GCB. En conséquence, les cas appartenant au troisième type, dit « inclassable », sont souvent incorrectement assignés à l'une des deux catégories (26). Un certain nombre de cas sont inclassables en immunohistochimie, par biologie moléculaire l'étude de l'expression génique d'un panel de gènes permet de reclasser une proportion de ces cas selon leurs profils d'expression géniques (26).

### Étude mutationnelle :

Par ailleurs, les études mutationnelles par séquençage à haut débit, ou *Next Generation Sequencing* (NGS), ont participé à l'amélioration de la classification des DLBCLs en 5 à 6 sous-types (27,28) (figures 9 et 10).

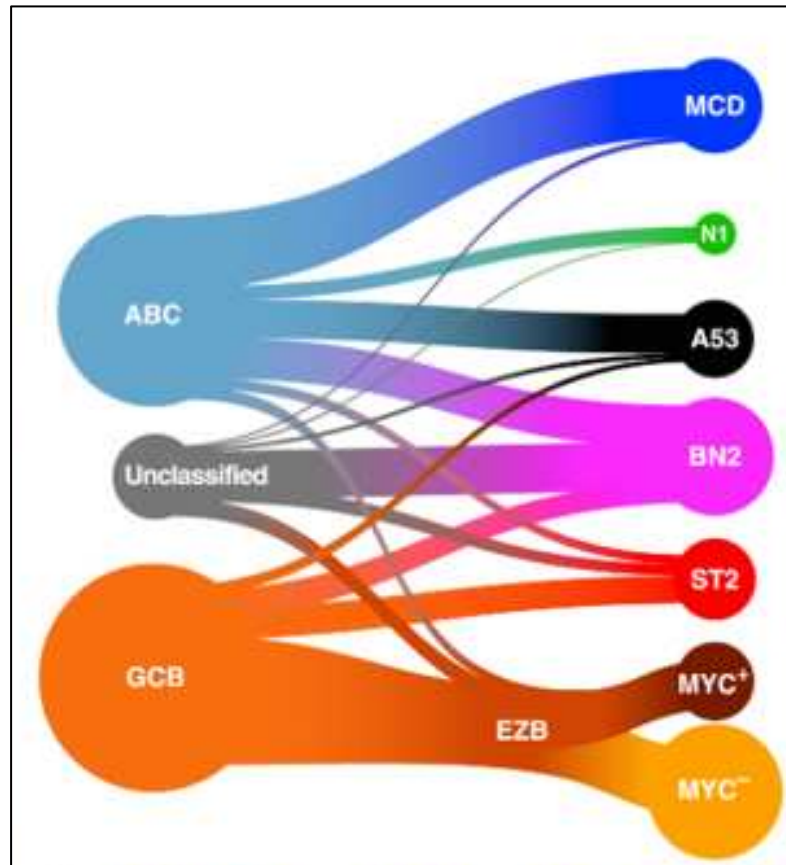


Figure 9 : Classification selon Wright (27).

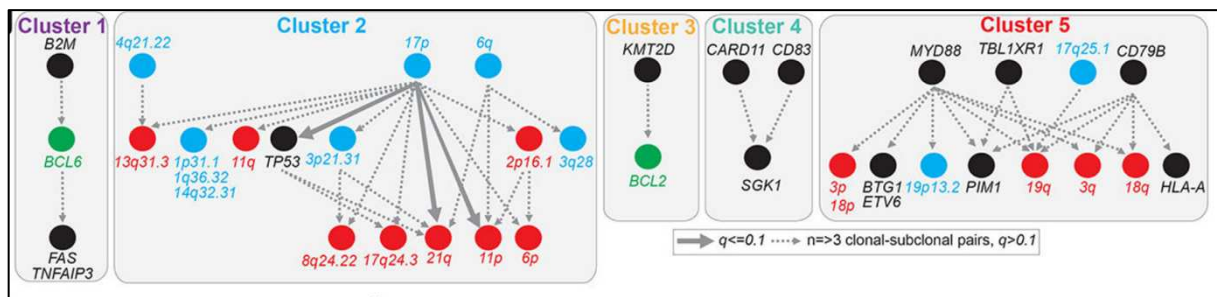


Figure 10 : Classification selon Chapuy (28).

Le sous-type GCB est caractérisé par des mutations de gènes essentiels au développement des cellules B du centre germinatif telles que *EZH2*, *KMT2D*, *PTPN1* et *CREBBP*, et par un remaniement de *BCL2* ; alors que le sous-type ABC, dérivé de cellules GC ou post-GC, dépend de la signalisation du *B-cell receptor* (BCR) et des activités de la voie *nuclear factor-kappa B* (NF-κB), il présente des mutations de *MYD88*, *CD79B* et *PIM1*, ainsi que des réarrangements *BCL6*, des mutations/délétions *PRDM1/BLIMP1*, et exprime *IRF4/MUM*.

## 10. Pronostic

D'après les dernières recommandations de la Haute Autorité de Santé (HAS) en 2021, le choix du traitement doit être basé sur une évaluation systématique des principaux critères pronostiques de la maladie. Cette évaluation a conduit à la création d'un score : le score IPI. Ce score est basé sur l'âge au diagnostic, l'évaluation de l'état général du patient selon l'échelle ECOG, le taux sanguin de LDH, le stade de la maladie selon Ann Arbor et le nombre d'atteinte extra-ganglionnaire (26). Pour les patients de moins 60 ans au moment du diagnostic, il existe le score IPI adapté à l'âge (aalPI, age adapted IPI) ne prenant en compte que le stade d'Ann Arbor, l'ECOG et le taux de LDH.

Ce score permet de classer les patients en quatre groupes de risque. Plus le score IPI est élevé, plus le pronostic est sombre, ainsi un score compris entre 0 et 1 correspond au groupe à faible risque de rechutes ou récurrences (« Low »), un score 2 constitue le groupe à risque « bas intermédiaire » (« Low intermédiaire »), un score 3 signe un groupe à risque « intermédiaire haut » (« High intermédiaire ») et un score supérieur ou égal à 4 identifie les patients de haut risque (« High ») (29) (figures 11 et 12)

| Risk Factor                               | 0 Point   | 1 Point      |
|-------------------------------------------|-----------|--------------|
| <b>IPI</b>                                |           |              |
| Age                                       | ≤60 years | >60 years    |
| Ann Arbor stage                           | I or II   | III or IV    |
| Serum LDH level                           | Normal    | Above normal |
| Number of extranodal sites of involvement | ≤1        | >1           |
| ECOG performance status                   | 0–1       | ≥2           |
|                                           |           |              |
| <b>aalPI (≤60 years or &gt;60 years)</b>  |           |              |
| Ann Arbor stage                           | I or II   | III or IV    |
| Serum LDH level                           | Normal    | Above normal |
| ECOG performance status                   | ≤1        | >1           |

Figure 11 : Score IPI d'après (29).

Le score IPI repose sur 5 items et donne un score allant de 0 à 5. Le score aalPI est adapté aux patients de moins de 60 ans et ne prend en compte que 3 des 5 items. Le score IPI reste un facteur pronostique très solide et une version révisée de l'IPI (revised-IPI) a été développée afin de l'affiner. Depuis 2007, en reprenant les mêmes variables, le r-IPI stratifie les patients en 3 groupes de risque : très bon pronostic (score 0), bon pronostic (score 1 et 2) et mauvais pronostic (score 3, 4 ou 5).

| <b>Risk group</b>   | <b>No. of IPI factors</b> | <b>% Patients</b> | <b>4-year PFS, %</b> | <b>4-year OS, %</b> |
|---------------------|---------------------------|-------------------|----------------------|---------------------|
| <b>Standard IPI</b> |                           |                   |                      |                     |
| Low                 | 0, 1                      | 28                | 85                   | 82                  |
| Low-intermediate    | 2                         | 27                | 80                   | 81                  |
| High-intermediate   | 3                         | 21                | 57                   | 49                  |
| High                | 4, 5                      | 24                | 51                   | 59                  |
| <b>Revised IPI</b>  |                           |                   |                      |                     |
| Very good           | 0                         | 10                | 94                   | 94                  |
| Good                | 1, 2                      | 45                | 80                   | 79                  |
| Poor                | 3, 4, 5                   | 45                | 53                   | 55                  |

Figure 12 : Stratification du R-IPI : 3 groupes de risque selon le score IPI (30).

Les caractérisations moléculaires approfondies par Wright et Chapuy semblent montrer un impact pronostique des sous-entités qu'ils identifient (27,28). Non utilisée aujourd'hui en pratique, ces informations ne sont pas intégrées dans les scores actuels de pronostique.

## 11. Thérapeutique

Les DLBCLs sont des lymphomes très sensibles à la chimiothérapie. Leur traitement repose sur une immunochemiothérapie associant le rituximab, un anticorps chimérique dirigé contre le CD20, à une polychimiothérapie. Les composants, les doses et les fréquences d'administration varient en fonction de facteurs pronostiques avant le traitement, ainsi que de l'âge et de l'état clinique du patient. L'immunochemiothérapie d'induction la plus couramment utilisée est appelée R-CHOP, incluant le cyclophosphamide, la doxorubicine, la vincristine, et la prednisone, en association avec le rituximab. La radiothérapie est également recommandée dans certaines situations cliniques, notamment pour les lymphomes primitifs cérébral et médiastinal (31). Le traitement diffère selon les groupes d'âge : patients de 60 ans ou moins, patients de 61 à 80 ans, et patients de plus de 80 ans, en termes de nombre de cycles et de dosages des médicaments.

Bien que l'ajout de rituximab au cyclophosphamide, à la doxorubicine, à la vincristine et à la prednisone ait amélioré la curabilité de la maladie, il reste une proportion importante de patients pour lesquels le traitement de référence est inefficace, on parle de DLBCL réfractaire

si le patient ne répond pas à la chimiothérapie, ou de DLBCL récidivant en cas de rechute après une période de rémission.

Ces dernières années, de nouvelles thérapies ont fait l'objet d'étude dans les DLBCLs. C'est le cas du bortezomib, inhibiteur du protéasome, qui empêche la dégradation de I $\kappa$ B phosphorylé conduisant à l'inhibition de l'activité de NF- $\kappa$ B dans les lignées cellulaires DLBCL ABC (32). Il a été testé en association avec une chimiothérapie à base d'anthracycline (DA-EPOCH) et les patients appartenant au sous-type ABC présentaient un taux de réponse au traitement nettement supérieure et une survie globale augmentée par rapport au sous-type GCB (33). Le légalidomide est également connu pour inhiber l'activité de NF- $\kappa$ B *in vitro*. L'utilisation de cette molécule en monothérapie a montré une activité clinique chez les patients atteints de DLBCL récidivant et réfractaire (34,35). De plus, les effets immunomodulateurs du légalidomide et l'activité clinique davantage marquée chez les patients appartenant au sous-type ABC ont permis de suggérer l'existence d'une voie ciblée par le légalidomide chez ces patients qui pourrait être la voie du facteur de régulation de la transcription *IRF4/MUM1* (20). Cependant, les multiples mécanismes d'action associés aux propriétés immunomodulatrices du légalidomide pourraient être multifactorielle (35).

L'ibrutinib, un inhibiteur oral de la tyrosine kinase de Bruton, en association avec R-CHOP, a montré un taux de réponse global nettement supérieur chez les patients appartenant au sous-type ABC que les patients GCB (32,36).

En cas de rechute, la greffe de cellules souches (1,37) ou un traitement par CAR-T cells sont des options thérapeutiques (38).

Aux Etats-Unis, des essais cliniques testent l'utilisation d'anticorps bispécifiques tels que l'epcoritamab (GEN3013, DuoBody®-CD3xCD20), actuellement en essai de phase 3 pour les patients en rechute après une deuxième ligne de traitement. Le copanlisib, un inhibiteur de PI3K, associé au venetoclax, fait également l'objet d'un essai de phase 2 aux États-Unis chez les patients en réfractaire ou en rechute.

## B. La cartographie optique du génome

### 1. Principe technique

La COG est une technique basée sur le marquage de l'ADN. Les molécules d'ADN de très haut poids moléculaire (UHMW), allant de 0,15 à 2,5 Mb, sont marquées par une enzyme (DLE-1)

qui reconnaît et appose une fluorescence sur des hexamères nucléotidiques spécifiques. Cette séquence de 6 nucléotides est présente chez tous les individus, et se répète en moyenne 15 à 17 fois par 100 kb. L'ADN marqué est chargé sur une puce qui linéarise les molécules d'ADN via une électrophorèse en nanocanaux, ces molécules marquées sont comparables à un « code-barre », qui est ensuite scanné à l'échelle du génome puis comparé au génome de référence (figure 13). La discordance du marquage entre ADN du patient et ADN du génome de référence permet d'identifier les variants structuraux et numériques.

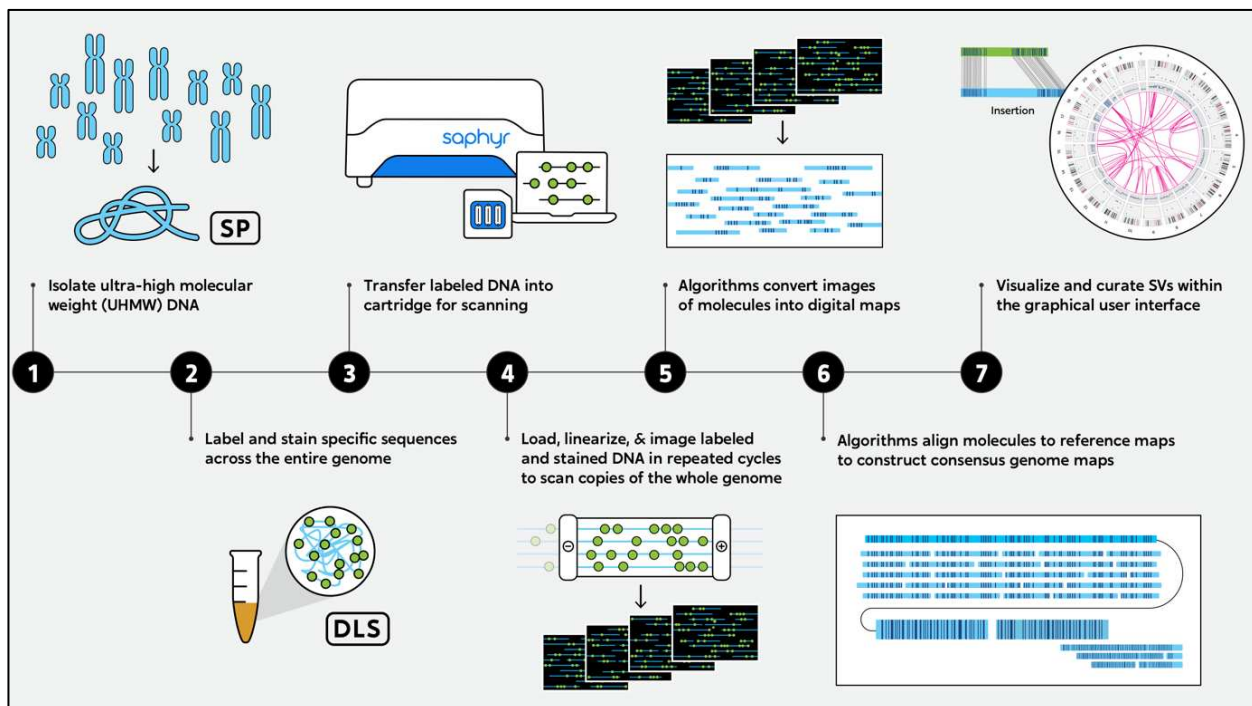


Figure 13 : Principes techniques de la COG.

**1** : Isolement de l'ADN UHMW à partir des échantillons patients. **2** : Marquage fluorescent des molécules UHMW par DLS reconnaissant un motif de séquence de 6 pb se produisant environ 15 fois par 100 kpb. **3** : Transfert de l'ADN marqué sur la puce composée de centaines de milliers de nanocanaux parallèles qui linéarisent les molécules UHMW marquées. Les nanocanaux ont une taille permettant l'analyse d'une seule molécule d'ADN linéarisée à la fois. **4** : Électrophorèse des molécules UHMW marquées de l'entrée à la sortie de la puce, permettant à chacune des molécules de se linéariser, de déplacer sans pouvoir s'emmêler ou se replier. Une fois les UHMW à l'intérieur, des images sont capturées en haute résolution. Une fois imagées, les UHMW sont rincées et le processus est répété avec de nouvelles UHMW. **5** : Conversion des images obtenues après capture par les algorithmes en fichiers moléculaires. **6** : Les algorithmes alignent les molécules obtenues avec les cartes de référence afin de construire des cartes génomiques consensuelles. **7** : Visualisation et conservation des données obtenues.

## 2. Historique

La cartographie optique a été mise au point en 1993 par Schwartz et al. (39). L'objectif était d'assembler des molécules d'ADN entre elles afin d'établir la construction d'une carte du génome de *Saccharomyces cerevisiae*, en se basant sur l'observation microscopique et l'assemblage de fragments d'ADN obtenus après leur digestion par une enzyme de restriction (39). Des développements techniques ont permis successivement d'augmenter la taille des fragments d'ADN étudiés, d'améliorer la résolution, de rendre l'acquisition des images automatiques ainsi que leur assemblage mais aussi l'utilisation d'un système électrophorétique pour générer la migration et séparation des ADN (40–43) (figure 14).

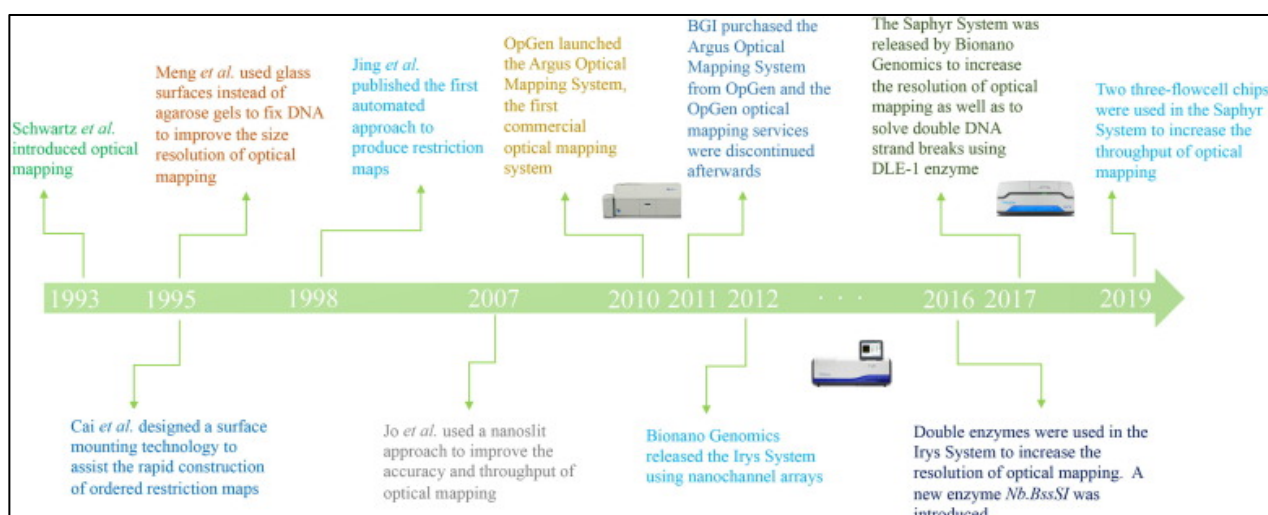


Figure 14 : Chronologie des découvertes et améliorations de la COG au cours des deux dernières décennies selon Yuxuan et al, 2020 (44).

En 2016, la première technologie de cartographie optique du génome (COG) de Bionano Genomics, le système Irys, permet la validation de l'assemblage du génome d'une plante, *Aegilops tauschii*, à partir des variations structurales (30). Bien qu'initialement appliquée aux génomes des végétaux, la cartographie optique sera ensuite étendue aux vertébrés (31).

Une première publication en 2017 met en lumière l'intérêt de la COG pour la détection des variants structuraux pathogènes ayant une utilité dans le diagnostic clinique (45). Cette étude, basée sur une cohorte de huit patients atteints de dystrophie musculaire de Duchenne, montre que la COG permet d'identifier des variations structurelles pathogènes non détectées par les techniques de séquençage sur le gène *DMD*. En effet le séquençage de l'exome a la

capacité d'identifier de manière fiable les variantes mononucléotidiques héréditaires ou *de novo*, les petites insertions et délétions. Cependant, en raison de l'utilisation de lectures de fragments de 100 à 300 pb, cette technique présente une limite dans l'identification, de manière sensible, des variantes structurales (SV) de taille intermédiaire à grande, telles que les insertions, les délétions, les duplications, les inversions et les translocations. Pour surmonter cette limite, l'utilisation de la COG a été utilisée et a permis d'identifier les SV pathogènes ainsi que leur taille variant de quelques dizaines de kilobases à plusieurs centaines de kilobases sur la cohorte étudiée. Cela suggère que la COG pourrait devenir un outil complémentaire dans les diagnostics génétiques constitutionnels et la recherche grâce à sa capacité à identifier de manière sensible de grandes variations structurales du génome.

À partir de 2018, de nombreuses publications émergent concernant la COG et son potentiel pour le diagnostic des pathologies d'origine génétique liées aux variations structurales (SV), événements génétiques associés à des phénotypes et à des pathologies spécifiques (46,47), comme l'autisme (37) ou encore les cancers (38). Les SV sont un élément clé de la variation génomique où les segments d'ADN sont dupliqués, délétés, inversés ou remaniés.

Le développement de la COG ouvre de nouvelles perspectives pour l'étude des réarrangements chromosomiques, et cette technologie pourrait devenir un outil indispensable non seulement pour la détection, mais aussi pour la compréhension des mécanismes d'altérations génomiques (48). C'est ce qui a été mis en évidence par Neveling K. et al. qui ont voulu comparer la combinaison des techniques de cytogénétique classiques, soit le caryotype, la FISH et la puce à ADN, avec la cartographie optique du génome dans une cohorte de 52 patients atteints d'hémopathies malignes (48). La COG a été en mesure d'identifier tous les SV et CNV initialement signalés au diagnostic dans des cas simples. Pour les cas complexes, il existait également une concordance très élevée avec les résultats du diagnostic, bien que les échantillons aient souvent semblé être plus complexes qu'initialement, mais dans deux cas il n'était pas observé de concordance totale, très probablement en raison d'une anomalie affectant une faible proportion des cellules. Les auteurs ont noté un avantage clé de la COG : elle a permis la détection de quasiment toutes les aberrations avec cette seule technique, chose qui n'était pas possible auparavant sans

avoir au moins un couplage du caryotype et de la FISH. De plus elle a également permis l'identification et la compréhension des réarrangements génomiques complexes.

La technologie de COG de Bionano Genomics a été par ailleurs utilisée dans d'autres domaines tel que le diagnostic génétique prénatal avec Sahajpal N. et al. (49) et dans les tumeurs solides dans l'étude de Goldrich D. et al. (50).

### 3. Implémentation en onco-hématologie

Dès 2020, des études sur la COG et son évaluation dans les hémopathies malignes ont été publiées dans la littérature, et ont montré des résultats prometteurs par rapport aux autres techniques de cytogénétique. En effet, la COG vise à surmonter les limites des techniques cytogénétiques existantes offrant une résolution plus élevée que le caryotype et la FISH, ainsi qu'une détection des anomalies chromosomiques équilibrées manquées par puce à ADN (48).

Lestringant V. et al. (51) se sont intéressés aux anomalies cytogénétiques retrouvées dans les leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL) nécessitant plusieurs techniques standard de cytogénétique afin de les mettre en évidence. En effet, la cytogénétique représente une étape indispensable lors du diagnostic ou du suivi des LAL car les anomalies détectées constituent l'un des plus puissants facteurs pronostiques, et fait partie intégrante du choix du traitement. Une étude a été menée afin de comparer les techniques standard et la COG chez 10 patients atteints de LAL B ou T. Il en a été conclu que la COG était une technique prometteuse dans la caractérisation des LAL du fait qu'elle puisse caractériser en une seule et même analyse plusieurs remaniements qui auraient pu être détectés à l'aide de plusieurs techniques. De plus, la COG est capable de détecter des événements cytogénétiques complexes, y compris ceux actuellement non visualisés ou non élucidés avec les techniques standards.

En 2022, Sahajpal, N.S. et al. (52) ont proposé une validation clinique de la COG pour les hémopathies malignes, en la comparant aux méthodes de cytogénétique standard. Les patients étaient atteints d'hémopathies comprenant la leucémie myéloïde chronique (LMC) et les autres syndrome myéloprolifératifs (SMP), les syndromes myélodysplasiques (SMD), le myélome multiple (MM), la leucémie lymphoïde chronique (LLC), les lymphomes non hodgkiniens non DLBCL, et les leucémies aiguës myéloïdes (LAM). Parmi les 166 remaniements

analysés dans cette étude, la COG a montré une sensibilité de 98,7%, une spécificité de 100%, une valeur prédictive positive de 100%, une valeur prédictive négative de 98% et une précision de 99,2%. Cela suggère que la COG permettrait d'établir un diagnostic précis, pouvant ainsi influencer la classification et le pronostic des hémopathies, ainsi que le choix du traitement.

#### 4. Intérêt et limites de l'OGM

La cartographie optique est une technologie associant une vision pangénomique du génome et une résolution à l'échelle génique non basée sur le séquençage. Elle permet, y compris sur des régions d'ADN complexes telles que les gènes des Immunoglobulines, de détecter des anomalies de structure et de nombre des chromosomes.

A la différence de la CGH et de la SNP-array, elle permet l'identification des remaniements interchromosomiques équilibrés et déséquilibrés.

Sa haute résolution permet d'identifier des remaniements cryptiques, de préciser des anomalies et des remaniements complexes survenant fréquemment dans les cellules cancéreuses. Les chromosomes marqueurs, souvent décrit par le caryotype dans les hémopathies, peuvent ainsi être caractérisés.

Elle peut être effectuée à partir d'une quantité moindre de cellules, 1,5 millions, comparativement au caryotype et pallier aux échecs de culture.

L'analyse bénéficie d'une sensibilité importante : les variants structuraux peuvent être détectés à une VAF de 5%, les variations de nombre de copies une VAF de 10% à une profondeur de 300X (données *in silico*). Il en découle la difficulté de détecter des sous-clones faibles (<10% des cellules). Les régions centromériques et télomériques sont mal couvertes par la technique. Cette technique ne permet pas définir l'architecture clonale, les anomalies étant détectées de manière globale sur la population cellulaire extraite.

## II. OBJECTIF

La cartographie optique du génome (COG) est une technologie innovante de cytogénétique permettant la détection pangénomique en une étape et sans a priori des variants structuraux et numériques de l'ADN humain. De plus, sa résolution bien supérieure au caryotype permet l'identification à l'échelle génique des remaniements. Au cours des cinq dernières années, la COG a été explorée dans plusieurs hémopathies malignes, notamment les LAM, SMD, LAL, la LLC et le MM (53,54), cependant les études portant sur l'utilisation de la COG dans les DLBCL restent encore très limitées.

La cytogénétique des DLBCLs et des lymphomes B agressifs est intégrée à la classification OMS depuis 2016, la présence ou l'absence de remaniement aux *loci* des oncogènes *MYC*, *BCL2* et *BCL6* sont systématiquement recherchés au diagnostic. Les outils actuels de cytogénétique, le caryotype et la FISH, permettent leur détection, toutefois, ces techniques s'effectuent en deux temps et ne sont pas exhaustives en raison de la diversité des mécanismes génétiques et de la variabilité des points de cassure chromosomique. Par ailleurs, les cellules lymphomateuses présentent fréquemment un caryotype complexe où les méthodes actuelles peinent à caractériser finement l'ensemble des remaniements. Ces anomalies sont très diverses et peuvent être récurrentes dans la pathologie et dans les hémopathies lymphoïdes de manière plus générale, elles permettent dans certains cas de préciser l'origine cellulaire de la pathologie ou d'apporter une valeur pronostique.

Dans ce contexte, nous avons souhaité évaluer la cartographie optique du génome par rapport aux outils de caryotype et FISH sur une série d'échantillons pour lesquels un diagnostic de DLBCL ou de lymphome B agressif a été retenu, et dans un second temps, s'intéresser à l'apport que cette technologie représente dans la caractérisation cytogénétique des cellules tumorales.

### III. MATERIEL ET METHODES

#### A. Sélection des échantillons et caractéristiques de la cohorte

Un total de quinze échantillons a été sélectionné pour lesquels le diagnostic de DLBCL (n=13) ou de lymphome B agressif (n=2) avait été porté. L'âge moyen des patients était de 62,6 ans, avec une majorité d'hommes (10 hommes pour 5 femmes). Tous ces échantillons avaient été reçu et analysé en cytogénétique au laboratoire du CHU de Lille. Les diagnostics ont été établis entre le 11/01/2024 et le 12/09/2024, il s'agissait pour 73% des cas d'un lymphome de survenue initiale « *de novo* » (n=11) ou secondaire, consécutif à un lymphome indolent connu, pour 27% des patients (n=4). Un échantillon infiltré en cellules tumorales avait été reçu en cytogénétique, il s'agissait dans 60% des cas d'un prélèvement ganglionnaire (n=9), dans 13% des cas d'une biopsie tissulaire (n=2), dans 7% des cas d'une aspiration médullaire (n=1), et dans 20% des cas d'un échantillon sanguin (n=3) (tableau 1)

| Patient | Âge au diagnostic | Sexe | Diagnostic anatomopathologique (selon OMS 2016) ou cytologique (*)                 | Type d'échantillon |
|---------|-------------------|------|------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|
| 1       | 52                | H    | DLBCL-GC                                                                           | Ganglion           |
| 2       | 74                | H    | DLBCL-GC                                                                           | Ganglion           |
| 3       | 76                | F    | DLBCL-GC secondaire à LF reclassé en HGBL double hit ( <i>MYC</i> et <i>BCL2</i> ) | Ganglion           |
| 4       | 64                | F    | LZM transformé en DLBCL                                                            | Ganglion           |
| 5       | 52                | F    | DLBCL EBV+ NOS                                                                     | Ganglion           |
| 6       | 54                | H    | Lymphome de Burkitt*                                                               | Sang               |
| 7       | 52                | H    | DLBCL double hit ( <i>MYC</i> et <i>BCL6</i> )                                     | Moelle             |
| 8       | 59                | H    | DLBCL-GC                                                                           | Ganglion           |
| 9       | 50                | H    | DLBCL non GC                                                                       | Tissu abdominal    |
| 10      | 73                | F    | DLBCL/HGBL triple hit secondaire à LF                                              | Sang               |
| 11      | 66                | F    | DLBCL-GC                                                                           | Tissu colique      |
| 12      | 52                | H    | DLBCL non GC                                                                       | Ganglion           |
| 13      | 73                | H    | DLBCL NOS                                                                          | Ganglion           |
| 14      | 73                | H    | LZM transformé en DLBCL                                                            | Ganglion           |
| 15      | 69                | H    | SLP-B Matutes = 2 ou LAL-B IV (EGIL)                                               | Sang               |

Tableau 1 : Caractéristiques de la cohorte.

Les données cliniques, anatomopathologiques et biologiques ont été répertoriées pour chacun des échantillons (ANNEXE 1).

## B. Caryotype

Les caryotypes ont été réalisés au laboratoire du CHU de Lille, il s'agit d'une technique permettant l'obtention de métaphases microscopiquement analysables suite à la division cellulaire. Le caryotype permet la détection d'anomalie chromosomique structurale ou numérique, sa résolution est de 5 à 10 Mégabases.

Les étapes techniques nécessaires à l'analyse sont la numération de l'échantillon, la mise en culture des prélèvements, l'arrêt de culture par ajout de colchicine, le choc-fixation par ajout de KCl puis de fixateur, l'étalement, la dénaturation et la coloration des lames, la capture des métaphases au microscope puis le classement en caryotype d'un minimum de 20 métaphases (figure 15).

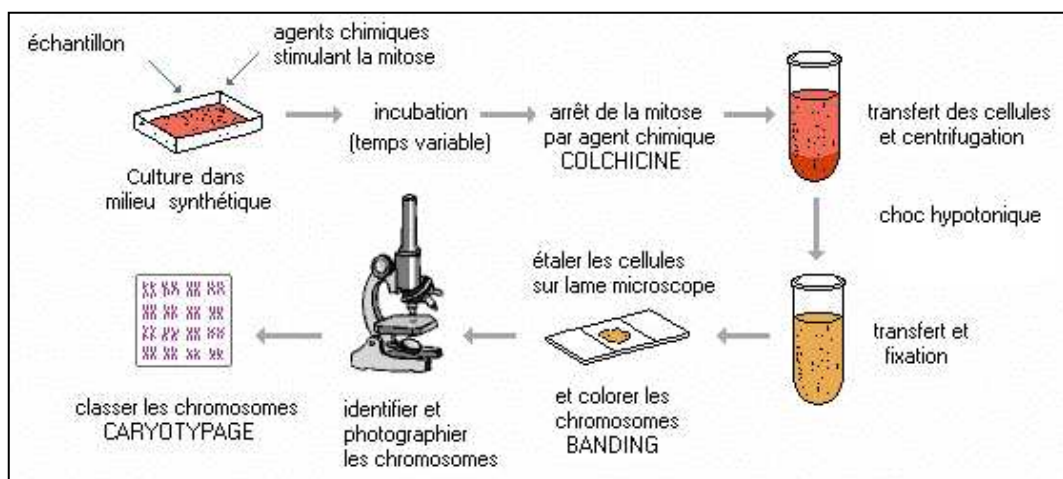


Figure 15 : Étapes techniques de réalisation d'un caryotype

La numération des prélèvements liquides (sang et moelle) en tube hépariné ou suspensions cellulaires obtenues après dilacération des ganglions est réalisée sur l'automate ABX MICROS ES 60. Les conditions de culture réalisées pour les indications de lymphomes B agressifs sont 24h avec colchicine et 72h en présence d'ampli-B (mélange d'interleukines favorables à la stimulation de la division des LB matures). L'arrêt des cultures se fait par ajout de colchicine pendant 30 minutes. Un choc hypotonique est réalisé sur les suspensions cellulaires (KCL 0.075M) pour permettre l'éclatement des membranes plasmiques des cellules, puis la

suspension cellulaire est mélangée à du fixateur (mélange de méthanol et acide acétique) afin de conserver les ADNs dans leur état interphasique ou métaphasique, ces étapes sont associées à plusieurs centrifugation et élimination du surnageant afin d'éliminer les débris. Le culot cellulaire est ensuite étalé dans des conditions de température et d'hygrométrie contrôlée. Après une étape de vieillissement des lames, les préparations sont dénaturées par une enzyme, la trypsine, et colorée au Giemsa permettant l'apparition du banding, bandes transversales le long des chromosomes aidant à leur identification. Cette méthode de dénaturation permet l'obtention de bandes GTG. Les lames sont passées dans le GSL120, un microscope automatisé, qui reconnaît et capture les métaphases. Le logiciel Cytovision de Leica® est utilisé pour le classement et le découpage informatique des métaphases.

Un nombre de 20 métaphases par dossier est généralement réalisé. Selon le Guide des Bonnes Pratiques de Cytogénétique Onco-hématologique, la clonalité d'une anomalie de structure ou d'un gain chromosomique est affirmé par la présence d'au moins 2 métaphases porteuses de cette anomalie, tandis qu'une monosomie pourra être rapportée si présente dans plus de 3 métaphases. Les clones anormaux et leur formule chromosomique sont établis selon la nomenclature internationale, l'ISCN, dans sa version la plus récente.

### C. FISH

La FISH est une technique permettant la détection d'anomalie de taille inférieure au caryotype, telle que des délétions, des gains, ou la recherche de l'implication d'un gène ou d'un locus dans un remaniement. C'est une technique ciblée qui permet également la détection d'anomalies cryptiques au caryotype en utilisant des séquences nucléotidiques fluorescentes et spécifiques d'un locus d'ADN. Sa résolution est de l'ordre de 200 à 300 kilobases.

Les analyses de FISH sont réalisées à partir des culots cytogénétiques. La suspension cellulaire est étalée sur une lame puis, celle-ci est lavée au 2xSSC puis déshydratée dans 3 bains d'éthanol (75%, 85%, 95%). Un petit volume 5µL ou 10µL de sonde fluorescente commerciale est apposé sur la préparation puis scellée entre lame et lamelle afin de garantir l'étanchéité pendant une nuit d'hybridation (72°C dénaturation 2 minutes, 37°C pendant une nuit). Un lavage de la lame est effectué afin de défaire les hybridations non spécifiques. Une contre-coloration au DAPI, agent fluorescent intercalant de l'ADN, est effectuée. La lecture des lames

est réalisée en technique automatique sur le GSL120, ou peut être faite manuellement sur un microscope à fluorescence.

La FISH interphasique désigne la lecture des signaux sur les cellules dont la chromatine est décondensée (noyaux) tandis que la FISH métaphasique correspond à la lecture des signaux sur des métaphases (chromatine condensée).

Pour ce travail, des sondes break-apart et double couleur-double fusion ont été utilisées, ces appellations correspondent au design des fluorochromes (Figures 16, 17, 18).

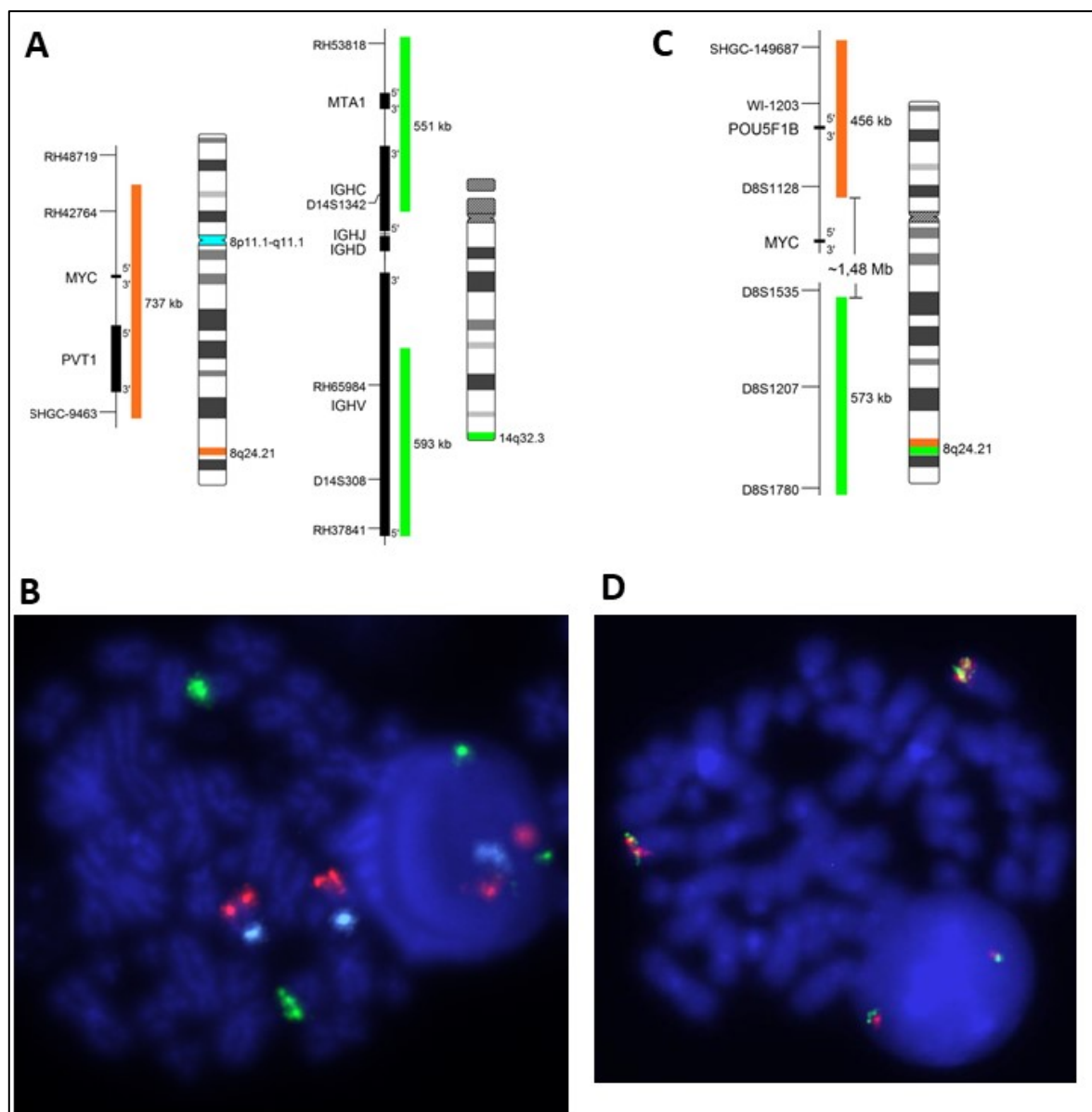


Figure 16 : Sondes Metasystems pour exploration d'un remaniement de *MYC*.

**A** : Sonde XL t(8;14) MYC/IGH/8cen (Metasystems). **B** : illustration d'un résultat sans anomalie avec la sonde XL t(8;14) MYC/IGH/8cen (Metasystems). **C** : Sonde XL MYC BA (Metasystems). **D** : illustration d'un résultat sans anomalie avec la sonde XL MYC BA (Metasystems).

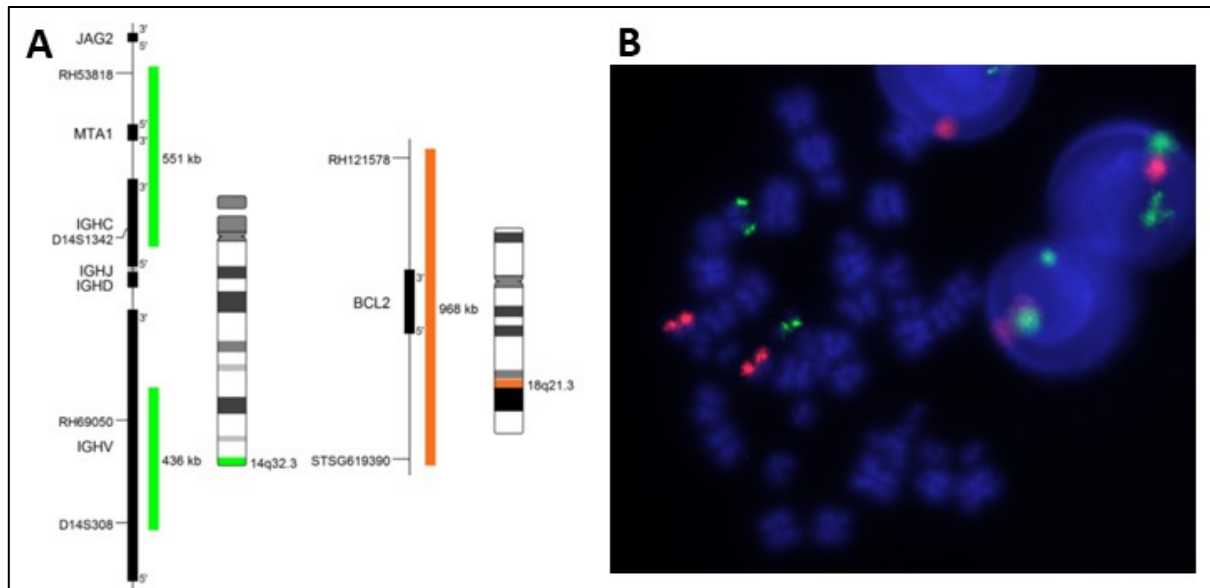


Figure 17 : **A** : Sonde XL t(14;18) IGH/BCL2 DF (Metasystems). **B** : signaux observés sur une métaphase sans anomalie.

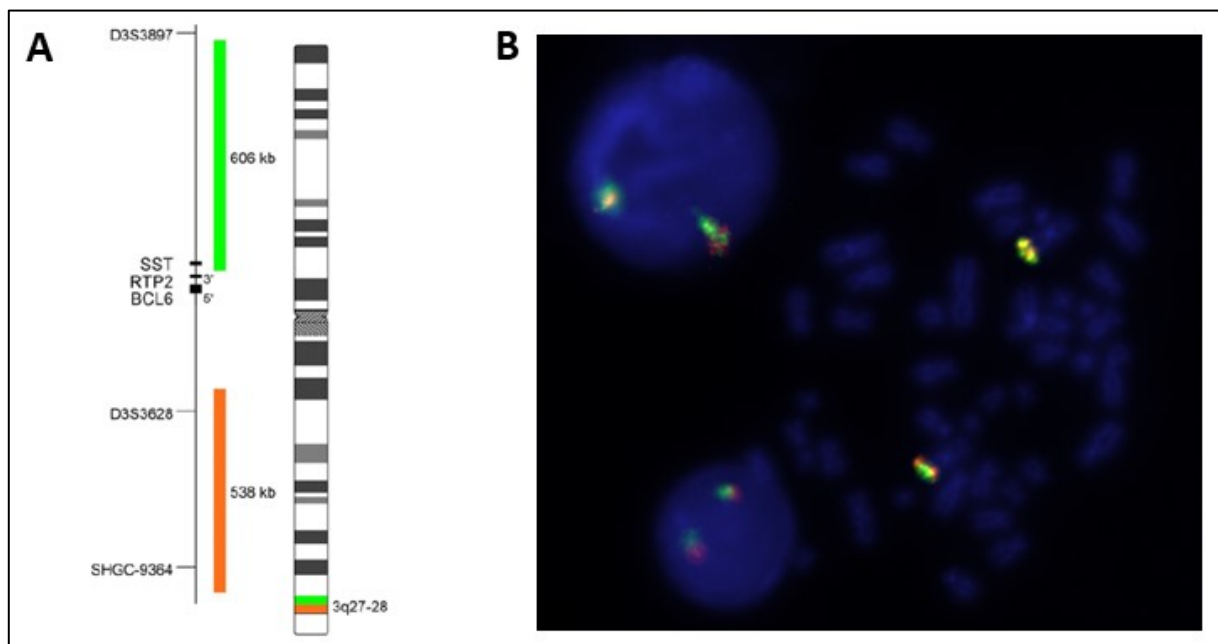


Figure 18 : **A** : Sonde XL BCL6 BA (Metasystems) **B** : signaux observés sur une métaphase et noyaux sans anomalie.

## D. Préparation des échantillons pour la COG

La Cartographie Optique du Génome a été réalisée par la technique de Bionano Genomics utilisant les kits d'extraction et marquage recommandé par le fournisseur, l'acquisition des données a été réalisée à partir de l'outil Saphyr puis les données ont été interprétées sur l'interface Bionano Access (figure 19).

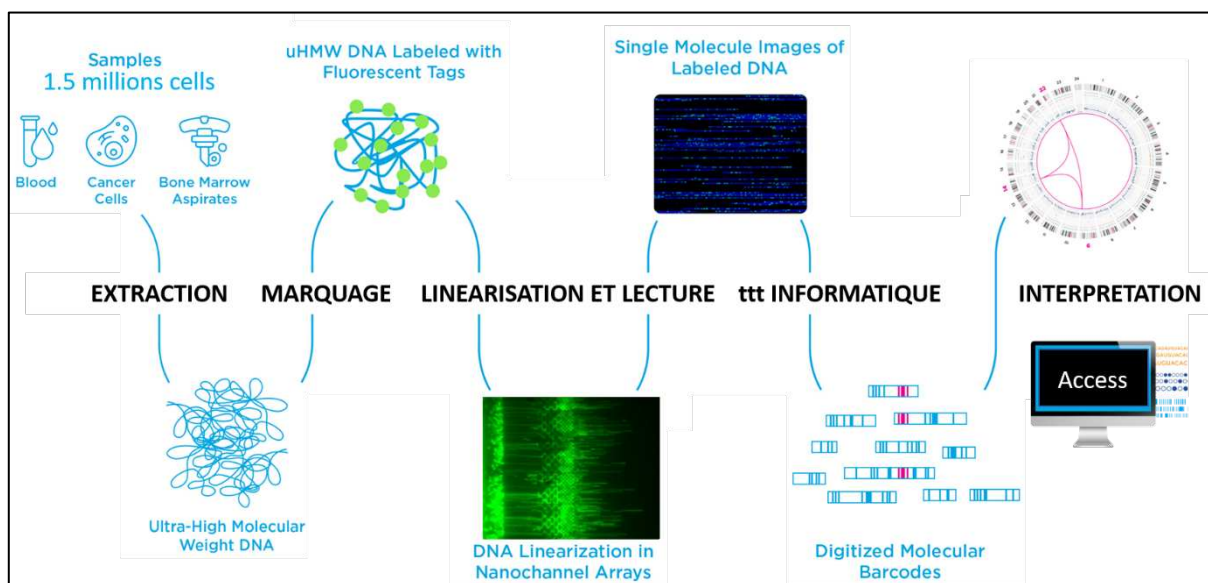


Figure 19 : Ensemble des étapes techniques permettant d'obtenir la cartographie optique du génome

### 1. Préparation des échantillons

A partir des numérations réalisées sur les échantillons de moelles, sangs, ou ganglions/tissus, un volume correspondant à 1,5 millions des cellules est conservé. Un volume d'EDTA y est ajouté, afin de préserver l'ADN. Les échantillons sont ensuite stockés à -80°C jusqu'à leur décongélation en vue de l'extraction. Les échantillons doivent être congelés dans un délai de 5 jours après le prélèvement s'ils sont conservés à +4°C, ou dans les 66 heures s'ils sont maintenus à température ambiante.

### 2. Extraction UHMW

L'extraction d'ADN est effectuée conformément au protocole d'extraction du fournisseur Bionano Prep SP-G2.

La décongélation des prélèvements s'effectue dans un bain-marie à 37°C. Les échantillons sont ensuite rincés avec une solution tampon contenant un stabilisateur d'ADN, puis subissent une lyse, l'ADN sera ensuite précipité par ajout d'une solution d'isopropanol et récupérer sur un disque magnétique contenant de la silice. Les molécules d'ADN extraites sont de haut poids moléculaire, une nuit à température ambiante est nécessaire pour homogénéiser cette solution. Un dosage d'ADN est ensuite réalisé en triplicat, la concentration doit être comprise entre 38,5 et 150 ng/μL et le coefficient de variation (CV) des trois valeurs doit être inférieur à 30%. Si toutes ces conditions sont correctes l'ADN peut être marqué puis conservés à +4°C dans une solution tampon. Si le CV est supérieur à 30% alors un temps supplémentaire est requis pour l'homogénéisation. Si concentration est supérieure à 150 ng/μL il sera nécessaire de diluer l'échantillon. En cas de concentration d'ADN inférieure à 38,5 ng/μL, une nouvelle extraction doit être envisagée.

### 3. Marquage des molécules d'ADN

L'étape de marquage de l'ADN est effectuée selon les recommandations du protocole du fournisseur Bionano Prep DLS-G2 Protocol (Bionano Genomics®).

Le marquage est réalisé sur 750ng d'ADN, il comporte deux étapes. La première est une étape de marquage spécifique d'un motif de l'ADN par l'enzyme DLE-1. La DLE-1 reconnaît spécifiquement un hexamère nucléotidique, présent environ 15 fois par 100 kbp dans le génome humain, auquel elle appose une fluorescence verte. La deuxième étape est une contre-coloration de l'ADN (par du DNA stain) qui permet de colorer le squelette d'ADN en bleu. Un dosage de l'ADN en duplicat est réalisé à la fin de cette deuxième étape. La concentration doit être comprise entre 4 et 12 ng/μL et le coefficient de variation (CV) doit être inférieur à 30%.

Si ces conditions sont correctes la suspension d'ADN marquée peut être déposée sur la puce puis dans le Saphyr ou conservées à +4°C. Si le CV est supérieur à 30% il est nécessaire d'attendre que l'ADN s'homogénéise. Si la concentration est supérieure à 12 ng/μL, l'échantillon devra être dilué, et si la concentration est inférieure à 4 ng/μL il s'agit d'un échec.

#### 4. Passage sur le Saphyr

Les échantillons sont déposés sur une puce composée notamment de nanocanaux, l'outil Saphyr applique un champ électrique au travers de la puce (électrophorèse) afin de faire migrer les molécules d'ADN dans le système, permettant ainsi de les linéariser. Des images des molécules fluorescentes individualisées par les canaux sont capturées au fur et à mesure des migrations dans la puce. Les images des molécules d'ADN sont converties en molécules numériques, puis analysées.



Figure 20 : Automate Saphyr Bionano Genomics®

La qualité d'acquisition des données est consultable tout au long du cycle sur Bionano Access. Le temps d'acquisition peut durer jusqu'à 72h, en moyenne, un échantillon de bonne qualité est acquis en 24h. A l'issue de cette acquisition des données de qualité sont accessibles, il s'agit des données analytiques.

## E. Analyse OGM : Pipeline et filtres utilisés

### 1. Algorithme de traitement des données

A partir de Bionano Access, l'interface fournie par Bionano Genomics, deux algorithmes bioinformatiques peuvent être appliqués aux données : le « *rare variant pipeline* » et l'assemblage *de novo* « *de novo assembly* ».

Le Rare Variant Pipeline (RVP) est élaboré pour détecter des variants à de faibles fréquences alléliques, prévalents dans des échantillons hétérogènes tels que les cancers ou les échantillons présentant un mosaïcisme génétique. Il compare individuellement les molécules génomiques du patient au génome de référence, cet algorithme est l'algorithme à privilégier pour la détection des anomalies somatiques pouvant par définition être présentes dans une fraction de cellules de l'échantillon.

L'assemblage *de novo* génère d'abord une reconstruction globale du génome du patient en assemblant les unes aux autres les molécules du patient entre elles, puis compare cette construction génomique au génome de référence. Il présente une sensibilité moindre pour les événements présents à faible fréquence dans l'échantillon mais permet une détection de variants structuraux plus petits, d'environ 500 pb, par rapport au RVP.

### 2. Détection des variants structuraux et des variants de nombre de copies

La technologie de cartographie optique du génome de Bionano Genomics permet la détection des variants structuraux par comparaison au génome de référence.

Sur le logiciel Bionano Access, le génome de référence est représenté en vert sur les visuels de l'interface, les traits verticaux représentent le marquage de l'ADN par l'enzyme ([figure 21](#)). Un gain ou un manque de marquages fluorescents sur l'ADN du patient, représenté en bleu, sera traduit comme une duplication ou une délétion respectivement. De la même manière, un changement de l'orientation des marquages sur une région génomique sera perçu comme une inversion, ou encore la présence en continuité de marquages appartenant à des régions d'ADN différentes comme une translocation ([figure 21](#)).

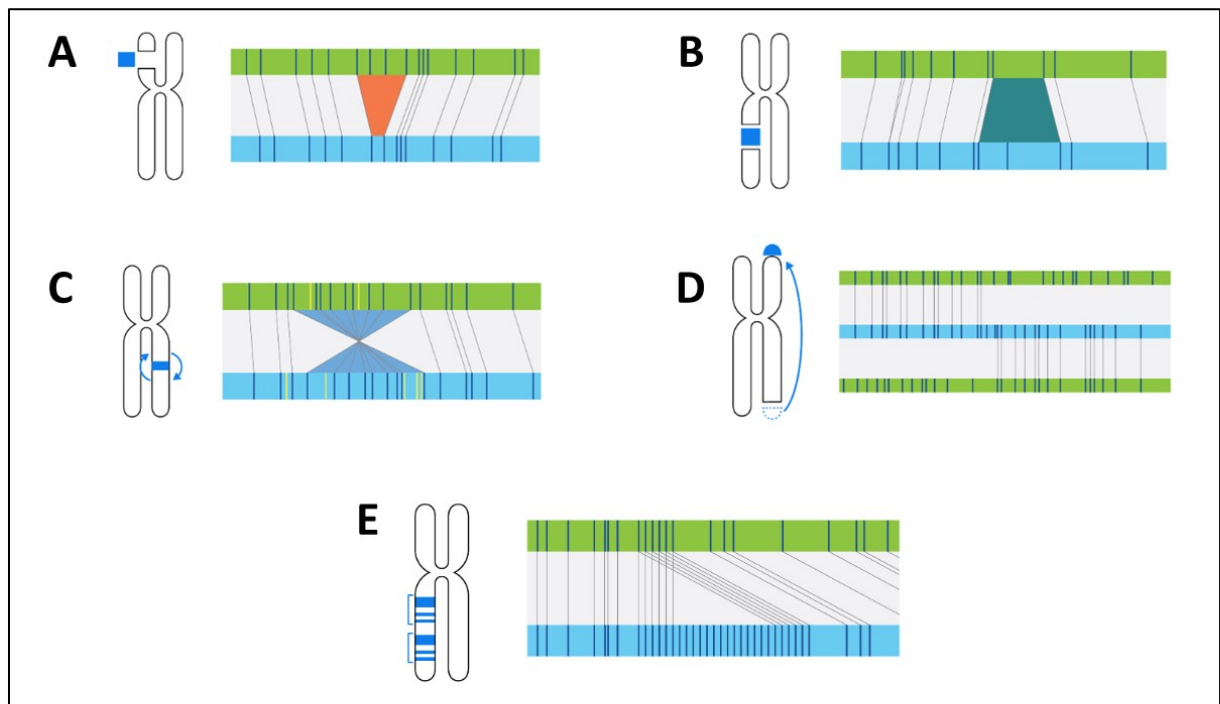


Figure 21 : Visualisation des variants structuraux par la technologie Bionano.

A : Délétion. B : Insertion. C : Inversion. D : Translocation. E : Duplication.

Les duplications, les translocations et les inversions doivent être suffisamment grande, minimum 5 000 Bp. La sensibilité de détection de ces anomalies a été évaluée par Bionano Genomics ([figure 22](#)) sur données simulées et données réelles.

Pour une couverture du génome de 300X, l'utilisation du pipeline Rare Variant Pipeline (RVP) identifie sur données simulées au moins 90% des insertions entre 5 et 50 kbp, des délétions de plus de 7 kbp, des translocations impliquant des fragments d'au moins 70 kbp, des inversions de plus de 70 kbp et les duplications de plus de 150 kbp (55).

Sur des données réelles issues d'un mix d'échantillons de cancers établi en différente proportion la technologie montre une sensibilité de plus de 95% pour les délétions >5 kbp, les duplications >150 kbp, les insertions >5-250 kbp et de plus de 90% pour les inversions >100 kbp et les translocations présentes à une VAF supérieure ou égale à 10% ([figure 23](#)).

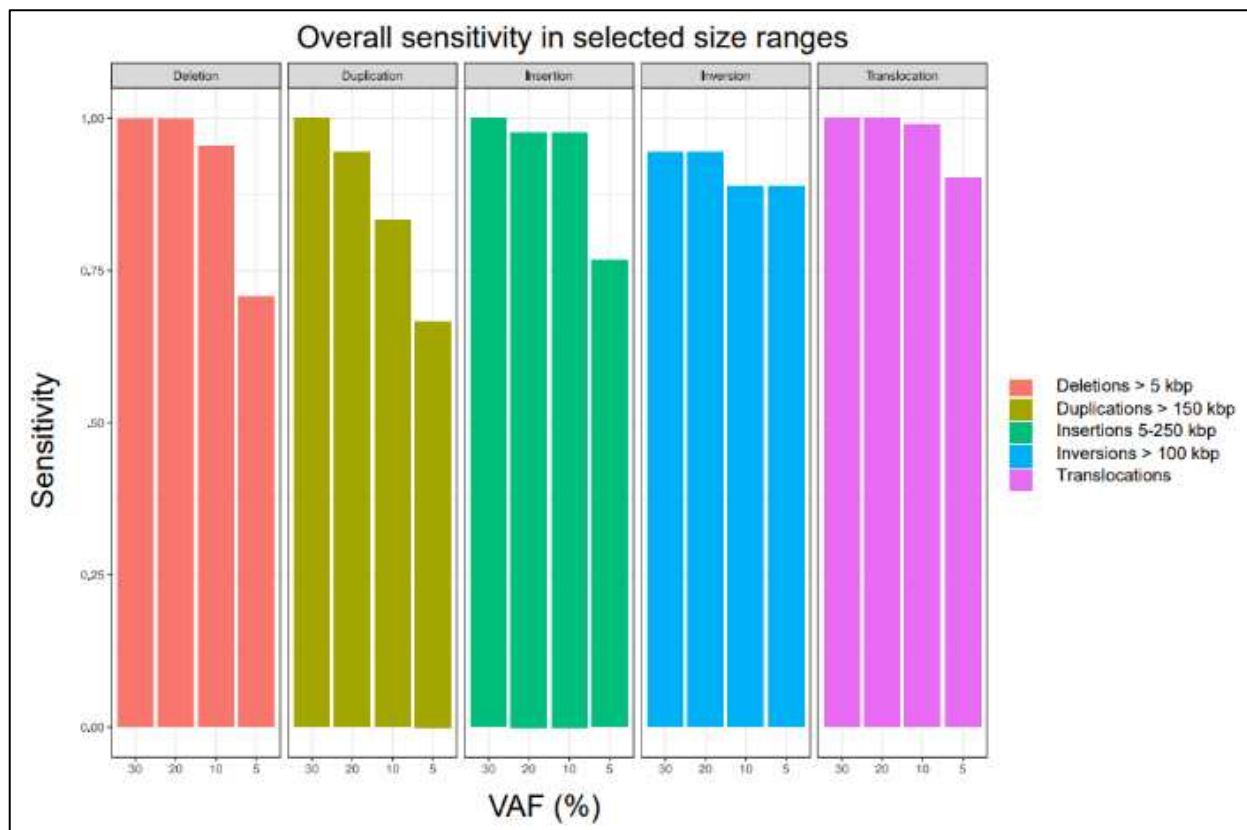


Figure 22 : Performances de sensibilité pour la détection des variants structuraux évaluées par Bionano Genomics sur données réelles.

Concernant la détection des variants de nombre de copies, Bionano Genomics à une sensibilité de 100% pour des gains ou des pertes de plus de 400 kbp présent à une VAF de 30% selon les données établies sur données simulées (couverture 300X, pipeline RVP) (figure 23) (55).

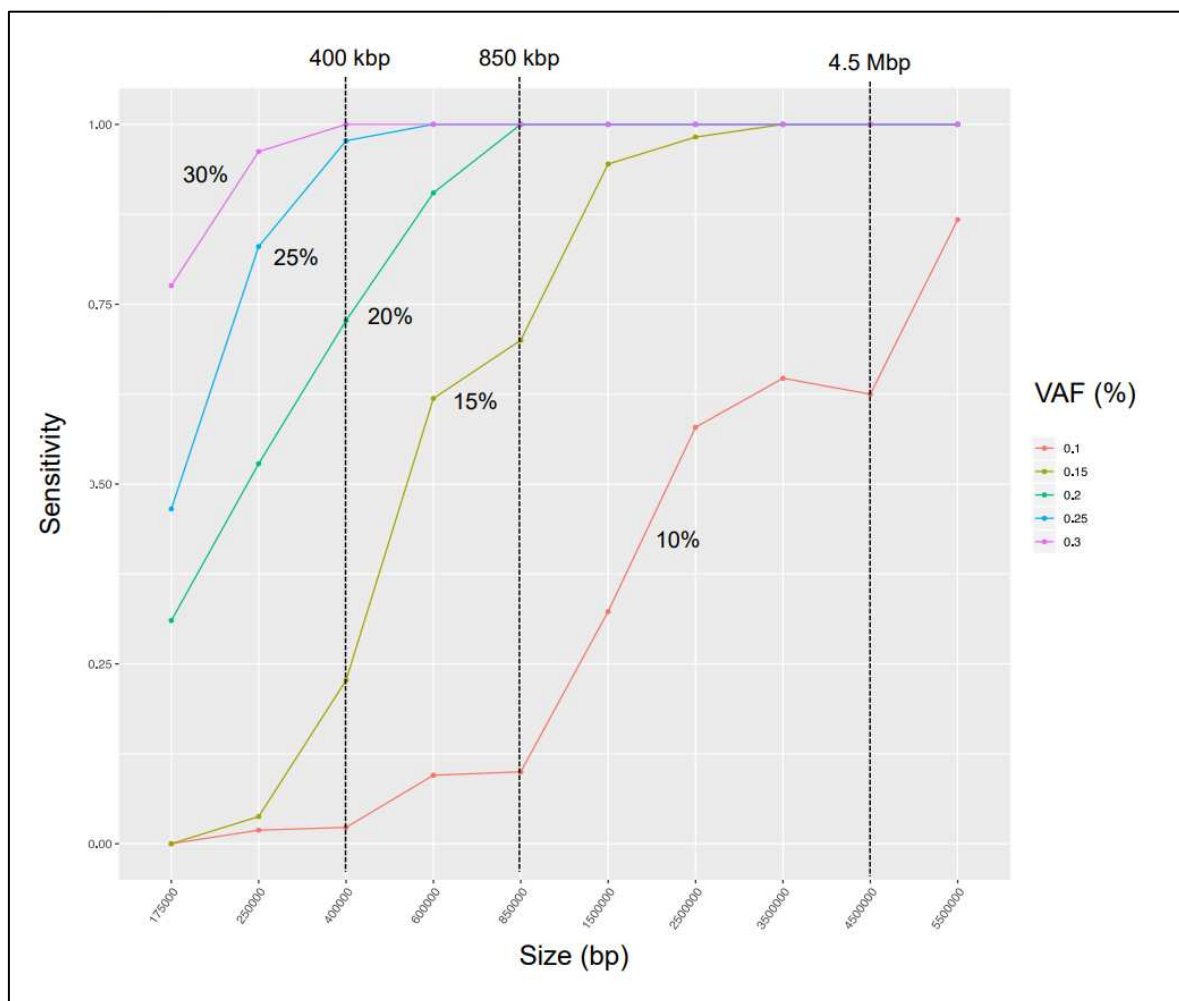


Figure 23 : Sensibilité de détection de variants de nombre de copies établis par Bionano Genomics sur données simulées en couverture 300X.

### 3. Évaluation des critères de qualité

La qualité des échantillons est évaluée en intégrant à la fois des critères analytiques (acquisition des données) et post-analytiques (après algorithme et alignement au génome de référence) établis à partir des recommandations de Bionano Genomics et selon le travail récent de Brynn Levy publié en 2023 (56). Ces critères sont recensés dans le [tableau 2](#).

|                  | Critères                       | Limite         |
|------------------|--------------------------------|----------------|
| Analytiques      | Moyenne N50 $\geq 150$ kbp     | $\geq 230$ kbp |
|                  | Moyenne N50 $\geq 20$ kbp      | $\geq 150$ kbp |
|                  | Moyenne taux d'alignement (%)  | $\geq 70\%$    |
|                  | Effective coverage             | $\geq 340X$    |
| Post-analytiques | Sexe                           | Concordant     |
|                  | Couverture post-analyse (X)    | $\geq 300X$    |
|                  | Percent above expected         | $\leq +20$     |
|                  | Correlation with label density | $\leq 0,25$    |

Tableau 2 : Critères de qualité de la COG d'après Brynn Levy et al. (56).

Un niveau de qualité est établi pour chaque échantillon afin de pouvoir procéder à l'interprétation de la cartographie optique (tableau 3).

| Niveau de qualité      | Définition                                                                                                                                                                                         |
|------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Échec technique        | Échantillon qui ne serait pas parvenu à l'étape du dépôt sur la puce : l'ADN est en concentration trop faible ou le marquage n'est pas satisfaisant                                                |
| Échec analytique       | Échantillon n'ayant pas acquis des données qualitativement suffisantes : deux mesures analytiques ou post-analytiques, ou plus, sont en dehors des valeurs recommandées (avec plus de 10% d'écart) |
| Qualité sous-optimale  | Un ou plusieurs paramètres sont en dehors des valeurs recommandées dans un intervalle de 10%, ou un seul paramètre a une valeur en dehors de la recommandation avec plus de 10% d'écart            |
| Qualité quasi-optimale | Un paramètre est en dehors de la valeur recommandée, à moins de 10% d'écart                                                                                                                        |
| Qualité optimale       | Tous les paramètres sont conformes aux normes recommandées                                                                                                                                         |

Tableau 3 : Les cinq niveaux de qualité pouvant être attribués à un échantillon selon Brynn L. et al (56).

#### 4. Logiciel Bionano Access

Bionano Access est le logiciel d'analyse permettant la visualisation des anomalies. Il permet d'obtenir trois types de vue :

- Un **Circos Plot** qui résume schématiquement les chromosomes, ainsi que les variants numériques et structuraux détectés (figure 24).

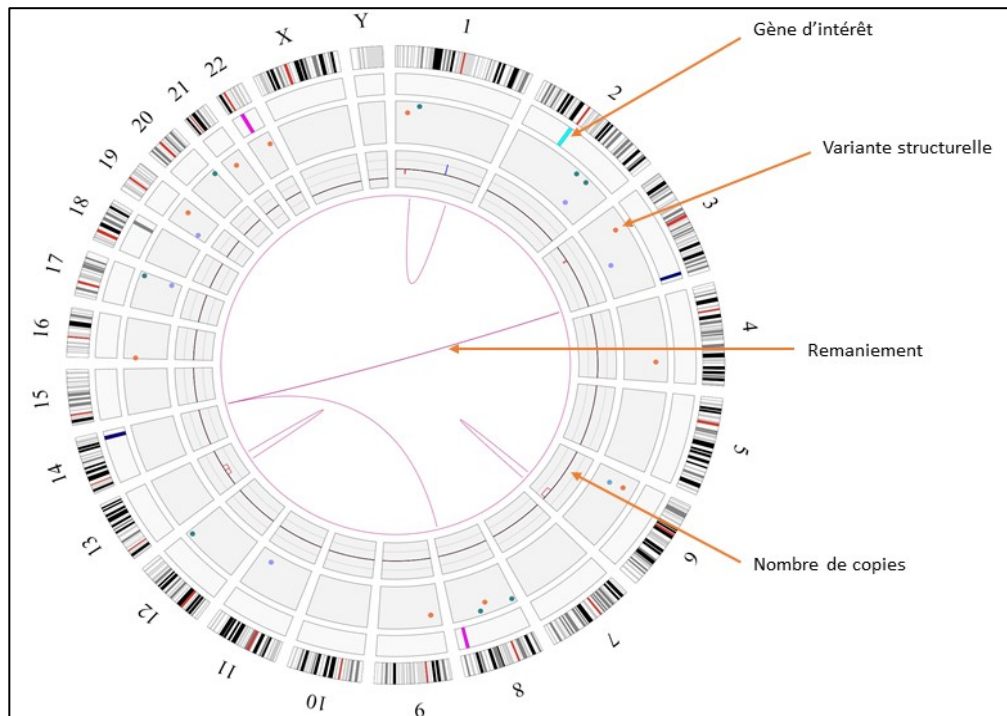
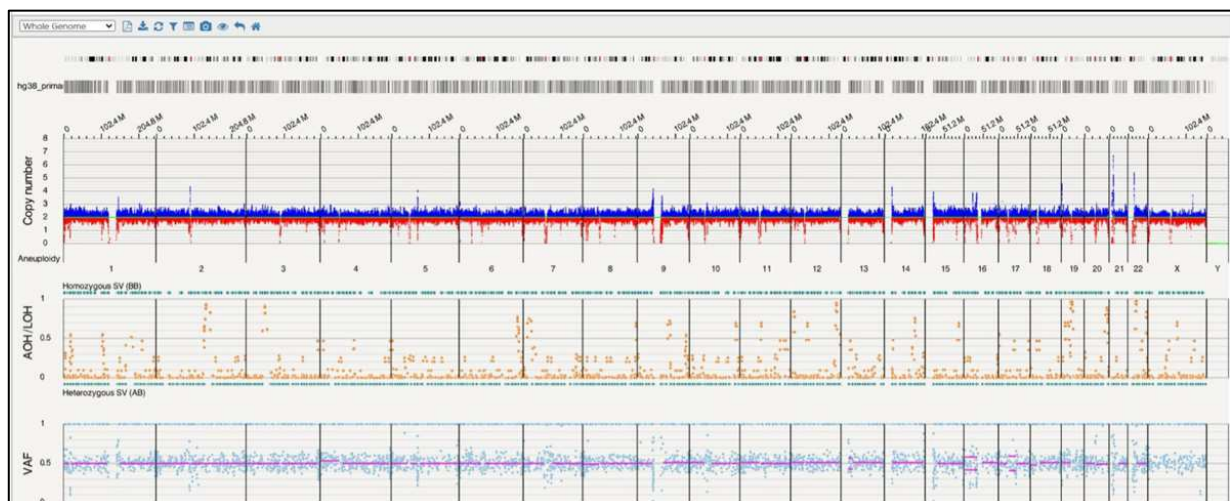


Figure 24 : Le Circosplot permet d'obtenir un résumé du génome entier des variants détectés.

On y observe le nombre de copies (CN), régions de perte d'hétérozygotie et profil de la fraction allélique des variants. Le Circosplot affiche également les numéros de chromosome, les cytobandes, l'emplacement des gènes.

- **L'interface « Whole Genome »** : elle permet une visualisation de la ploïdie et de l'hétérozygotie des chromosomes (figure 25).



Visualizing Different Classes of Structural Variants in Bionano Access Software, Whole Genome Interface, CG-30548

Figure 25 : Interface « Whole Genome ».

Cette vue met en évidence le nombre de copies de chromosomes centré autour d'une ligne de base CN=2. Le graphique du milieu montre l'état d'hétérozygotie des SV et des données AOH/LOH. Le dernier graphique, en bas, montre la fraction d'allèles variante (VAF) pour chaque SV.

- L'interface **Genome Browser** est un outil de visualisation des anomalies par chromosome ou régions génomique de manière plus précise (figure 26).



Figure 26 : Genome Browser Interface, pipeline RVA.

Les molécules (rectangles bleus) sont alignées au génome de référence (jaune), lorsqu'un variant de structure est détecté le rectangle apparaît sous la région chromosomique. Pour un *locus* d'intérêt l'interface Genome Browser permet de visualiser cette région et les anomalies structurales qui y auraient été détectées.

## 5. Choix des filtres d'analyses

Les variants structuraux et anomalies numériques détectées retenus pour l'interprétation satisfaisaient les scores de confiance recommandés par Bionano Genomics, les polymorphismes étaient exclus et les variants structuraux devaient être vus sur un minimum de 5 molécules. La taille minimale des anomalies de gain ou perte chromosomique statistique en nombre de copie était de 500 kbp. Ces filtres ont été choisis d'après notre expérience de Bionano ainsi que la littérature (56).

## 6. Analyse des profils de cartographie optique

La COG génère la détection de nombreuses anomalies cytogénomiques : nous avons choisi pour faciliter la comparaison de méthodes entre la COG et les données caryotype/FISH de nous limiter dans un premier temps à l'évaluation des remaniements aux *loci* *BCL2*, *BCL6* et *MYC* et *IGH*, *IGK* et *IGL*. Un fichier .bed a été construit : il correspond à une liste des régions génomiques d'intérêt et peut être incorporer à l'interface Bionano Access ([figure 27](#)).

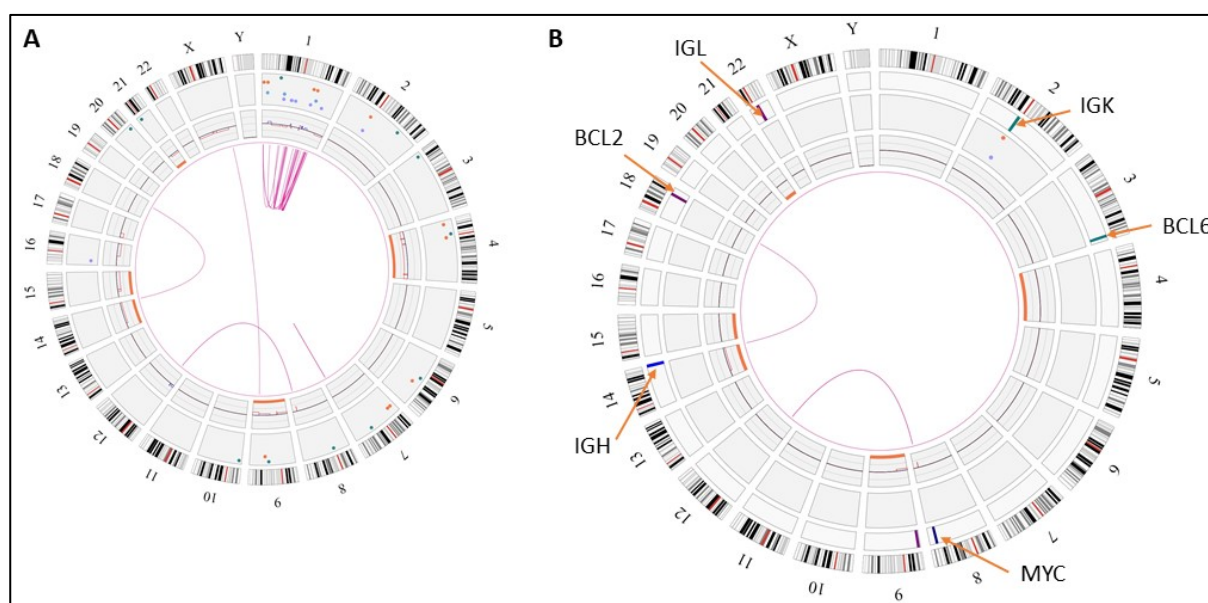


Figure 27 : Mise en évidence des anomalies touchant les *loci* d'intérêt en appliquant le fichier bed, simplifiant leur visualisation.

**A** : Circosplot sans application du fichier .bed. **B** : Circosplot avec application du fichier .bed. Les gènes sont représentés par des lignes colorées sur le troisième cercle extérieur du Circosplot

Ainsi, les régions génomiques des *loci* d'intérêt pour la comparaison de méthode ont été délimitées en Hg38, ainsi que des intervalles de plus ou moins 3 Mégabases étant donné la variabilité des points de cassure autour de ces gènes ([tableau 4](#)). Le fichier des régions génomiques a été intégré à l'interface (fichier .bed).

| Gènes       | Chromosome | Position du gène (Bp) |             | Position du gène + 3Mbp |             |
|-------------|------------|-----------------------|-------------|-------------------------|-------------|
|             |            | Début                 | Fin         | Début                   | Fin         |
| <b>MYC</b>  | 8          | 127,736,231           | 127,742,951 | 124,736,231             | 130,742,951 |
| <b>BCL2</b> | 18         | 63,123,346            | 63,319,769  | 60,123,346              | 66,319,769  |
| <b>BCL6</b> | 3          | 187,721,381           | 187,745,468 | 184,721,381             | 190,745,468 |
| <b>IGH</b>  | 14         | 105,583,531           | 106,811,131 | 102,583,531             | 109,811,131 |
| <b>IGK</b>  | 2          | 88,857,361            | 90,235,370  | 85,857,361              | 91,800,000* |
| <b>IGL</b>  | 22         | 22,026,076            | 22,922,912  | 19,026,076              | 25,922,912  |

Tableau 4 : Positions des gènes d'intérêt dans notre extension de fichier.

\*Le locus étendu autour d'*IGK* a été borné à la position de centromère.

Dans un second temps, une analyse globale des données a été réalisé pour chaque patient, et nous rapportons dans ce travail certaines des anomalies récurrentes dans les DLBCLs.

## IV. RESULTATS

### A. Évaluation qualitative des échantillons

Préalablement à l'interprétation de la COG, une évaluation de la qualité des données est essentielle. Pour chaque patient, les critères qualité des échantillons sont rapportés : d'une part les critères analytiques, reflet de la technique, et d'autre part les critères post-analytiques générés suite à l'alignement des données acquises au génome de référence (tableau 5). Ces données sont comparées aux recommandations établies dans le travail de Brynn Levy (56).

La qualité de l'analyse est optimale ou quasi-optimale pour 10 patients (67%), sous-optimale pour 3 patients (20%), et 2 patients n'obtiennent pas de résultat satisfaisant (13%).

| Critères analytiques |                     |                    |                               |                          | Critères post-analytiques |                             |                                |                                         | Qualité**              |
|----------------------|---------------------|--------------------|-------------------------------|--------------------------|---------------------------|-----------------------------|--------------------------------|-----------------------------------------|------------------------|
| Patient              | Moyenne N50 ≥150kbp | Moyenne N50 ≥20kbp | Moyenne taux d'alignement (%) | Couverture effective (X) | Sexe                      | Couverture post-analyse (X) | Score de CNV                   |                                         |                        |
|                      |                     |                    |                               |                          |                           |                             | Pourcent par rapport à attendu | Correlation avec la densité de marquage |                        |
| Valeur attendue      | ≥230 kbp            | ≥150 kbp           | ≥70                           | ≥340X                    | Selon données             | ≥300X                       | ≤+20                           | ≤+0,25                                  |                        |
| 1                    | 230                 | 120                | 56,6                          | 142,14                   | H                         | 110,51                      | 8,08                           | 0,12                                    | Alignement insuffisant |
| 2                    | 308                 | 243                | 83,9                          | 416,11                   | H                         | 369,58                      | 8,99                           | 0,026                                   | Optimale               |
| 3                    | 303                 | 242                | 88                            | 429,95                   | F                         | 345,7                       | 13,9                           | -0,06                                   | Optimale               |
| 4                    | 277                 | 147                | 78,1                          | 379,68                   | F                         | 341,95                      | 9,88                           | 0,039                                   | Quasi-optimale         |
| 5                    | 272                 | 220                | 86,5                          | 425,08                   | F                         | 364,95                      | 5,59                           | 0,046                                   | Optimale               |
| 6                    | 241                 | 141                | 79,5                          | 388,82                   | H                         | 296,25                      | 14,43                          | -0,05                                   | Sous-optimale          |
| 7                    | 282                 | 197                | 87,9                          | 438,76                   | H                         | 390,78                      | 17,74                          | -0,07                                   | Optimale               |
| 8                    | /                   | /                  | /                             | /                        | /                         | /                           | /                              | /                                       | Échec technique        |
| 9                    | 267                 | 150                | 84,7                          | 414,74                   | H                         | 348                         | 5,04                           | -0,04                                   | Optimale               |
| 10                   | 307                 | 178                | 85,7                          | 419,12                   | F                         | 308,7                       | 3,65                           | -0,07                                   | Optimale               |
| 11                   | 236                 | 125                | 79,7                          | 361,54                   | F                         | 307,06                      | 13,06                          | 0,14                                    | Sous-optimale          |
| 12                   | 285                 | 190                | 80,3                          | 390,07                   | H                         | 313,26                      | 18,64                          | -0,07                                   | Optimale               |
| 13                   | 288                 | 227                | 86,6                          | 440,41                   | H                         | 374,02                      | 27,54                          | -0,1                                    | Sous-optimale          |
| 14                   | 355                 | 250                | 79,1                          | 390,39                   | H                         | 295,7                       | 16,58                          | 0,15                                    | Quasi-optimale         |
| 15                   | 373                 | 295                | 70                            | 404,29                   | H                         | 325,58                      | 12,99                          | 0,034                                   | Optimale               |

Tableau 5 : Résultats de l'évaluation qualitative des 15 échantillons de la cohorte. L'interprétation de la qualité est réalisée selon les critères de Brynn Levy et al. (56)  
 PLV : Positive label variance, NLV : Negative label variance

## B. Comparaison de méthodes

### 1. Données initiales

L'ensemble des 15 patients a bénéficié d'un caryotype. Un clone anormal est détecté dans 14 cas. Le caryotype était complexe pour 12 cas (tableau 6).

| Patient | Formule chromosomique selon l'ISCN                                                                                                                                                                     |
|---------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1       | 51~52,XY,+X,+Y,add(2)(p24),del(3)(q24q27),+5,+8,t(14;18)(q32;q21)<inc>[4]/46,XY[4]                                                                                                                     |
| 2       | 47,XY,der(3)t(3;18)(p21;q12),add(5)(q13),t(6;13)(q13;q14),-8,der(9)add(9)(p13),+18,add(18)(p11),+1~2mar[cp6]/46,XY[5]                                                                                  |
| 3       | 70~74<4n>,XX,-X,-X,-1,-2,-4x2,-5,-8,-12x2,-13x2,-14,t(14;18)(q32;q21)x2,-15x2,-16x2,add(16)(q11),-17,idic(17)(p11),-21x2,-22,+4~10mar,inc[cp2]/46,XX[20]                                               |
| 4       | 46,XX,del(1)(p32p22),del(1)(q42q43),add(2)(p21),del(6)(q13q23),dup(12)(?q13q21),t(14;19)(q32;q13),add(15)(q24)[10]                                                                                     |
| 5       | 47,XX,+2[4]/48,XX,+3,der(22)t(1;22)(?q11;q12),+mar[3]/46,XX[15]                                                                                                                                        |
| 6       | 46,XY,?add(3)(q26),del(6)(q22),t(8;14)(q24;q32)[8]/46,XY[2]                                                                                                                                            |
| 7       | 47,XY,t(3;22)(q27;q11),t(6;11)(p21;q13),+7,t(8;14)(q24;q32),der(14)t(8;14),der(22)t(1;22)(q11.2;p11)[5]                                                                                                |
| 8       | 78~80<4n>,XXYY,+Xx2,dup(1)(p21p36),del(1)(p32p35)x2,-3,ins(3;?)(q21;?),-4x2,-5x2,-6x2,-9x2,-10,-13x2,-14x2,-15,-16x2,-17x2,der(18)t(14;18)(q32;q21)x2,add(19)(q13),+20,-22x2,+5~8mar,inc[cp4]/46,XY[5] |
| 9       | 47,X,-Y,+X?c,del(2)(q24q27),+3,t(3;14)(q27;q32),add(6)(q21),+18,+1~3mar,inc[cp7]/47,X,-Y,+X?c[5]                                                                                                       |
| 10      | 48,XX,+X,t(2;3)(p12;q27),del(6)(q21q25),+7,del(7)(p15),t(8;22)(q24;q11)x2,t(14;18)(q32;q21),-16,-17,+mar[CP5]                                                                                          |
| 11      | 48,X,?t(X;18)(q27;q12.1),+X,t(1;8)(p22;q11.2),t(3;14)(q27;q32),del(4)(q21q32),del(6)(q13q27),inv(6)(p21.3q13),+7,der(11)t(11;12)(q21;q13),-12,add(17)(p11),add(19)(p13),add(22)(q13)x2,+mar[cp9]       |
| 12      | 46,XY[20]                                                                                                                                                                                              |
| 13      | 45,X,-Y,del(1)(q32q44),der(3)add(3)(p21)dup(3)(q21q27)add(3)(q27),del(3)(q12q29),del(8)(?q13?q23),del(13)(q14q31),add(14)(q32),-17,dup(18)(q12q21),i(18)(q10),-20,+22,+mar[cp7]                        |
| 14      | 48,XY,dup(1)(q32q21),+3,der(3)t(3;3)(p25;q23),der(8)t(8;8)(p11.2;q24.1),add(12)(p12),i(18)(q10),-22,+mar1,+r[8]/46,XY[4]                                                                               |
| 15      | 49,XY,trp(1)(q21q42),+del(2)(q3?4),+8,-10,-14,t(14;18)(q32;q21),+3mar[1]/46,XY[19]                                                                                                                     |

Tableau 6 : Données caryotypiques initiales : formules chromosomiques des 15 patients.

Des analyses FISH complémentaires à la recherche d'anomalies aux *loci* relevant de la classification OMS 2022 (*MYC*, *BCL2*, *BCL6*) sont réalisées dans la totalité des cas. La FISH met en évidence un remaniement de *BCL6* pour 7 patients (58%), un remaniement de *MYC* pour 5 patients (42%) et un remaniement de *BCL2* pour 5 patients (42%) (tableau 7). Deux patients présentent l'association *MYC/BCL2* dont un avec remaniement de *BCL6* additionnel (patient 3 et 10). Deux autres patients présentent l'association *MYC/BCL6* sans remaniement de *BCL2* (patient 6 et 7).

|                | Patient |        |        |   |   |     |     |     |     |     |     |        |        |    |     |
|----------------|---------|--------|--------|---|---|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--------|--------|----|-----|
|                | 1       | 2      | 3      | 4 | 5 | 6   | 7   | 8   | 9   | 10  | 11  | 12     | 13     | 14 | 15  |
| Caryotype      |         |        |        |   |   |     |     |     |     |     |     |        |        |    |     |
| <i>BCL6</i> -r |         |        |        |   |   | IGH | IGL |     | IGH | IGK | IGH | Non-IG | Non-IG |    |     |
| <i>MYC</i> -r  |         | Non-IG | Non-IG |   |   | IGH | IGH |     |     | IGL |     |        |        |    |     |
| <i>BCL2</i> -r | IGH     |        | IGH    |   |   |     |     | IGH |     | IGH |     |        |        |    | IGH |

Tableau 7 : Synthèse des données de caryotype et FISH des 15 patients.

Légende : Les cases noires désignent un caryotype complexe ; la case pointillée, un caryotype anormal non complexe ; la case blanche, l'absence d'anomalie détectée. Les cases colorées (orange, rouge, violet) désignent l'identification du remaniement par FISH.

Dans le cas où le caryotype est normal, la FISH met en évidence un remaniement de *BCL6* dans la population interphasique, cette discordance s'explique par l'absence de division du clone tumoral dans les conditions de culture et représente une des limites du caryotype.

Trois cas ne présentent pas de remaniements aux *loci BCL6*, *MYC* et *BCL2* au caryotype ou en FISH.

Les sondes FISH utilisées couvrent également le locus *IGH*, ce qui a permis d'affirmer son implication dans certaines de ces translocations avec les oncogènes *BCL6*, *BCL2*, ou *MYC*, ces données sont répertoriées dans le tableau 7. Sur l'ensemble des 17 remaniements identifiés, 10 impliquent *IGH*, 2 *IGL* et 1 *IGK* (également confirmés en FISH), en conséquence, 4 remaniements restent partiellement caractérisés avec un partenaire non identifié. Parmi les 5 remaniements de *MYC*, la FISH identifie l'implication d'un *locus d'IG* dans 3 d'entre eux, les 2 autres sont des translocations *MYC* à partenaire non-*IG*.

## 2. Comparaison des données caryotype/FISH à la cartographie optique

Les résultats obtenus pour la COG sont classés comme concordants avec le caryotype et la FISH si les anomalies détectées le sont également en COG, les deux patients pour lesquels la COG est un échec sont exclus. Les résultats sont présentés dans le tableau 8.

|             | Patients |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |            |  |
|-------------|----------|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|------------|--|
|             | 2        | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | Technique  |  |
| BCL6-r      |          |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    | Caryo/FISH |  |
|             |          |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    | COG        |  |
| MYC-r       |          |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    | Caryo/FISH |  |
|             |          |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    | COG        |  |
| BCL2-r      |          |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    | Caryo/FISH |  |
|             |          |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    | COG        |  |
| Concordance | ✓        | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ✓  | ✓  | ✓  | ✓  | ✓  | ✗  |            |  |

Tableau 8 : Identification des remaniements aux *loci BCL6, MYC, BCL2*. Les cases colorées désignent l'identification du remaniement par caryotype/FISH ou par COG.

La COG est en mesure de mettre en évidence tous les réarrangements impliquant *MYC, BCL2* et *BCL6* détectés préalablement par caryotype et FISH.

La COG identifie un remaniement de *MYC* supplémentaire non vu en caryotype et FISH, pour le patient 15 : il s'agit d'une insertion cryptique d'un fragment chromosomique de 350 kbp, émanant du chromosome 9 (9p13), à proximité du gène *MYC* (figure 28). Ce remaniement reste indétectable par la FISH avec les sondes utilisées en raison de sa trop petite taille qui ne permet pas la dissociation des signaux fluorescents. A noter que le *locus* 9p13 inséré est un partenaire récurrent non-*IG* décrit dans les réarrangements de *MYC*. La mise en évidence de cette anomalie associée à la présence du remaniement *IGH::BCL2* modifie le diagnostic du patient reclassé en DLBCL/HGBL-MYC/BCL2 selon l'OMS 2022. Initialement, les examens de cytologie et cytométrie en flux effectués pour ce patient ne permettaient pas de statuer entre un syndrome lymphoprolifératif B et une LAL BIV selon EGIL : cellules de morphologie immature et mise en évidence d'une population lymphoïde B monotypique lambda évaluée à 70% des lymphocytes circulants, et de score de Matutes à 2 en immunophénotypage.

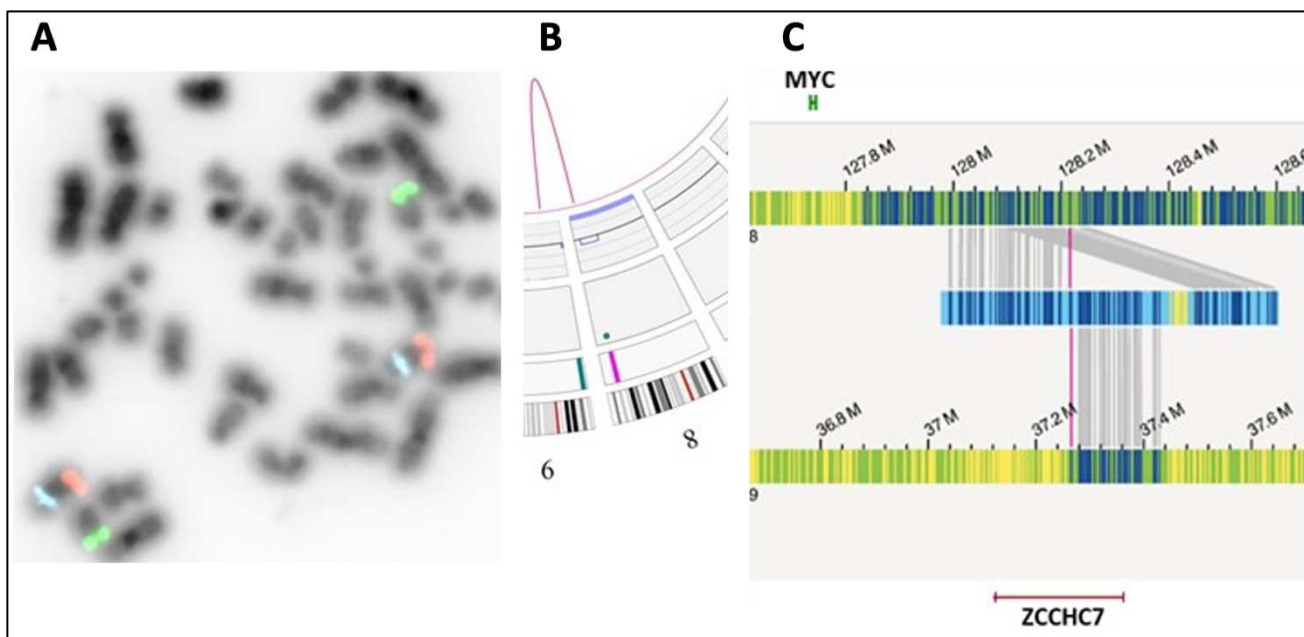


Figure 28 : Insertion cryptique d'une séquence de 350kb, issu du chromosome 9, au locus du gène MYC (8q24) mise en évidence par cartographie optique et invisible en FISH et caryotype pour le patient 15.

**A** : Analyse FISH avec la sonde XL t(8;14) MYC/IGH/8cen Metasystems. **B** : Insertion de la région 9p13.2 (locus *ZCCHC7*) en 8q24, locus de *MYC*. **C** : Vue de la molécule du patient (bleue) caractérisée par une insertion 9p13 au locus de *MYC* en 8q24, la formule chromosomique est ins(8;9)(q24.21;p13.2p13.2).

### 3. Partenaires des translocations impliquant *MYC*, *BCL2* et *BCL6*

En cohérence avec la FISH, la cartographie optique permet de confirmer l'implication d'*IGH* comme partenaire de translocation des oncogènes *MYC*, *BCL2* ou *BCL6* dans 10 remaniements, d'*IGL* dans 2 remaniements et d'*IGK* dans 1 remaniement.

La cartographie optique permet l'identification des partenaires non-*IG* dans les 4 cas décrits partiellement en technique de caryotype et FISH (tableau 9). A noter que le remaniement de *MYC* par insertion non vue en FISH fait également intervenir un partenaire non-*IG* (tableau 9).

| Patient   | Remaniements non-IG                         |                    |                                                                                         |
|-----------|---------------------------------------------|--------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|
|           | Remaniements                                | Locus d'intérêt    | Région partenaire                                                                       |
| <b>2</b>  | t(5;9)(q14.3;p13.2) et t(5;8)(q14.3;q24.21) | <i>MYC</i> (8q24)  | 9p13, <i>loci</i> des gènes <i>PAX5</i> , <i>GRHPR</i> , <i>ZCCHC7</i> et <i>FRMPD1</i> |
| <b>3</b>  | t(8;12)(q24.21;p12.1)                       | <i>MYC</i> (8q24)  | 12p12 à proximité de <i>LRMP</i>                                                        |
| <b>12</b> | t(3;9)(q27.3;p13.2)                         | <i>BCL6</i> (3q27) | 9p13, <i>loci</i> des gènes <i>PAX5</i> , <i>GRHPR</i> , <i>ZCCHC7</i> et <i>FRMPD1</i> |
| <b>13</b> | t(3;3)(q12.3;q27.3)                         | <i>BCL6</i> (3q27) | 3q12.3, à proximité de <i>NFKBIZ</i>                                                    |
| <b>15</b> | ins(8;9)(q24.21;p13.2p13.2)                 | <i>MYC</i> (8q24)  | 9p13 contenant les gènes <i>PAX5</i> , <i>GRHPR</i> , <i>ZCCHC7</i> et <i>FRMPD1</i>    |

Tableau 9 : Partenaires non-IG impliqués dans les remaniements de *MYC* pour les patients 2, 3 et 15, et *BCL6* pour les patients 12 et 13.

Pour trois de ces cas, la région partenaire correspond à la région 9p13, où se situent notamment les gènes *PAX5* et *ZCCHC7* (patient 2, 12 et 15), deux cas sont remaniés avec *MYC*, un cas avec *BCL6*. Un remaniement est issu d'une translocation simple (patient 12), un remaniement est plus complexe impliquant un troisième chromosome partenaire (patient 2), et le troisième remaniement correspond à l'insertion décrite au paragraphe précédent (patient 15) ([figure 29](#)).

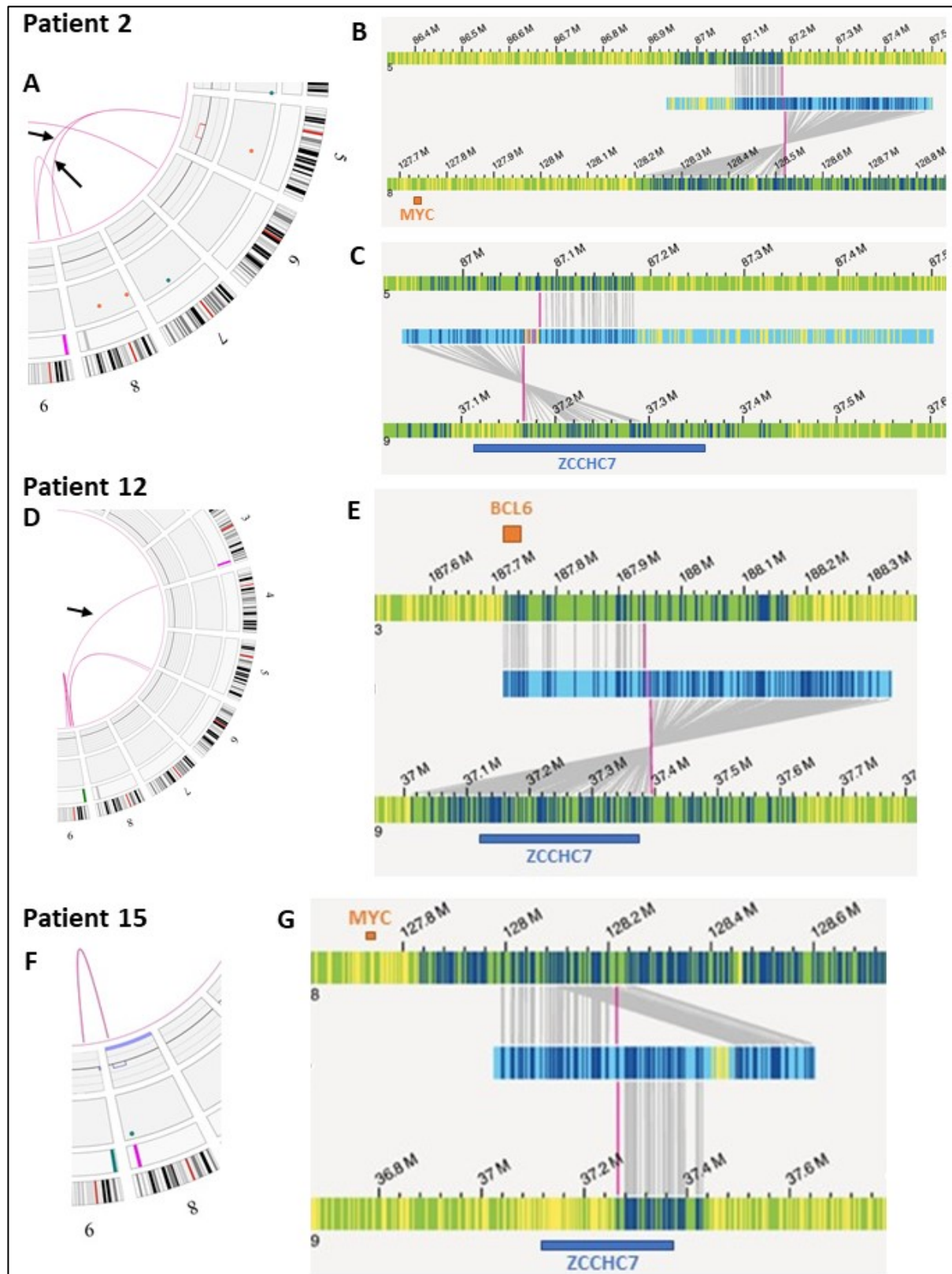


Figure 29 : Implication du locus 9p13 dans 3 remaniements non-IG avec les oncogènes MYC et BCL6.

**A** : Translocation complexe impliquant les chromosomes 5, 8 et 9, patient 2. **B** : La molécule du patient (bleue) est issue d'une translocation  $t(5;9)(q14.3;p13.2)$  et d'une  $t(5;8)(q14.3;q24.21)$ , la résultante est la juxtaposition de MYC au locus PAX5/ZCCHC7. **D** : Translocation simple  $t(3;9)(q27.3;p13.2)$  juxtaposant BCL6 au locus 9p13 PAX5/ZCCHC7. **E** : La molécule du patient (bleue) montre la juxtaposition de BCL6 (3q27) avec la région 9p13 PAX5/ZCCHC7. **F** : Insertion de la région 9p13.2 (locus ZCCHC7) en 8q24 locus de MYC. **G** : Vue de la molécule du patient (bleue) caractérisé par une insertion 9p13 au locus de MYC, la formule chromosomique est  $ins(8;9)(q24.21;p13.2p13.2)$ .

Un autre partenaire non-IG est retrouvé dans une t(8;12)(q24.21;p12.1) impliquant *MYC* et le locus du gène *LRMP* en 12p12.1 (patient 3) (figure 30).

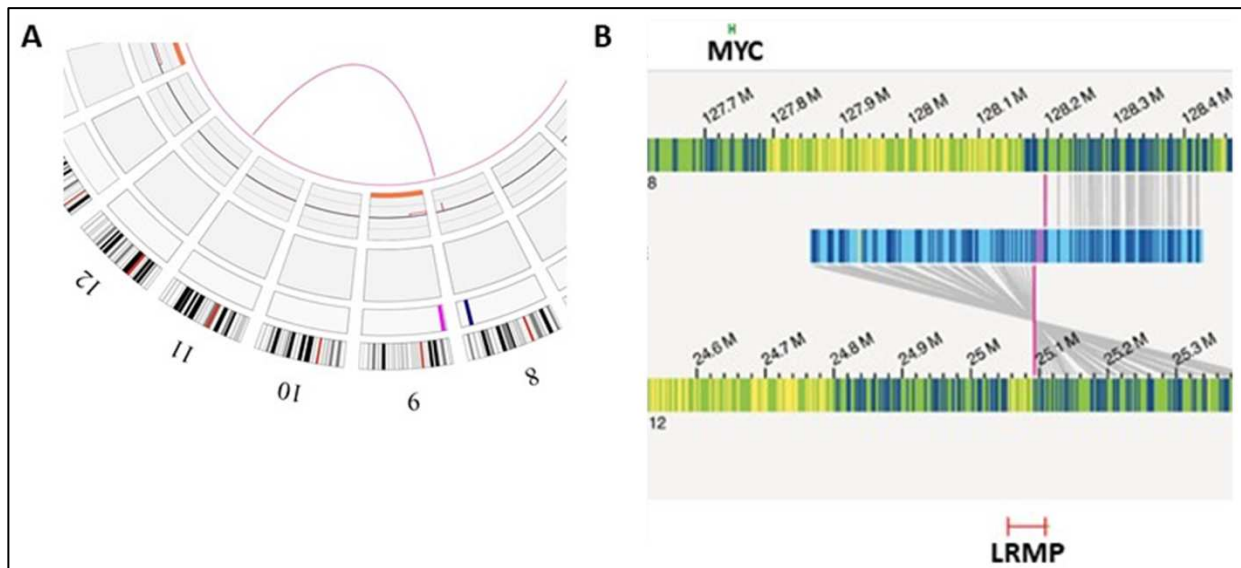


Figure 30 : Translocation t(8;12)(q24.21;p12.1) juxtaposition *MYC::LRMP*, patient 3.

**A** : Translocation visualisée sur le Circosplot. **B** : Translocation juxtaposant *MYC* et *LRMP* vue avec la Genome Browser Interface

Le dernier cas est complexe, la COG permet de confirmer et de préciser le remaniement atypique de *BCL6* en FISH (patient 13). En effet, l'analyse FISH montre une séparation des signaux rouge et vert caractérisant un remaniement du locus *BCL6*, toutefois, ce signal n'est pas classique puisque déséquilibré (perte d'un signal rouge 5'-*BCL6*) et dupliqué (gain du signal vert 3'-*BCL6*) (figure 31). La COG identifie une translocation t(3;3)(q12;q27), qui entraîne la juxtaposition de *BCL6* à la région 3q12. Le locus en 3q12 n'est pas une région non-IG récurrente à ce jour, elle pourrait impliquer le gène *NFKBIZ*, un inhibiteur de la voie NFκB localisé en 3q12.3.

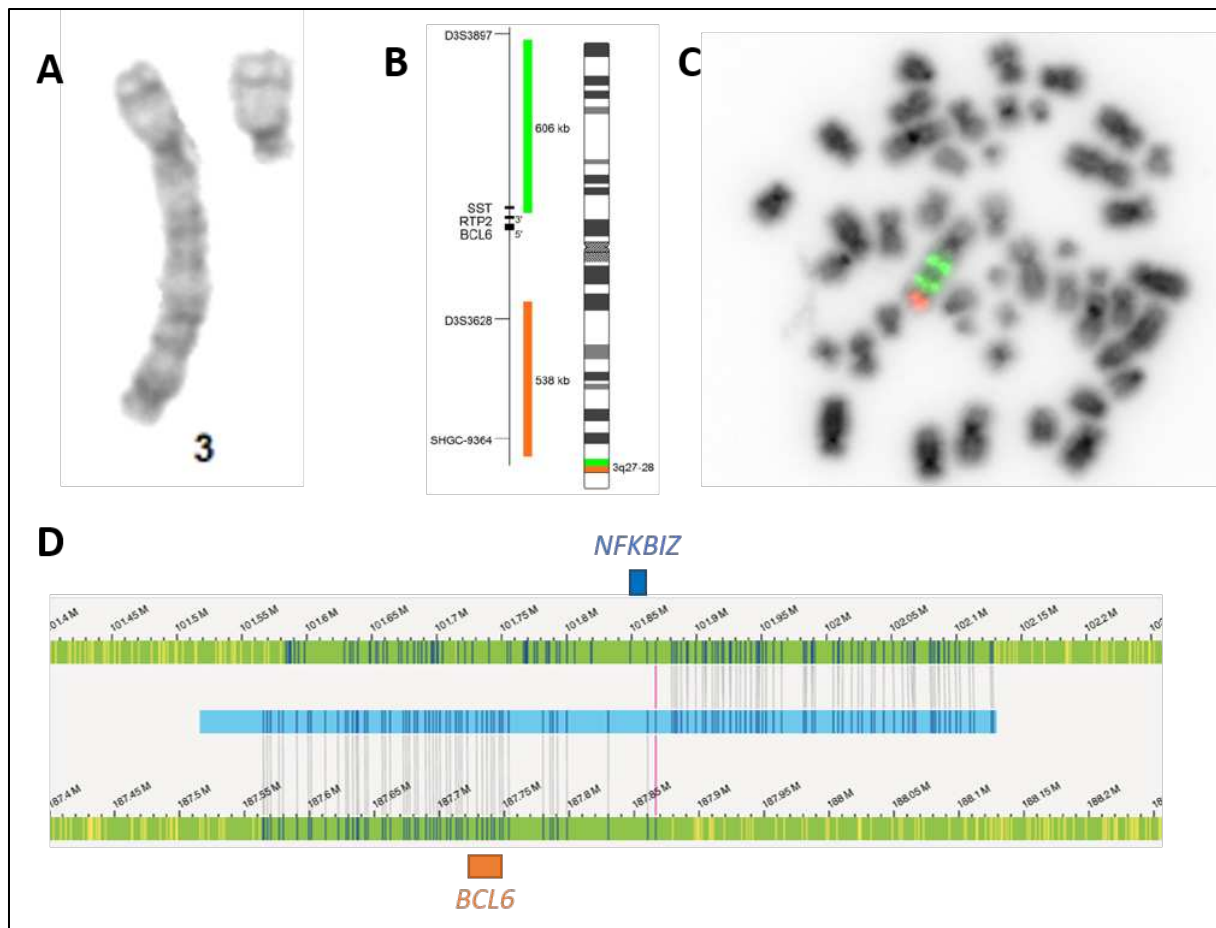


Figure 31 : Remaniement complexe et déséquilibrée du locus de *BCL6*, patient 13.

**A :** Chromosomes 3 anormaux au caryotype. **B :** Sonde XL *BCL6* BA (MetaSystems), l'extrémité 3'-*BCL6* correspond au signal vert et l'extrémité 5'-*BCL6* au signal orange. **C :** FISH métaphasique mettant en évidence un chromosome 3 anormal avec deux signaux 3'-*BCL6* et un signal 5'-*BCL6* attestant d'un remaniement déséquilibré du locus *BCL6*. **D :** Translocation  $t(3;3)(q12.3;q27.3)$  juxtaposition de *BCL6* au locus 3q12 et *NFKBIZ* vue en COG.

#### 4. Précision des points de cassure autour de *MYC*

Les réarrangements du locus de *MYC* en 8q24 peuvent avoir une localisation variable autour du gène, les remaniements non-*IG::MYC* et *IGL* ou *IGK::MYC* sont souvent situés en aval du gène (côté télomérique), tandis que les remaniements *IGH::MYC* se localisent préférentiellement en amont (côté centromérique) (57). De manière récurrente également, la distance entre le point de cassure et le gène peut être très variable, avec parfois des éloignements jusqu'à 3 Megabases (21).

Les points de cassure autour de *MYC* dans cette série sont répartis en amont et en aval de *MYC*, sur une région de 781 kbp (figure 32).

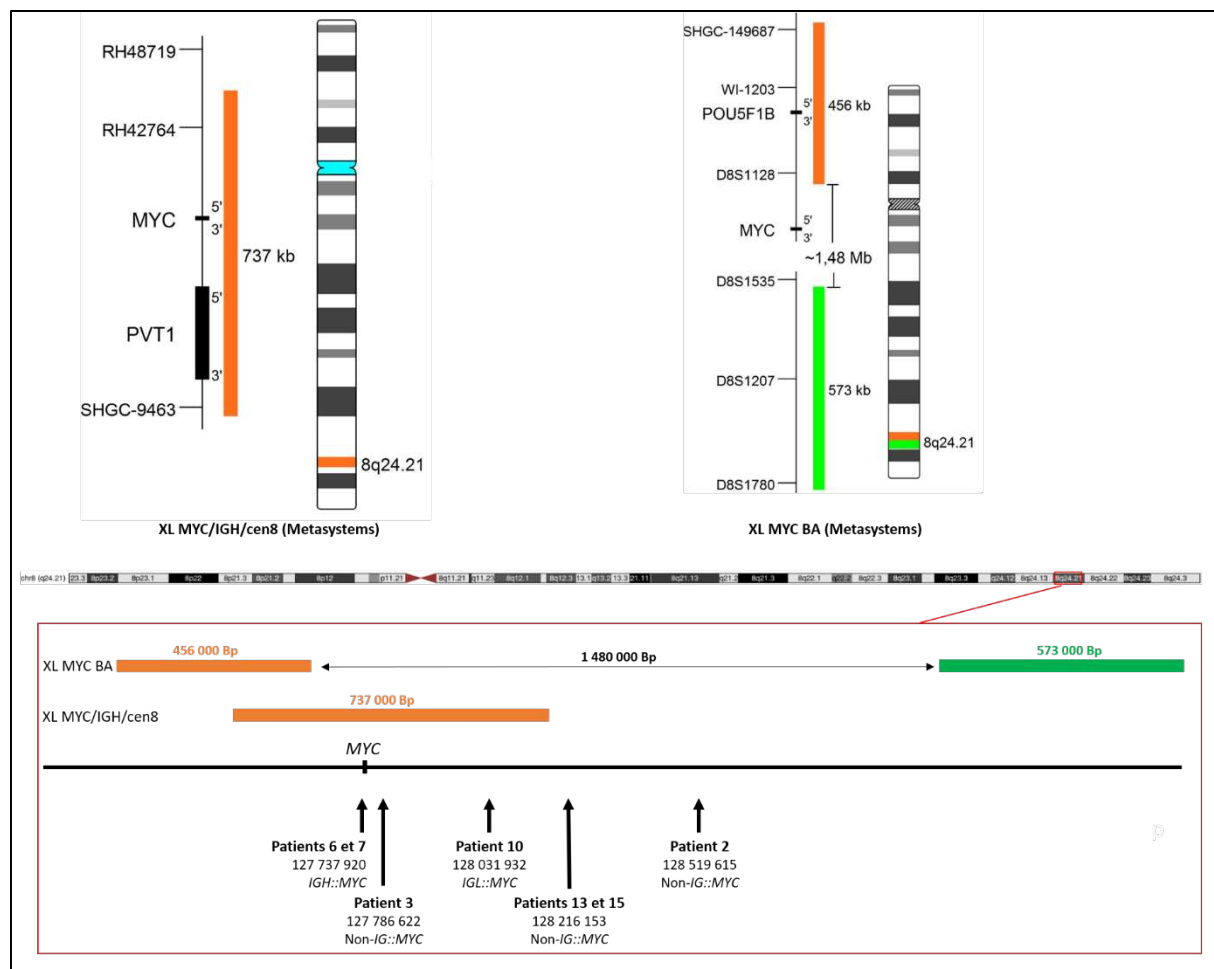


Figure 32 : Représentation schématiques des points de cassure identifiés au *locus* *MYC* dans la série.

Il est intéressant d'établir un parallèle entre ces points de cassure et les designs des sondes commerciales *MYC*. En effet, la sonde XL IGH/*MYC*/cen8 de Metasystems identifie spécifiquement les réarrangements *IGH::MYC* car son signal est très focal sur *MYC*, cela permet d'identifier par exemple des insertions d'*IGH* au *locus* de *MYC*, toutefois, la zone en aval du gène est restreinte et ne permet pas d'identifier certains remaniements de *MYC*. A l'inverse, la sonde XL *MYC* breakapart de Metasystems couvre une portion large en amont et en aval du gène mais n'est pas couvrante, elle permet de voir un panel plus large de translocations mais n'identifierait pas les mécanismes variants tels que les insertions au *locus* de *MYC* (figure 32).

## C. Apport d'informativité

### 1. Autres translocations d'intérêt impliquant les *loci* IG

La cartographie permet de révéler des partenaires de remaniement des *loci* des gènes des immunoglobulines *IGK*, *IGH* et *IGL* autres que *BCL6*, *MYC*, et *BCL2*. Dans notre série, la cartographie optique détecte deux réarrangements impliquant *IGH*.

Une translocation t(14;19)(q32;q13) chez le patient 4, cette translocation est partiellement caractérisée par FISH, cependant le partenaire reste non identifié en 19q13. Grâce à la COG, le remaniement est précisé et entraîne la juxtaposition des gènes *IGH* et *SPIB* en 19q13. La dérégulation de ce gène est décrite dans les DLBCL de type ABC (58) ([figure 33](#)).

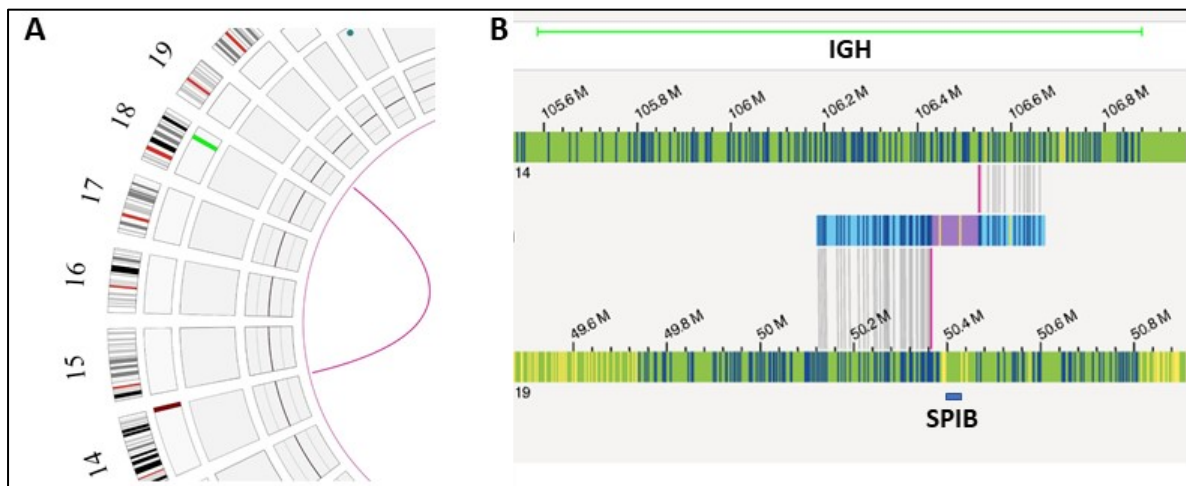


Figure 33 : Translocations du *locus* *IGH* avec un partenaire sur le chromosome 19.

**A** : Circosplot mettant en évidence les différents remaniements retrouvés chez le patient 4. **B** : Translocation t(14;19)(q32;q13) sur circosplot. **C** : Translocation t(14;19)(q32;q13) : juxtaposition d'*IGH* à la région 19q13 contenant *SPIB*.

Une seconde translocation t(14;17)(q32.33;q12) avec implication en 14q32 d'*IGH* avec un *locus* en 17q12 est retrouvée en COG ([figure 34](#)). Selon les données actuelles de la littérature le *locus* 17q12 n'est pas un *locus* partenaire récurrent, ce remaniement entraîne une juxtaposition d'*IGH* avec le gène *DUSP14* (Dual Specificity Phosphatase 14), une étude des niveaux d'expression de la protéine DUSP14 devra être effectuée pour confirmer la dérégulation du gène.

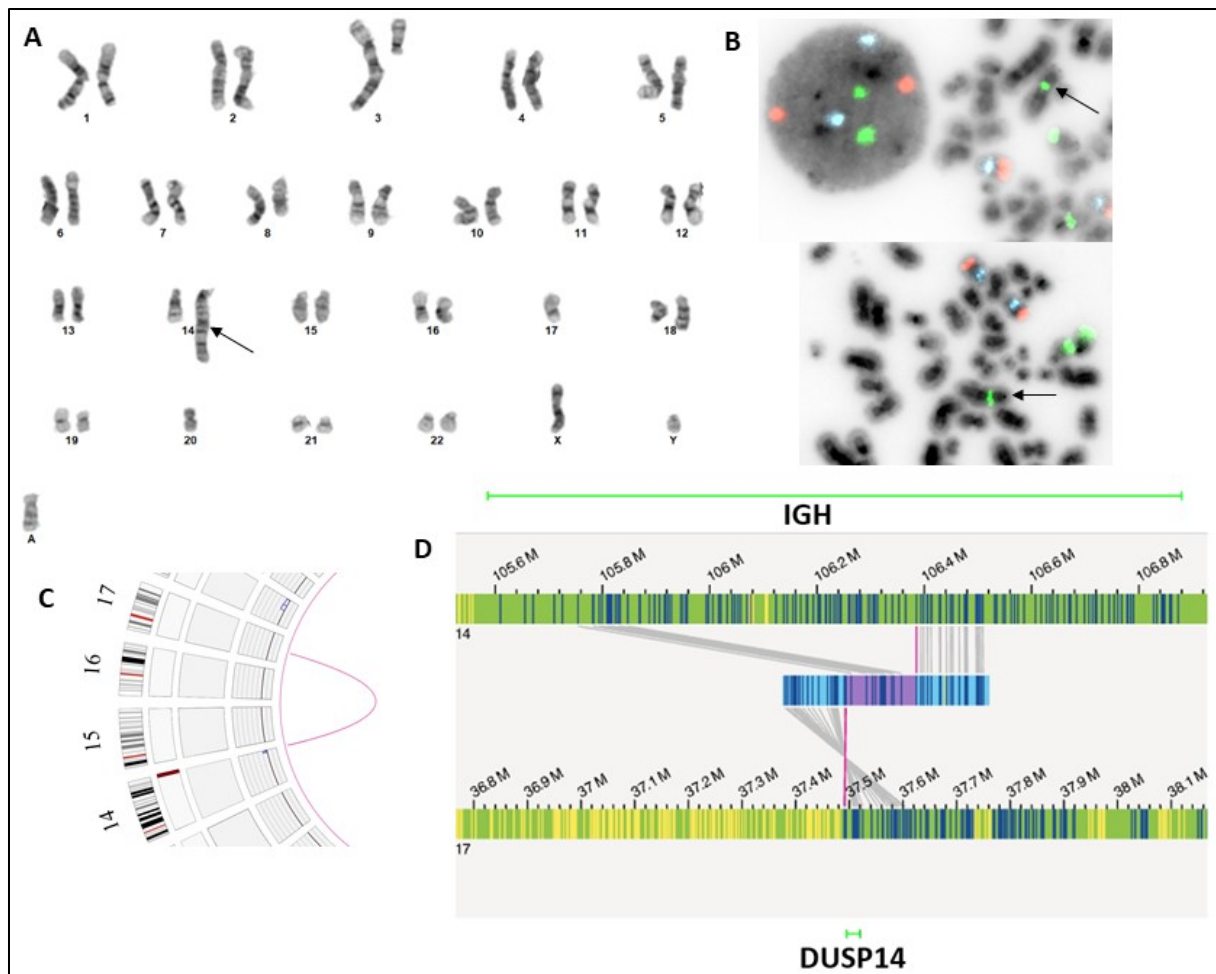


Figure 34 : Translocation t(14;17)(q32;q12) menant à une juxtaposition *IGH::DUSP14*, patient 13.

**A :** Caryotype du patient 13 : ajout de matériel additionnel sur le bras long du chromosome 14. **B :** FISH métaphasique XL t(8;14) MYC/IGH/8cen Metasystems: séparation du signal *IGH* sur le chromosome 14 anormal. **C :** Translocation t(14;17)(q32;q12) sur le Circosplot. **D :** La translocation t(14;17)(q32.33;q12) mène à la juxtaposition d'*IGH* (14q32) avec *DUSP14* (17q12).

## 2. Détection d'anomalies récurrentes d'intérêt

Le profil de cartographie optique des échantillons obtenus sur cette série se révèle très complexe, en effet le nombre moyen d'anomalies détectées par cas est de 96. Outre les remaniements des *loci* *MYC*, *BCL2* et *BCL6* détectés nécessaires à la classification selon l'OMS 2022, nous avons pu mettre en évidence des anomalies cytogénétiques récurrentes dans cette pathologie :

- Une délétion de *CDKN2A/2B* en 9p13 pour 5 patients (figure 35)

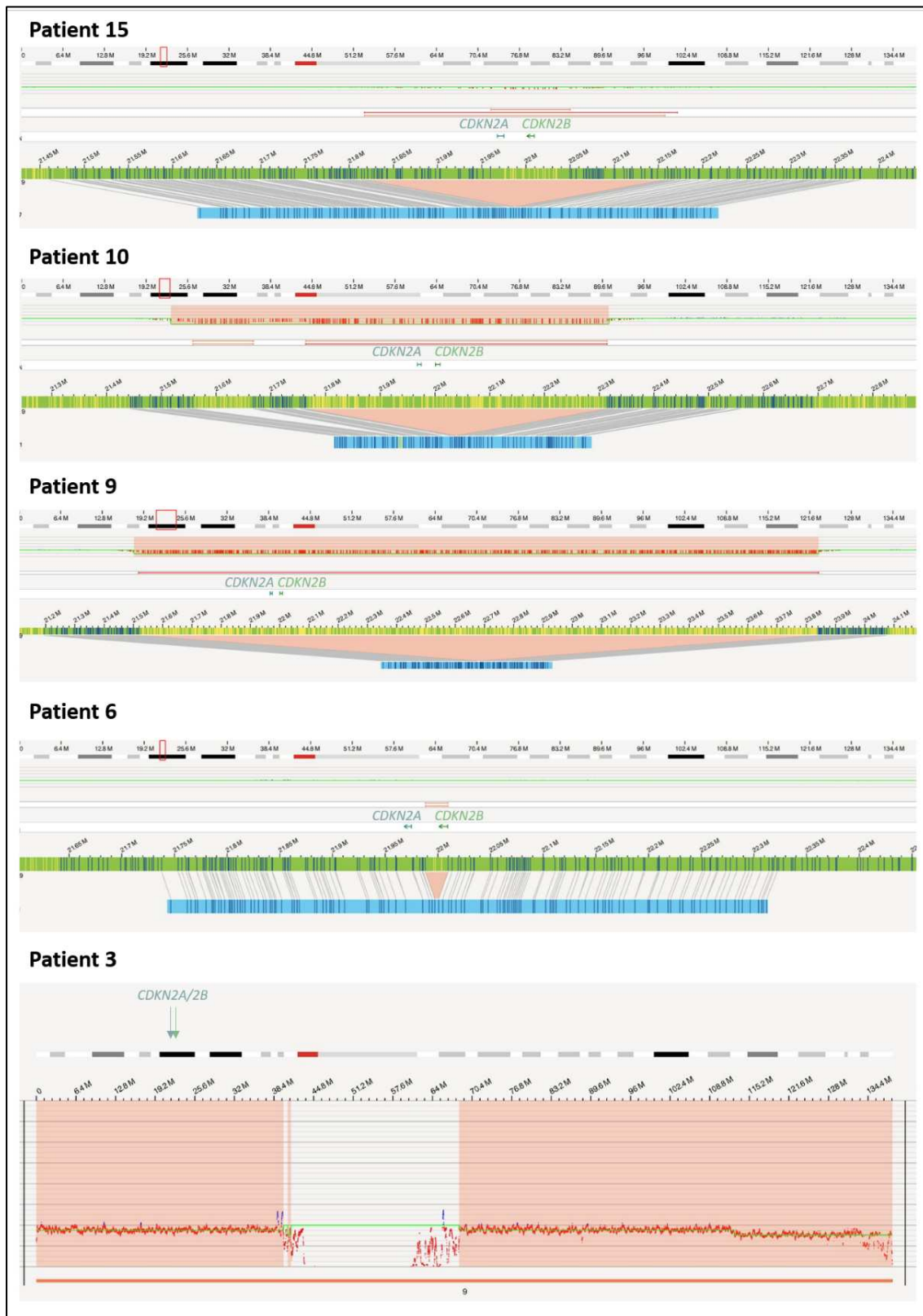


Figure 35 : Déléutions récurrentes du locus 9p21.3 incluant *CDKN2A* et *CDKN2B* (patient 3, 9, 10, 15) et *CDKN2B* (patient 6).

- Trois amplifications focales massives (>5 copies) pour 3 patients impliquant des régions d'intérêt dans les DLBCLs.

Le patient 14 présente une amplification (5 copies de la région) de 2,8Mbp en 2p16, région où se localise notamment les gènes *REL* et *BCL11A* (figure 36).

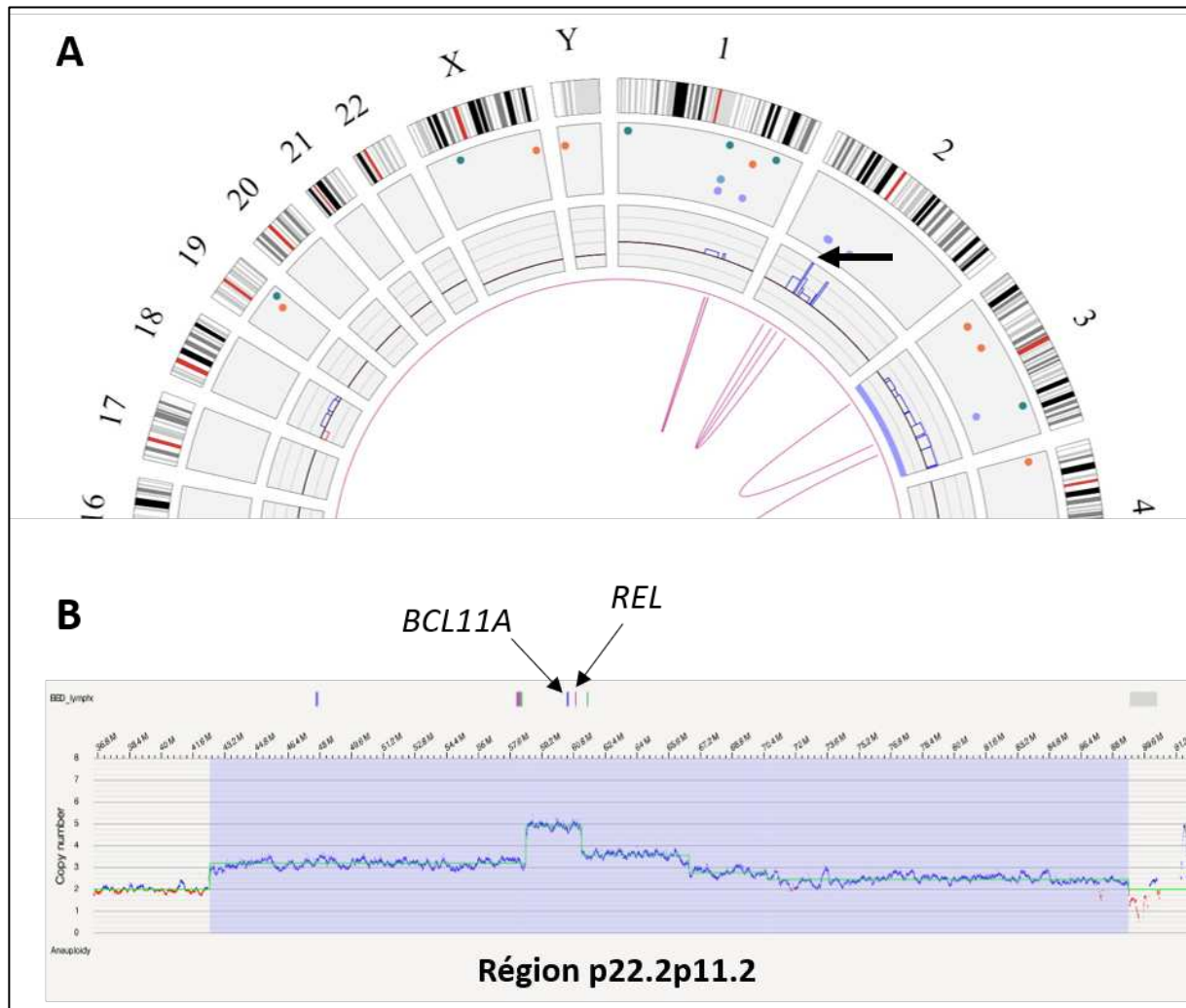


Figure 36 : Amplification *BCL11A* et *REL*, patient 14.

A : Circos plot patient 14. B : Vue de l'amplification en nombre de copies.

Le patient 12 présente une amplification au *locus* 11p13, incluant le gène *CD44*. Cette région d'ADN est présente à environ 12 copies et représente 1,6Mbp (figure 37).

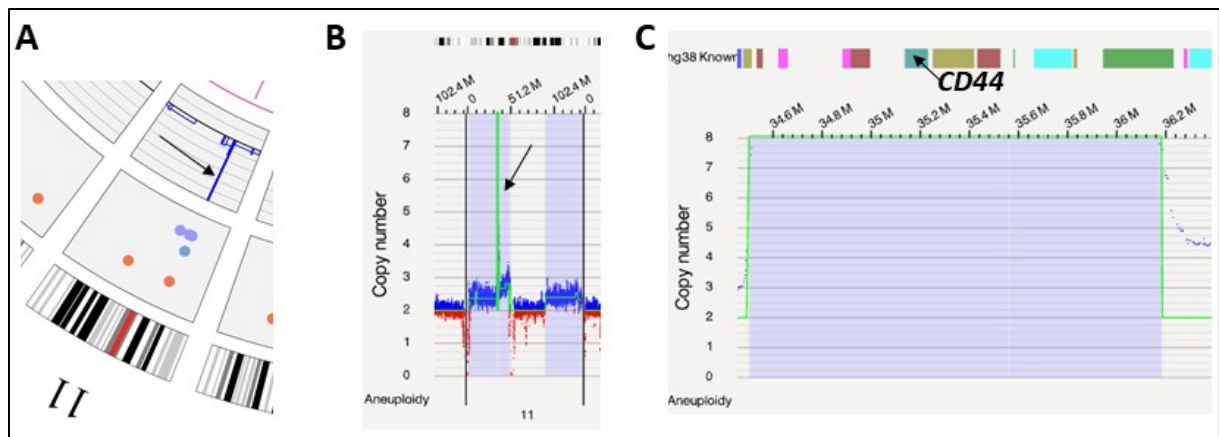


Figure 37 : Amplification de *CD44* chez le patient 12.

Mise en évidence de l'amplification de la région comportant *CD44* sur le Circosplot en **A**, sur la Whole Genome Interface en **B** et **C**.

Le patient 13 présente une amplification d'une région de 1,9Mb au locus 14q31.1. Cette région inclut notamment le gène *DIO2* et *TSHR*, la région amplifiée est présente à 8 copies d'ADN. Cette anomalie a été rapporté comme récurrente dans une série de DLBCL extraganglionnaire d'origine thyroïdienne (figure 38)

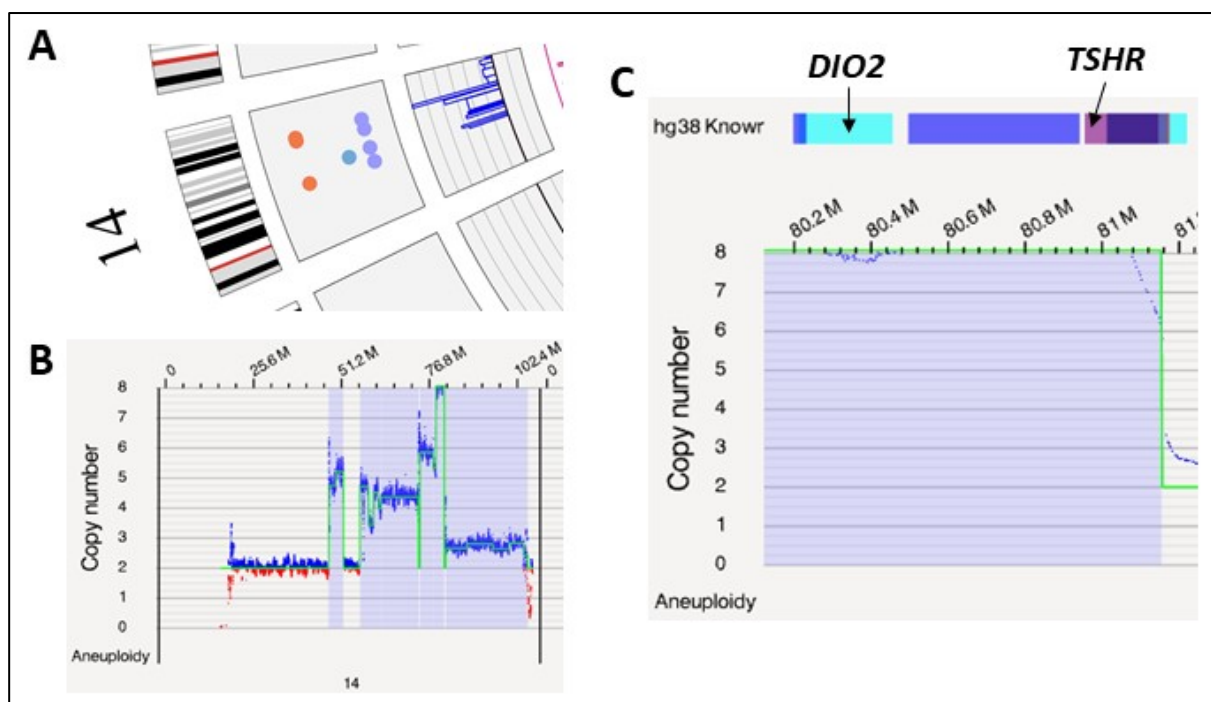


Figure 38 : Amplification du locus 14q31.1 chez le patient 13.

Mise en évidence de l'amplification de la région 14q31.1 sur le Circosplot en **A**, sur la Whole Genome Interface en **B** et **C**.

## V. DISCUSSION

Actuellement la cytogénétique des DLBCLs et lymphomes B agressifs repose sur des méthodes standards, le caryotype et la FISH. Celles-ci permettent de mettre en évidence les anomalies intégrées dans la classification diagnostique établie par l'OMS (23). Toutefois, ces techniques de détection présentent des limites : la FISH bien que quasi-systématique reste ciblée sur la détection des anomalies classantes (*BCL2*, *BCL6* et *MYC*) et ne permet pas une caractérisation exhaustive de toutes les anomalies clonales de l'échantillon, le caryotype étant le plus souvent hautement complexe. De plus, le caryotype et la FISH nécessitent un temps technique non négligeable avec un process en deux (caryotype et FISH) voire trois temps (FISH *BCL2* et *BCL6* selon résultat de *MYC*). L'interprétation n'est pas toujours aisée et l'identification des partenaires de translocations peut s'avérer difficile. Par ailleurs, la pauvreté de certains prélèvements, le délai de prise en charge avant la mise en culture ou l'échantillon lui-même sont également des critères limitants qui concourent dans une proportion non négligeable à l'échec de l'analyse cytogénétique conventionnelle.

Dans ce contexte nous avons souhaité évaluer les capacités et l'apport de la cartographie optique du génome (COG), qui représente un outil cytogénétique de nouvelle génération, dans les DLBCLs et lymphomes B agressifs. Cette technologie innovante permet la détection des variants structuraux et numériques d'un clone tumoral y compris au sein de remaniements complexes, en une étape technique et dans un délai théoriquement compatible avec la prise en charge des patients. Cette technologie présente l'avantage d'une résolution à l'échelle génique bien supérieure au caryotype et à la FISH, associée à une vision pangénomique. Elle nécessite une quantité de cellules bien inférieure à celle nécessaire pour un caryotype (1,5M vs 10M). D'autre part, elle pourrait contribuer à détecter des anomalies additionnelles d'intérêt clinique, diagnostique, pronostique et/ou théranostique (27,28).

Dans cette étude, 15 patients au diagnostic d'un DLBCL ou d'un lymphome B agressif ont été inclus à partir des échantillons recueillis dans le cadre de la prise en charge cytogénétique conventionnelle au laboratoire de cytogénétique du CHU de Lille entre janvier et septembre 2024. Les études de caryotype et FISH ainsi que celles de COG ont été menées en parallèle sur le même prélèvement afin de comparer l'identification des remaniements classants entre l'approche cytogénétique standard et la cartographie optique de Bionano Genomics.

La comparaison des résultats obtenus montre une concordance de la COG avec les données obtenues par caryotype et FISH concernant les remaniements structuraux des *loci* d'intérêt étudiés, sous réserve d'une qualité d'échantillon suffisante. Dans un cas, la COG a permis le redressement diagnostique d'un patient par mise en évidence d'un remaniement de *MYC*, avec un partenaire non-*IG*, issu d'une insertion chromosomique non vue en techniques standards. Les insertions chromosomiques sont des mécanismes variants récurrents, la littérature rapporte environ 2% d'insertions cryptiques d'*IGH* au *locus* de *MYC* sur une série de lymphome de Burkitt (24).

La COG identifie les partenaires de translocations et met en évidence des partenaires non-*IG* récurrents (20,21). La région partenaire en 9p13 qui se situe à proximité des gènes *PAX5* et *ZCCHC7* a été identifiée 4 fois dans notre série, cette région est récurrente notamment dans les réarrangements non-*IG* de *MYC* (59). Il a été constaté que le point de cassure en 9p13 se trouvait à proximité du gène *PAX5*, à des distances variant de quelques paires de bases à quelques mégabases, mais aussi que la translocation de *MYC* avec *ZCCHC7* pouvait jouer un rôle dans la surexpression de *ZCCHC7* et dans la survie des cellules du lymphome (57). La région 9p13 est également identifiée dans un remaniement impliquant *BCL6* dans notre série. Dans la littérature, les translocations *BCL6::non-IG* ont déjà été décrites et présentent des caractéristiques communes telles qu'un point de cassure sur le gène partenaire situé à proximité de la séquence du promoteur (60). À ce jour, plus de 20 *loci* chromosomiques, non-*IG*, impliqués dans les translocations avec *BCL6* ont été décrits (61). A la suite de la translocation dans ces cas, la structure de la protéine Bcl-6 n'est pas affectée, mais la région promotrice du gène *BCL6* est substituée à celle de chaque partenaire, respectivement, et le gène *BCL6* remanié est sous le contrôle d'un autre promoteur (61).

Une translocation t(8;12)(q24.21;p12.1), identifiée dans notre série, entraîne une juxtaposition de *MYC::LRMP*. *LRMP* est situé en 12p12.2 et est un partenaire non-*IG* récurrent de *MYC* (62). *LRMP* est une protéine exprimée dans les cellules du centre germinatif mais aussi dans les DLBCL-GC, et sa translocation avec *MYC* pourrait jouer un rôle dans la présentation clinique et le pronostic des patients présentant une t(8;12)(q24;p12) (62,63). L'impact pronostique des remaniements de *MYC* selon les partenaires *IG* ou non-*IG* reste débattu (64–66).

Par ailleurs, la variabilité des points de cassure des remaniements impliquant *MYC* est illustrée dans notre série et, comme évoqué dans la littérature, les remaniements à partenaires non-*IGH* se produisent en aval du gène (21).

Par ailleurs, la précision apportée par la COG permet également l'identification de partenaires d'*IGH* non décrit par la FISH. La translocation t(14;19)(q32;q13) qui conduit à une juxtaposition d'*IGH* à proximité de *SPIB*. Le gène *SPIB* code pour la protéine spi-b, un activateur transcriptionnel qui agit comme promoteur spécifique des cellules lymphoïdes. Spi-b est impliqué dans la signalisation des BCR par la voie NF-κB (67). Cette voie est impliquée dans la pathogénèse des DLBCL. Des gains de *SPIB* sont décrits dans les DLBCLs, principalement dans le sous-type ABC (58). Ils pourraient participer à la transformation oncogénique des lymphocytes B par la répression du programme de différenciation en plasmocytes. L'expression de *SPIB* est normalement éteinte lors de la différenciation en plasmocytes. Dans les cellules de macroglobulinémie de Waldenström (MW), spi-b s'est avéré surexprimé, et le blocage de spi-b a favorisé la différenciation des cellules MW en plasmocytes. Cela suggère que des niveaux élevés de spi-b, comme observé dans 26% des DLBCL-ABC (53), peuvent induire l'arrêt de la différenciation de ces cellules et contribuer ainsi à la transformation oncogénique (67). Cette surexpression de spi-b est la conséquence d'une amplification d'un segment télomérique du chromosome 19 dans lequel se trouve *SPIB* (53), bien que de mécanisme génétique diffère dans notre série, la translocation du gène *SPIB* à proximité d'*IGH* mène vraisemblablement à son hyperexpression. Ce mécanisme a été décrit dans une lignée cellulaire de DLBCL-ABC, mais jamais à partir d'un échantillon frais (53).

Une seconde translocation impliquant *IGH* a été détectée par COG, t(14;17)(q32.33;q12), elle entraîne la juxtaposition d'*IGH* et de la région 17q12 où se localise notamment *DUSP14*. *DUSP14*, ou *MKP6*, est un gène codant pour une protéine impliquée dans l'inactivation de la voie des MAP kinases (MAPK) par déphosphorylation de ERK, JNK et p38. Les MAPK régulent diverses réponses cellulaires, telles que la prolifération, la réponse au stress, la différenciation et la défense immunitaire, et l'activation de la voie se fait par cascade de phosphorylation. Les phosphatases à double spécificité (DUSP) sont responsables de la déphosphorylation des résidus de thréonine et de tyrosine des MAPK. Cette voie des MAPK est étroitement liée à celle de NF-κB, cependant son implication dans les hémopathies lymphoïdes semble encore discutée (54). Il s'agit donc d'un remaniement pour lequel les données actuelles ne

permettent pas d'affirmer le caractère récurrent, mais dont la fréquence et l'impact physiopathologique pourrait être évalués avec le déploiement de la COG dans les DLBCLs.

D'autres anomalies d'intérêt ont pu être mises en évidence dans notre série : 4 patients présentent une délétion de *CDKN2A/2B*. Les études de Chapuy et al et Whrigt identifient chacune 5 à 6 sous-groupes de DLBCLs où la récurrence des délétions ou inactivation de *CDKN2A/2B* est décrite dans le groupe C2 de Chapuy, groupe associé à une instabilité génomique, dans la classification de Wright les délétions de *CDKN2A/2B* sont décrites dans le groupe MCD associé à un envahissement extra-ganglionnaire (27,28). Par ailleurs la délétion de *CDKN2A/2B* est une anomalie particulièrement fréquente dans les hémopathies et les cancers solides, et serait associée dans les DLBCLs à une valeur pronostique défavorable (68). Par ailleurs, nous observons des amplifications focales chez trois patients. L'une d'entre elle concerne le *locus* 2p15 où se localisent les gènes *REL* et *BCL11A*. Les DLBCLs hyperexprimant la protéine c-REL sont décrits, il s'agit dans la totalité des cas de DLBCLs de type GC (69). Cette anomalie est associée à une valeur pronostique défavorable (69). Ici, le lymphome est classé en LZM-transformé et présente par ailleurs d'autres caractéristiques génétiques associées à cette entité (trisomie 3 et 18q). Ce résultat soulève la nécessité d'un regard transversal sur les différents éléments cliniques, morphologiques, phénotypiques, cytogénétiques et moléculaires.

Une amplification du *locus* 14q31, couvrant les gènes *DIO2* et *TSHR*, est rapportée pour un cas de la série, il concerne un patient dont le diagnostic avait été porté sur une biopsie cervicale ganglionnaire chez un patient qui présentait une atteinte jugulo-carotidienne et médiastinale massive. L'amplification de ce *locus* n'est pas récurrente à l'échelle des DLBCLs en général, toutefois une étude décrit sa récurrence sur une série de DLBCLs extra-ganglionnaires thyroïdiens (70). L'analyse de large cohorte composée de différents sous-types histologiques de DLBCLs serait nécessaire pour relever la récurrence et l'impact de ce type d'anomalie.

L'amplification du *locus* 11p incluant le gène *CD44* a été recensée dans un cas de notre série, la surexpression de *CD44* est décrite dans les hémopathies lymphoïdes et d'autres types de cancers. Elle survient notamment dans les DLBCLs de type ABC et les lymphomes plasmablastiques, représentant un argument de précision diagnostique (71).

La mise en évidence et la caractérisation de ces anomalies additionnelles pourraient permettre d'apporter des orientations pronostiques, voire d'affiner le diagnostic avec l'émergence de profils génétiques de plus en plus complets.

Ce travail constitue des résultats préliminaires sur l'évaluation de la cartographie optique du génome dans les DLBCLs. Toutes les données obtenues n'ont pas été présentées dans ce rapport et font l'objet d'un travail complémentaire au laboratoire. De plus, l'élargissement de la cohorte, le recueil des éléments cliniques et le développement d'outils d'aide à l'interprétation tel que des fichiers bed répertoriant les anomalies lymphoïdes récurrentes par pathologie sont à venir, notamment en collaboration avec le groupe francophone de cytogénétique (FrOGG : French speaking OGM Group from GFCH ; GFCH : Groupe Francophone de Cytogénétique Hématologique).

Certains points beaucoup plus généraux dans la pratique courante de la biologie médicale tels que le délai de réalisation ou de rendu des résultats en comparaison d'un bilan cytogénétique standard (caryotype et FISH), le coût de l'analyse, l'intérêt clinique au moment du diagnostic et de la rechute, mais également l'intérêt théranostique de la COG n'ont pas été évalués dans ce travail. Ces études pourront faire l'objet d'un travail complémentaire et d'une évaluation sur une plus large cohorte notamment dans un contexte national (étude GFCH en cours).

## VI. CONCLUSION

En conclusion, cette étude a permis de démontrer l'intérêt de la cartographie optique du génome (COG) pour rechercher les anomalies génétiques dans les lymphomes B agressifs, en particulier le DLBCL. La COG a montré une capacité supérieure à celle des méthodes classiques, comme le caryotype et la FISH, à identifier et préciser les remaniements génétiques complexes impliquant les *loci* des gènes *MYC*, *BCL2* et *BCL6*. Une qualité d'acquisition et d'alignement des données est impérative.

Toutefois, bien que nos résultats soient prometteurs, ils sont limités par la taille de notre cohorte. Une étude plus large serait nécessaire pour valider la concordance avec le caryotype et la FISH à plus grande échelle et évaluer pleinement l'impact clinique des anomalies cytogénétiques additionnelles élucidées par la COG. Il pourrait être également intéressant de combiner ces données avec les profils mutationnels et de les confronter aux classifications proposées par Chapuy et Wright.

Des investigations supplémentaires devront être menées pour explorer les autres aspects pratiques tels que les délais d'analyse, les coûts et l'intérêt clinique dans la prise en charge du patient.

En somme, cette étude souligne l'apport indéniable de la cartographie optique du génome dans la caractérisation cytogénétique des DLBCLs, notamment pour les cas complexes et difficiles à caractériser. Ce travail a permis de démontrer la faisabilité de la technique sans nécessité de prélèvements supplémentaires. L'évaluation de sa place dans la routine hospitalière en tenant compte des délais, des coûts et des bénéfices cliniques, sera essentielle pour ancrer son intégration à long terme dans la prise en charge des patients atteints de lymphome B agressif.

## BIBLIOGRAPHIE

1. Tilly H, Gomes da Silva M, Vitolo U, Pfreundschuh M, Ladetto M. Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. HAEMATOLOGICAL MALIGNANCIES. VOLUME 26, SUPPLEMENT 5. sept 2015;V116-25.
2. Miao Y, Medeiros L, Li Y, Li J, Young KH. Genetic alterations and their clinical implications in DLBCL. *Nature Reviews Clinical Oncology* [Internet]. 2019; Disponible sur: doi:10.1038/s41571-019-0225-1
3. Fleur A. de Groot, Ruben A. L. de Groen, Anke van den Berg, Martine E. D. Chamuleau, Rogier Mous, Marcel Nijland, et al. Biological and Clinical Implications of Gene-Expression Profiling in Diffuse Large B-Cell Lymphoma: A Proposal for a Targeted BLYM-777 Consortium Panel as Part of a Multilayered Analytical Approach. *Cancers*. 2022;1857.
4. Swerdlow S, Campo E, Harris N, Jaffe E, Pileri S, Stein H, et al. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, WHO Classification of Tumours, Revised 4th Edition, Volume 2. IARC Press. ISBN-13. 2017;
5. Cerhan J, Kricker A, Paltiel O. Medical history, lifestyle, family history, and occupational risk factors for diffuse large B-cell lymphoma: the InterLymph Non-Hodgkin Lymphoma Subtypes Project. *J Natl Cancer Inst Monogr*. 2014<sup>e</sup> éd. 2014;15-25.
6. Cerhan J, Berndt S, Vijai J. Genome-wide association study identifies multiple susceptibility loci for diffuse large B cell lymphoma. *Nat Genet*. 2014;1233-8.
7. Bosly, André, Fervaille, Caroline. Lymphomes diffus à grandes cellules B. "EMC-Hématologie"-Vol. 34, n°1 (2023).
8. Sandra Weller, Marc Descatoire. IgM+IgD+CD27+ B cells in human: an essential role in the protection against encapsulated bacteria. *Medecinesciences*. Volume 31. juill 2015;
9. Visco C, Monette X, Miranda RN, Green TM, Young KM. Comprehensive gene expression profiling and immunohistochemical studies support application of immunophenotypic algorithm for molecular subtype classification in diffuse large B-cell lymphoma: a report from the International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program Study. *Leukemia*. 2012;2103-13.
10. Choi WL, Weisenburger D, Greiner TC, Piris MA, Chan WC. A New Immunostain Algorithm Classifies Diffuse Large B-Cell Lymphoma into Molecular Subtypes with High Accuracy. *Clinical Cancer Research*. 2009;5494-502.
11. Hans CP, Weisenburger D, Greiner TC, Chan WC. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. *Blood*. 2004;275-82.
12. Sarah C Rutherford, John P Leonard. DLBCL Cell of Origin: What Role Should It Play in Care Today? *Oncology (Williston Park)*. 2018 Sep 15;32(9):445-9.

13. FRCPaH Haematology Part 2: Morphology Mature B Cell Disorders Diffuse Large B Cell Lymphoma, LearnHaem Haematology made simple. LearnHaem. 2021;
14. Justin Cordova, Blessie Nelson, Ashley M Brizendine, Fatima Iqbal, Rohit Venkatesan. CD5+ Diffuse Large B-Cell Lymphoma With Leukemic Transformation: A Rare Case With Central Nervous System Involvement, Treated With R-CHOP and Intrathecal Methotrexate/Cytarabine. *Cureus*. 2021 Jun 22;13(6):e15838.
15. P P Carbone, H S Kaplan, K Musshoff, D W Smithers, M Tubiana. Report of the Committee on Hodgkin's Disease Staging Classification. *Cancer Res*. 1971 Nov;31(11):1860-1.
16. T A Lister, D Crowther, S B Sutcliffe, E Glatstein, G P Canellos, R C Young. Report of a committee convened to discuss the evaluation and staging of patients with Hodgkin's disease: Cotswolds meeting. *Journal of Clinical Oncology*. Volume 7, Number 11. 1 nov 1989;
17. Dr. James O. Armitage MD. Staging Non-Hodgkin Lymphoma. *A Cancer Journal for Clinicians*. :368-576.
18. F. Montravers, C. de Bazelaire, E. de Kerviler. Imagerie radiologique et TEP scanner des lymphomes de l'adulte et de l'enfant. *Journal de Radiologie* Volume 89, Issue 3, Part 2 , March 2008, Pages 371-386.
19. Christine Lefebvre, Evelyne Callet-Bauchu, Elise Chapiro, Nathalie Nadal, Dominique Penther, Hélène Antoine-Poirel. Place de la cytogénétique dans la prise en charge des lymphomes et des syndromes lymphoprolifératifs (SLP) de l'adulte et de l'enfant : actualisation par le Groupe francophone de cytogénétique hématologique (GFCH). *Annales de Biologie Clinique*. Ann Biol Clin 2016 ; 74 (5) : 568-87.
20. Claudia Otto, René Scholtysik, Roland Schmitz, Markus Kreuz, Reiner Siebert, Ralf Küppers. Novel IGH and MYC Translocation Partners in Diffuse Large B-Cell Lymphomas. *Genes Chromosomes Cancer* . 2016 Dec;55(12):932-943. Disponible sur: doi: 10.1002/gcc.22391. Epub 2016 Jul 12.
21. Lauren C C, Susana Ben-Neriah, Graham W. Slack, Ciara Freeman, Daisuke Ennishi, Anja Mottok, et al. High-resolution architecture and partner genes of MYC rearrangements in lymphoma with DLBCL morphology. *Blood Adv*. 2019;2755-65.
22. Jaffe ES, Harris N, Stein H, Vardiman JW. World Health Organization classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 3rd ed. IARC; 2001.
23. Alaggio R. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. *Leukemia*. 36<sup>e</sup> éd. 2022;1720-48.
24. Renata Woroniecka, Grzegorz Rymkiewicz, Lukasz M. Szafron, Joanna Parada, Anita Borysiuk, Victor Murcia Pienkowski, et al. Cryptic MYC insertions in Burkitt lymphoma: New data and a review of the literature. *PLoS One*. 2022; 17(2): e0263980.

25. Jardin, F. NGS (Next generation sequencing) dans les lymphomes diffus à grandes cellules en pratique quotidienne. *Horizons Hémato*. 2015;163.
26. Victor Bobée, Philippe Ruminy, Ahmad Abdel Sater, Liana Veresezan, Sylvain Mareschal, Sydney Dubois, Corinne Haioun, Hervé Tilly, Fabrice Jardin. Determination of Molecular Subtypes of Diffuse Large B-Cell Lymphoma Using a Reverse Transcriptase Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification Classifier: A CALYM Study. *J Mol Diagn* 2017 Nov;19(6):892-904.
27. G.W. Wright, R. Schmitz, D.W. Huan M., D.R. Soppet, S. Pittaluga, W.H. Wilson, and L.M. Staudt, J.P. Leonard, N.L. Bartlett, B. Tran, J. Shetty, Y. Zhao, C.A. Johnson, J.D. Phelan, et al. Genetics and Pathogenesis of Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *N Engl J Med*. avr 2018;1396-1407.
28. Bjoern Chapuy, Chip Stewart, Andrew J. Dunford, Jaegil Kim, Atanas Kamburov, Robert A. Redd, et al. Molecular Subtypes of Diffuse Large B-cell Lymphoma are Associated with Distinct Pathogenic Mechanisms and Outcomes. *Nat Med*. 2018;679-90.
29. Margaret A. A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. The International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project. *NEJM*. 1993;
30. Laurie H. Sehn, Judy Sutherland, Randy D. Gascoyn, Joseph M. Connors. The revised International Prognostic Index (R-IPI) is a better predictor of outcome than the standard IPI for patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP. *Blood*. Volume 109, Issue 5 , 1 March 2007, Pages 1857-1861.
31. M Ladetto, C Buske, S Luminari, C Pott, A Zamò, E Zucca. ESMO consensus conference on malignant lymphoma: general perspectives and recommendations for prognostic tools in mature B-cell lymphomas and chronic lymphocytic leukaemia. *Ann Oncol* 2016 Dec;27(12):2149-2160.
32. K. Dunleavy, M. Roschewski, W.H. Wilson. Precision treatment of distinct molecular subtypes of diffuse large B-cell lymphoma: ascribing treatment based on the molecular phenotype. *Clin Cancer Res*. 2014;
33. Dunleavy K, Pittaluga S, Czuczman MS, Dave SS, Wright G, Grant N. Differential efficacy of bortezomib plus chemotherapy within molecular subtypes of diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. 2009;6069-76.
34. M.S. Czuczman. A phase 2/3 multicenter, randomized study comparing the efficacy and safety of lenalidomide versus investigator's choice in relapsed/refractory DLBCL. *Blood*. 2014;
35. F.J. Hernandez-Ilizaliturri. Higher response to lenalidomide in relapsed/refractory diffuse large B-cell lymphoma in nongerminal center B-cell-like than in germinal center B-cell-like phenotype. *Cancer*. 2011;

36. A. Younes. Combination of ibrutinib with rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone (R-CHOP) for treatment-naïve patients with CD20-positive B-cell non-Hodgkin lymphoma: a non-randomised, phase 1b study. *Lancet Oncol.* 2014;
37. Philip T, Guglielmi C, Hagenbeek A, Somers R, Chauvin F. Autologous Bone Marrow Transplantation as Compared with Salvage Chemotherapy in Relapses of Chemotherapy-Sensitive Non-Hodgkin's Lymphoma. *N Engl J Med.* VOL 333 NO 23. 1995;1540-5.
38. Neelapu SS, Locke FL, Bartlett NL, Go WY. Axicabtagene Ciloleucel CAR T-Cell Therapy in Refractory Large B-Cell Lymphoma. *N Engl J Med.* VOL. 377 NO. 26. 2017;2531-44.
39. Schwartz DC, Jun Li X, Hernandez L, Wang YK. Ordered Restriction Maps of *Saccharomyces cerevisiae* Chromosomes Constructed by Optical Mapping. *Science.* 1993;110-4.
40. Cao H, Hastie AR, Lam ET, Huang H, Chan S, Andrews W. Rapid detection of structural variation in a human genome using nanochannel-based genome mapping technology. *GigaScience.* Volume 3. 2014;
41. Cai W, Aburatani H, Stanton VP, Schwartz DC. Ordered restriction endonuclease maps of yeast artificial chromosomes created by optical mapping on surfaces. *PNAS.* 1995;5164-8.
42. Meng X, Benson K, Chada K, Huff EJ, Schwartz DC. Optical mapping of lambda bacteriophage clones using restriction endonucleases. *Nature Genetics.* 9<sup>e</sup> éd. 1995;432-8.
43. Jing J, Reed J, Huang J, Schwartz DC. Automated high resolution optical mapping using arrayed, fluid-fixed DNA molecules. *PNAS.* 1998;8046-51.
44. Yuan Y, Chung CYL, Chan TF. Advances in optical mapping for genomic research. *Computational and Structural Biotechnology Journal.* Volume 18. 2020;2051-62.
45. Barseghyan H, Tang W, Wang RT, Almalvez M, Nelson SF, Vilain E. Next-generation mapping: a novel approach for detection of pathogenic structural variants with a potential utility in clinical diagnosis. *Genome Medicine.* 9<sup>e</sup> éd. 2017;
46. Tyson C, Harvard C, Locker R, Friedman JM, Langlois S, Siegel-Bartel J, et al. Submicroscopic deletions and duplications in individuals with intellectual disability detected by array-CGH. *Am J Med Genet A.* 2005;173-85.
47. Dremsek P, Schwarz T, Weil B, Malashka A, Laccone F, Neesen J. Optical Genome Mapping in Routine Human Genetic Diagnostics—Its Advantages and Limitations. *Genes.* 2021;
48. Neveling K, Mantere T, Vermeulen S, Hoischen A. Next-generation cytogenetics: comprehensive assessment of 52 hematological malignancy genomes by optical genome mapping. *Genet.* 108<sup>e</sup> éd. 2021;1423-35.
49. Sahajpal N, 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.* 2021;398.

50. Goldrich DY, LaBarge B, Chartrand S, Sadowski HB, Zhang Y, Oldakowski M, et al. Identification of somatic structural variants in solid tumors by optical genome mapping. *J Pers Med*. 2021;142.
51. Valentin Lestringant, Nicolas Duployez, Dominique Penther, Claude Preudhomme, Guillaume Jedraszak, Yann Ferret. Optical genome mapping, a promising alternative to gold standard cytogenetic approaches in a series of acute lymphoblastic leukemias. *Genes Chromosomes and Cancer*. 2021;657-67.
52. Sahajpal N, Mondal A, Tvrdik T, Savage N, Hauenstein J. Clinical Validation and Diagnostic Utility of Optical Genome Mapping for Enhanced Cytogenomic Analysis of Hematological Neoplasms. *J Mol Diagn*. 2022;1279-91.
53. Georg Lenz, Inga Nagel, Reiner Siebert, Anna V. Roschke. Aberrant immunoglobulin class switch recombination and switch translocations in activated B cell–like diffuse large B cell lymphoma. *J Exp Med*. 2007;633-43.
54. Chia-Yu Yang; Ju-Pi Li; Li-Li Chiu; Joung-Liang Lan; Der-Yuan Chen; Huai-Chia Chuang; Ching-Yu Huang; Tse-Hua Tan. Dual-Specificity Phosphatase 14 (DUSP14/MKP6) Negatively Regulates TCR Signaling by Inhibiting TAB1 Activation. *J Immunol*. 2014;1547-57.
55. Bionano Solve Theory of Operation: Structural Variant Calling. Document Number: 30110 Document Revision: K.
56. Brynn Levy, Rashmi Kanagal-Shamanna, Nikhil S. Sahajpal, Kornelia Neveling, Katrina Rack. A framework for the clinical implementation of optical genome mapping in hematologic malignancies. 2 janv 2024; Disponible sur: <https://doi.org/10.1002/ajh.27175>
57. Rebecca J. Leeman-Neill, Dong Song, Jonathan Bizarro, Ludivine Wacheul, Gerson Rothschild, Sameer Singh, et al. Noncoding mutations cause super-enhancer retargeting resulting in protein synthesis dysregulation during B cell lymphoma progression. *Nature Genetics*. Volume 55. 2023;2160-74.
58. Ruifang Sun, L Jeffrey Medeiros, Ken H Young. Diagnostic and predictive biomarkers for lymphoma diagnosis and treatment in the era of precision medicine. *Mod Pathol* . 2016 Oct;29(10):1118-42. Disponible sur: doi: 10.1038/modpathol.2016.92. Epub 2016 Aug 1.
59. Wing Y Au, Douglas E Horsman, Randy D Gascoyne, David S Viswanatha, Richard J Klasa, Joseph M Connors. The Spectrum of Lymphoma with 8q24 Aberrations: A Clinical, Pathological and Cytogenetic Study of 87 Consecutive Cases. *Leukemia & Lymphoma*. Volume 45 Issue 3. 2003;519-28.
60. Hitoshi Ohno. Pathogenetic and Clinical implications of non-immunoglobulin ; BCL6 translocations in B-Cell Non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Exp Hematopathol*. Volume 46, No 2. 2006;
61. Takashi Akasaka, Izidore S. Lossos, Ronald Lev. BCL6 gene translocation in follicular lymphoma: a harbinger of eventual transformation to diffuse aggressive lymphoma. *Blood*. Volume 102, Issue 4. 2003;1443-8.

62. Rashmi R Singh, Susana Ben-Neriah, Nathalie N Johnson, Joseph M Connors, Randy D Gascoyne, Douglas E Horsman. Identification of a novel non-immunoglobulin/MYC translocation t(8;12)(q24;p12) involving the LRMP gene in a primary B-cell lymphoma. A case report. *Leukemia Research*. Volume 36, Issue 1. 2012;e22-4.
63. S Tedoldi, J C Paterson, J Cordell, S-Y Tan, M Jones, S Manek, A P Dei Tos, H Robertson, N Masir, Y Natkunam, S A Pileri, F Facchetti, M-L Hansmann, D Y Mason, T Marafioti. Jaw1/LRMP, a germinal centre-associated marker for the immunohistological study of B-cell lymphomas. *Pathological Society of Great Britain and Ireland*. 2006;454-63.
64. Elias Campo. MYC in DLBCL: partners matter. *Blood* . 2015 Nov 26;126(22):2439-40. Disponible sur: PMID: 26612895 DOI: 10.1182/blood-2015-10-671362
65. Christiane Copie-Bergman, Peggy Cuillière-Dartigues, Maryse Baia, Josette Briere, Richard Delarue, Jean-Philippe Jais, Herve Tilly, Thierry Jo Molina, Philippe Gaulard. MYC-IG rearrangements are negative predictors of survival in DLBCL patients treated with immunochemotherapy: a GELA/LYSA study. *Blood* 2015 Nov 26;126(22):2466-74 [Internet]. Disponible sur: PMID: 26373676 DOI: 10.1182/blood-2015-05-647602
66. Andreas Rosenwald, Susanne Bens, anjana Advani, Sharon Barrans, Christiane Copie-Bergman, Yaso Natkunam, Alexandra Smith, Daphne de Jong, et al. Prognostic Significance of MYC Rearrangement and Translocation Partner in Diffuse Large B-Cell Lymphoma: A Study by the Lunenburg Lymphoma Biomarker Consortium. *J Clin Oncol* 2019 Dec 10;37(35):3359-3368 [Internet]. Disponible sur: doi: 10.1200/JCO.19.00743. Epub 2019 Sep 9.
67. Lauren A. Solomon, Carolina R. Batista, Rodney P. DeKoter. Lenalidomide modulates gene expression in human ABC-DLBCL cells by regulating IKAROS interaction with an intronic control region of SPIB. *Elsevier, Experimental Hematology*. Volume 56. déc 2017;46-57.
68. Suzan Guney, Fabrice Jardin, Philippe Bertrand, Sylvain Mareschal, Françoise Parmentier, Jean-Michel Picquenot, Hervé Tilly, Christian Bastard. Several mechanisms lead to the inactivation of the CDKN2A (P16), P14ARF, or CDKN2B (P15) genes in the GCB and ABC molecular DLBCL subtypes. *Genes Chromosomes Cancer* 2012 Sep;51(9):858-67 [Internet]. Disponible sur: doi: 10.1002/gcc.21970. Epub 2012 May 23.
69. Ling Li, Zijun Y. Xu-Monette, Chi Young Ok, Alexandar Tzankov, Ganiraju C. Manyam, Santiago Montes-Moreno, et al. Prognostic impact of c-Rel nuclear expression and REL amplification and crosstalk between c-Rel and the p53 pathway in diffuse large B-cell lymphoma. *Oncotarget* 2015 Sep 15; 6(27): 23157–23180 [Internet]. Disponible sur: Published online 2015 Jun 30. doi: 10.18632/oncotarget.4319
70. Juliana Knief, Niklas Gebauer, Veronica Bernard, Janina Schemme, Hendrik Lehnert, Alfred C. Feller, Christoph Thorns. Oncogenic Mutations and Chromosomal Aberrations in Primary Extranodal Diffuse Large B-Cell Lymphomas of the Thyroid—A Study of 21 Cases. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, Volume 100, Issue 2, 1 February 2015, Pages 754–762 [Internet]. Disponible sur: <https://doi.org/10.1210/jc.2014-3250>

71. Jenique Bailly, Nicholas Jenkins, Estelle R. Verburgh, Dharshnee Chetty, Zainab Mohamed, Jessica J. Opie. Plasmablastic lymphoma: An update. *Int J Lab Hematol* 2022 Sep; 44(Suppl 1): 54–63 [Internet]. Disponible sur: doi: 10.1111/ijlh.13863



## ANNEXE 1

[illegible]





Université de Lille  
UFR3S-Pharmacie  
**DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**  
Année Universitaire 23/24

**Nom : KLOS**

**Prénom : Corentine**

**Titre de la thèse : Évaluation et apport et de la cartographie optique du génome dans les lymphomes diffus à grandes cellules B**

**Mots-clés : Cartographie optique du génome (COG), Lymphome Diffus à Grandes Cellules B (DLBCL), cytogénétique, hématologie**

---

**Résumé :**

Cette étude évalue la cartographie optique du génome (COG) pour la mise en évidence des remaniements génétiques classants dans les lymphomes B agressifs, en particulier le lymphome diffus à grandes cellules B (DLBCL). L'objectif principal est de comparer la détection des anomalies par la COG par rapport aux méthodes cytogénétiques classiques, telles que le caryotype et l'hybridation in situ en fluorescence (FISH). Dans cette étude, 15 échantillons de patients atteints de lymphomes B agressifs ont été analysés avec la COG à partir de l'échantillon préalablement évalué en cytogénétique classique. La technique permet de détecter tous les remaniements de *BCL6*, *MYC* et *BCL2* observés en techniques standards et révèle un remaniement de *MYC* cryptique non détecté. Elle caractérise les partenaires de translocations *IG* et non-*IG*, et met en évidence d'autres anomalies additionnelles récurrentes dans les DLBCLs. En conclusion, la COG est un nouvel outil pangénomique offrant une détection précise et plus exhaustive des anomalies du DLBCL et des lymphomes B agressifs en une seule étape.

---

**Membres du jury :**

**Président :**

Madame le Professeur Stéphanie POULAIN, PU-PH, Laboratoire d'hématologie, CHU de Lille

**Directrice de thèse :**

Madame le Docteur Pauline ROYNARD, AHU, Laboratoire de cytogénétique, CHU de Lille

**Assesseur(s) :**

Madame le Docteur Doriane CAVALIERI, PH, Service d'hématologie clinique, CHU de Lille

Monsieur le Docteur Romain DUBOIS, PH, Laboratoire d'anatomopathologie, CHU de Lille