HAL
open science

Syndromes myélodysplasiques inclassables définis par une anomalie cytogénétique : étude rétrospective et multicentrique

Victor-Emmanuel Brett

To cite this version:

Victor-Emmanuel Brett. Syndromes myélodysplasiques inclassables définis par une anomalie cytogénétique : étude rétrospective et multicentrique. Sciences du Vivant [q-bio]. 2020. dumas-02967936

HAL Id: dumas-02967936

https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02967936v1

Submitted on 15 Oct 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

université de BORDEAUX

U.F.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année : 2020 Thèse n°90

THESE POUR L'OBTENTION DU

DIPLOME D'ETAT de DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement par

Victor-Emmanuel BRETT

Né le 28 février 1995 à Bordeaux

Le 18 septembre 2020

Syndromes myélodysplasiques inclassables définis par une anomalie cytogénétique : étude rétrospective et multicentrique.

Sous la direction des :
Dr Audrey BIDET
Dr Nicolas LECHEVALIER

Membres du jury :

M. SEVENET Nicolas	PU-PH	Président
Mme DIMICOLI-SALAZAR Sophie	PH	Examinatrice
M. MANSIER Olivier	AHU	Examinateur
M. TRIMOREAU Franck	PH	Examinateur
Mme BIDET Audrey	PH	Examinatrice
M. LECHEVALIER Nicolas	PH	Examinateur

Remerciements

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire d'hématologie spécialisée, à l'hôpital d'Haut-Levêque de Bordeaux, sous la direction des Docteurs Audrey BIDET et Nicolas LECHEVALIER.
Je tiens à les remercier de leur soutien, de leur confiance et de leurs nombreux conseils tout au long de la rédaction de cette thèse.

Je remercie le Professeur Nicolas SEVENET qui me fait l'honneur de présider ce jury de thèse. Je vous remercie de votre confiance et de l'intérêt que vous avez bien voulu porter à mon travail et vous prie d'accepter mes considérations respectueuses.

J'exprime ma sincère gratitude au Docteur Frank TRIMOREAU qui, sans hésiter, a soutenu ce projet et y a considérablement participé. Je le remercie de sa disponibilité et de son aide.

J'exprime au Docteur Sophie DIMICOLI-SALAZAR toute ma reconnaissance pour avoir accepté de juger ce travail de thèse en qualité d'examinateur.

Je remercie le Docteur Olivier MANSIER d'avoir accepté de juger ce travail de thèse en qualité d'examinateur.

A mes parents pour leur soutien indéfectible au cours de ces études, à mon frère pour nos éclats de rires et à ma grand-mère pour sa présence constante.

A Thibault, Steven, Cyrille et Bobo sans qui ces années de fac et d'internat n'auraient eu la même saveur.

A mes co-internes rencontrés au cours de ces trois dernières années.

Merci.

Table des matières

Remerciements 3
Introduction 7
Partie I : Généralités sur les syndromes myélodysplasiques 9
I. Les Syndromes Myélodysplasiques 9
A. Épidémiologie 9
B. Physiopathologie 10
C. Clinique 14
D. Examens biologiques 15
1) Cytologie 15
i. Définition de la dysplasie 16
ii. Dysérythropoïèse 17
iii. Dysgranulopoïèse 19
iv. Dysmégacaryopoïèse 23
v. Décompte des blastes. 25
2) Caryotype 26
3) Biologie moléculaire 28
4) SNP array 29
5) Cytométrie en flux 30
6) Autres examens biologiques 31
E. Classification OMS des Syndromes Myélodysplasiques. 32
F. Pronostic 34
1) Score IPPS (International Prognostic Scoring System) 34
2) Score WPSS (WHO-based Prognostic System) 35
3) Score IPPS-R (Score IPSS révisé) 36
G. Traitement 39
1) Traitements symptomatiques 39
2) Traitements spécifiques 41

II. Syndromes Myélodysplasiques Inclassables 42
A. Généralités.....42
B. Classification.....42
1) MDS-U avec 1 % de blastes circulants (MDS-U-B). 43
2) MDS-U unilignée associé à une pancytopénie (MDS-U-P) 44
3) MDS-U défini par une anomalie cytogénétique (MDS-U-C) 44
C. Évolution 45
D. Quid des états pré-dysplasiques ? 45
Partie II : étude multicentrique des syndromes myélodysplasiques inclassables définis par une anomalie cytogénétique.....49
I. Objectifs de l'étude.....49
II. Matériel et Méthodes 50
A. Sélection des patients 50
B. Évaluation de la dysplasie.....51
C. Caryotype.....51
III. Résultats 52
A. Sélection des patients. 52
i. Dysérythropoïèse 55
ii. Dysgranulopoïèse.....55
iii. Dysmégacaryopoïèse 56
B. Caractéristiques de la cohorte.....57
1) Description de la cohorte 57
2) Cytologie : analyse quantitative 58
i. Cellularité 58
ii. Lignée Mégacaryocytaire.....58
iii. Cellules immatures.....59
3) Étude du caryotype.....59
4) Répartition des MDS-U selon les scores IPSS et IPSS-R 64
5) Évolution des patients.....67

IV. Discussion 70

Conclusion 79
Bibliographie 81
Table des Figures 87
Table des Tableaux.....89
Liste des abréviations 90
Annexes.....93

I. Classification des anomalies morphologiques dysplasiques :.....93

A. Dysérythropoïèse 93
B. Dysgranulopoïèse 94
C. Dysmégacaryopoïèse.....95

II. Exemple d'anomalies morphologiques de dysmyélopoïèse. 96

A. Dysérythropoïèse 96
B. Dysgranulopoïèse 98
C. Dysmégacaryopoïèse.....100

III. Fiche de renseignements.....101
IV. Panel myéloïde Illumina Capture^{CM} Agilent 109

Introduction

Les syndromes myélodysplasiques (SMD) représentent un groupe hétérogène d'hémopathies affectant principalement les sujets âgés. Le terme dysplasie est dérivé du grec, le préfixe *dys* exprimant une difficulté et *plásis* l'action de façonner. Il est utilisé pour désigner un ensemble d'anomalies du développement des cellules médullaires, observables par microscopie. C'est, en termes de fréquence, la quatrième hémopathie la plus courante, avec une incidence mondiale de 3 à 5 cas pour 100 000 habitants et par an avant 60 ans et augmentant progressivement jusqu'entre 25 et 45 cas pour 100 000 habitants par an après 70 ans. (1)
Qualifiés pendant longtemps d'états pré-leucémiques, les SMD sont devenus une hémopathie à part entière en 1976 lors de la publication de la classification Franco-Américano-Britannique (FAB). De nombreuses classifications se sont succédées, la plus récente étant la révision de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) en 2016.

L'évolution des outils diagnostiques a permis d'affiner la catégorisation des hémopathies malignes en ajoutant des critères cytogénétiques aux sous-types cytologiques offrant la possibilité aujourd'hui d'estimer avec une meilleure précision leur incidence et ainsi de mieux orienter les cliniciens en matière de diagnostic, de prise en charge et de piloter les recherches sur des facteurs de risque potentiels nécessaires à la prévention.
Une entité reste cependant à part dans la classification OMS : les syndromes myélodysplasiques inclassables (MDS-U). La dénomination, pour la première fois mentionnée en 2008, est maintenue dans la révision de 2016. Parmi les critères proposés pour catégoriser en MDS-U certaines cytopénies sans signe franc de dysplasie (<10%), ni excès de blastes, figure la mise en évidence d'une anomalie cytogénétique caractéristique. (2)

Si l'incidence des MDS-U a été estimée à 6,3% des cas (3), celle des MDS-U définis par une anomalie cytogénétique reste inconnue de même que leur pronostic. Pour ne pas sous-évaluer cette entité, les laboratoires font face à une augmentation des demandes de

caryotypes dans le cadre de cytopénie(s) non étiquetée(s) et pour laquelle (lesquelles) le myélogramme n'a pas fait la preuve de dysplasie.

L'objectif principal de ce travail est de déterminer si la seule présence d'une anomalie cytogénétique associée à une cytopénie permet réellement de définir cette entité de SMD inclassable et, si tel est le cas, essayer d'établir les caractéristiques clinico-biologiques de cette entité.

Partie I : Généralités sur les syndromes myélodysplasiques

I. Les Syndromes Myélodysplasiques

A. Épidémiologie

Les syndromes myélodysplasiques regroupent un ensemble hétérogène d'hémopathies affectant les cellules souches pluripotentes et les progéniteurs des trois lignées hématopoïétiques myéloïdes : érythrocytaire, mégacaryocytaire et granulocytaire. Ils sont caractérisés par une hématopoïèse inefficace responsable de cytopénies sanguines qui contrastent avec une moelle généralement riche (insuffisance médullaire qualitative avec avortement intramédullaire). Les SMD évoluent fréquemment en leucémie aiguë myéloïde (LAM), entre 10% pour les formes de bas risque et plus de 40% pour les formes à haut risque, et constituent les états pré-leucémiques les plus courants chez l'adulte. (4)

Au diagnostic, la médiane d'âge est de 70 ans avec une légère prédominance masculine, le sex-ratio homme/femme étant évalué à 1,23. Leur cause est le plus souvent inconnue. Dans 15 à 20 % des cas, les SMD sont secondaires à l'exposition à une chimiothérapie, associés ou non à une radiothérapie, ou encore à une greffe de cellules souches hématopoïétiques (2,5). Les agents thérapeutiques impliqués dans la survenue de ces SMD comprennent principalement les alkylants (cyclophosphamide, melphalan, dérivés du platine…) et les inhibiteurs de la topoisomérase II (etoposide, doxorubicine, daunorubicine).

Plus rarement, ils peuvent être la conséquence d'une exposition au benzène, à d'autres hydrocarbures aromatiques ou, éventuellement, à des produits utilisés dans l'agriculture (pesticides, herbicides, engrais).

Certaines hémopathies congénitales telles que l'anémie de Fanconi, les syndromes de Diamond-Blackfan et Shwachmann-Diamond sont associées à un risque augmenté de SMD.(1)

B. Physiopathologie

La physiopathologie exacte d'apparition des SMD et l'évolution en leucémie aiguë restent encore imparfaitement connues. Cependant, un modèle de leucémogenèse en plusieurs étapes a été proposé où une cellule souche hématopoïétique (CSH) normale acquiert successivement plusieurs anomalies génétiques, aboutissant à une transformation maligne et à une expansion clonale (6). La mutation initiale de la CSH, causée par des toxiques chimiques, des radiations ionisantes ou par mutation endogène aléatoire, conduit à des anomalies de la différenciation des progéniteurs myéloïdes associées à une augmentation précoce de l'apoptose. Ces dernières années, d'importants progrès technologiques dans le séquençage ont permis de mieux cerner sur le plan moléculaire ces mutations fondatrices caractéristiques des SMD. On peut les diviser en quatre grandes catégories : les altérations de la méthylation de l'ADN, de l'épissage de l'ARN, les modifications de la chromatine et les anomalies non épigénétiques. Ces dernières comprennent les gènes impliqués dans la dégradation de l'ADN et la réponse au stress, la régulation de la transcription et la séparation des chromatides sœurs. (7) (Figure 1).

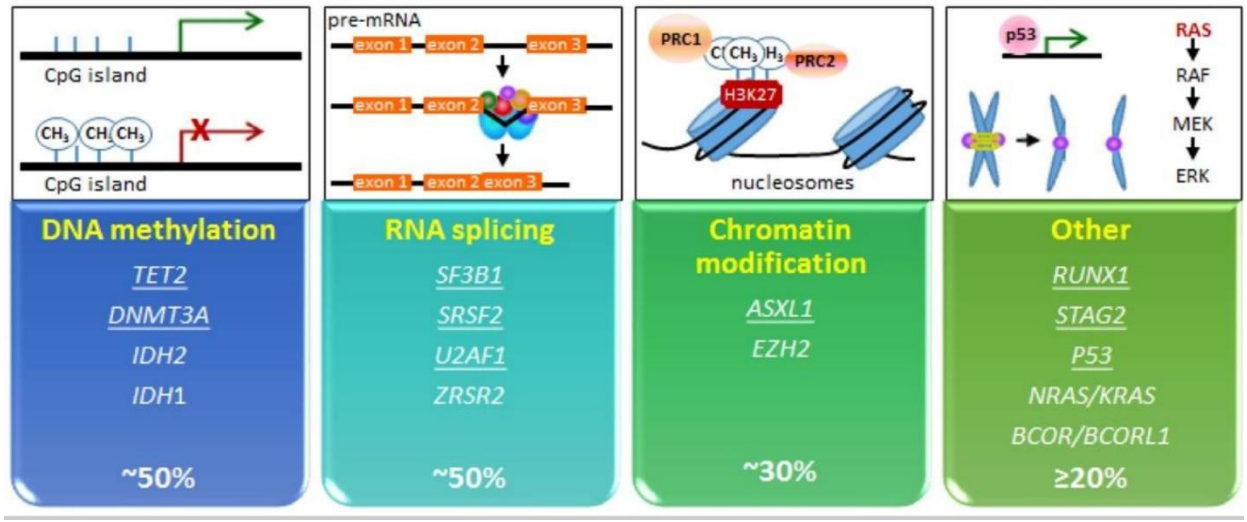

Figure 1 : Catégories de gènes couramment mutés dans les SMD. (7)

On estime que dans près de 80 % des SMD, au moins un de ces gènes sera muté (8). Leur fréquence est présentée en figure 2. Certaines de ces mutations ont un impact phénotypique, à l'instar de *SF3B1* dans les SMD avec excès de sidéroblastes. Il n'a été pas

mis en évidence d'anomalie morphologique associée à d'autres mutations, évoquant qu'elles pourraient être la conséquence d'une possible association d'allèles mutés. (9)

Malgré leur hétérogénéité, ces mutations ont montré un intérêt significatif dans le pronostic. S'il est variable selon leur nature, il a été démontré que la survie médiane est inversement corrélée au nombre retrouvé. Elles représentent également d'éventuels débouchés de thérapies ciblées. (10)

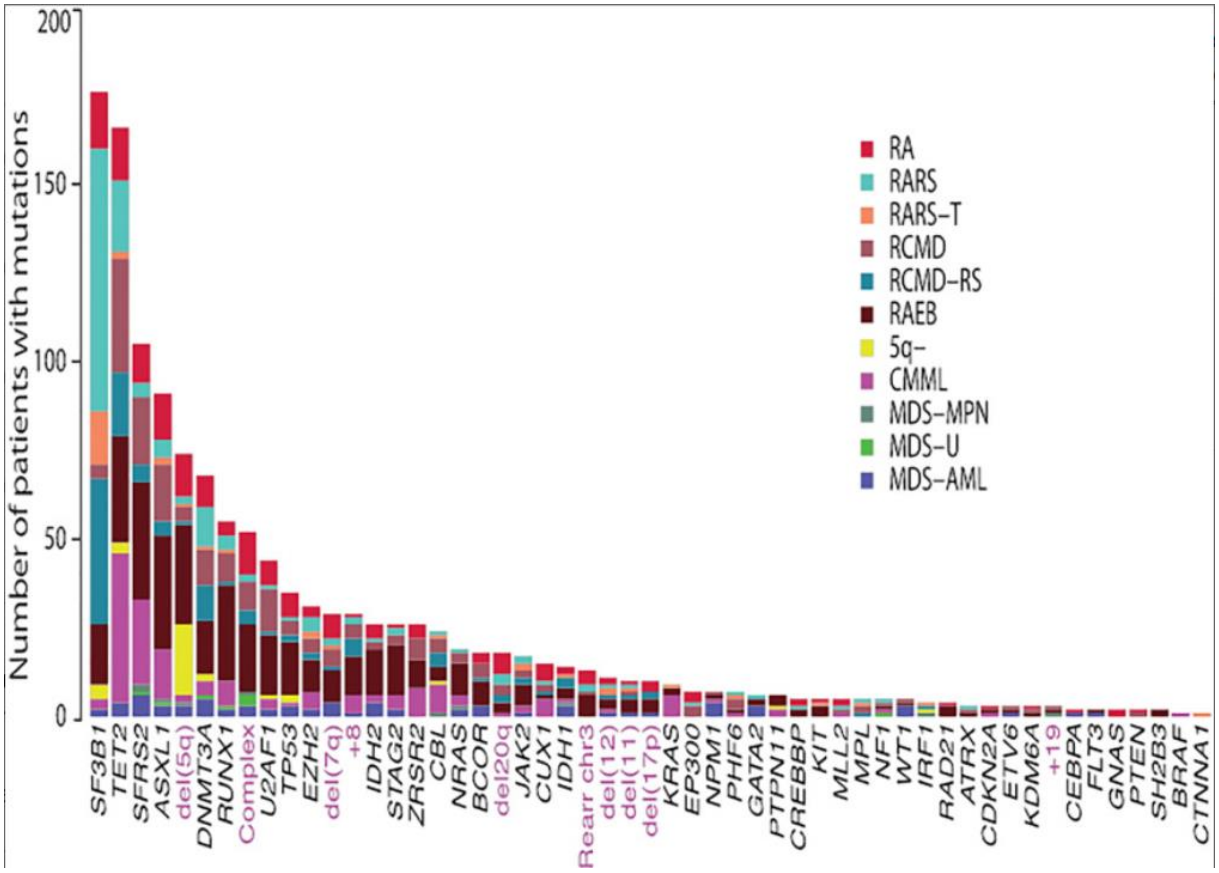

Figure 2 : Distribution des évènements mutationnels dans les SMD. (10)

Le premier clone myélodysplasique peut ensuite acquérir d'autres anomalies génétiques touchant le contrôle du cycle cellulaire (p53, cohésine) ou des facteurs de transcription affectant la division des cellules myéloïdes et conduisant à l'expansion clonale du contingent anormal par avantage prolifératif. Le développement de ce clone dysplasique

se traduit alors par une insuffisance médullaire qualitative, la richesse de la moelle étant normale ou augmentée, responsable des cytopénies périphériques.(11)

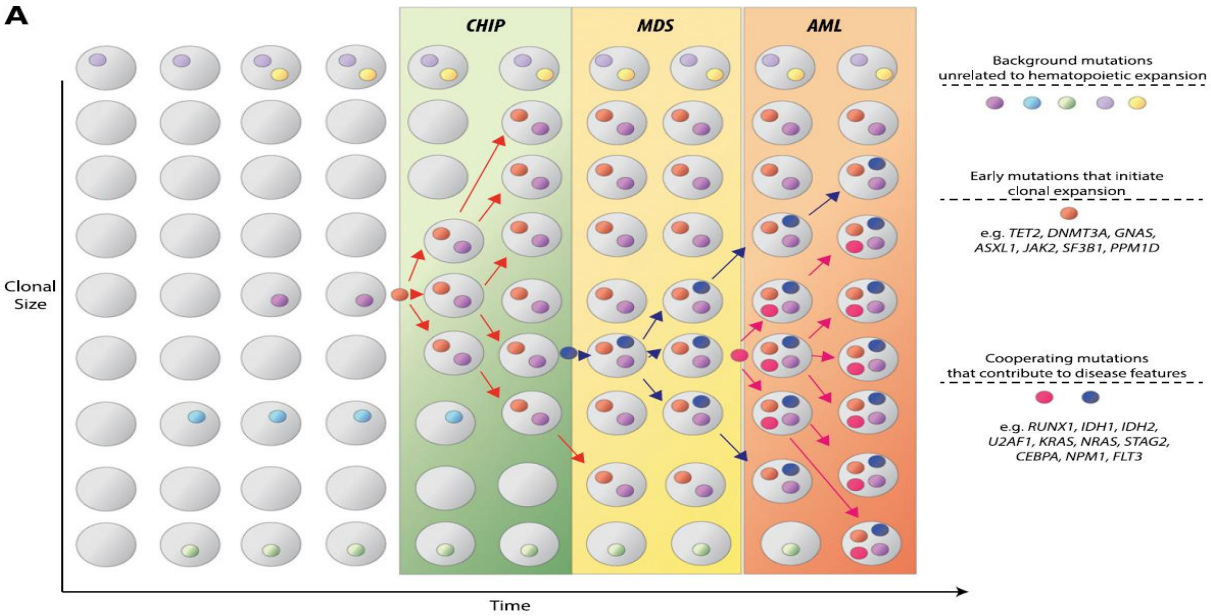

Figure 3 : Modèle évolutif de l'hématopoïèse normale vers l'hématopoïèse clonale et, éventuellement, une hémopathie. (12)

Enfin, l'instabilité génétique du clone favorise l'apparition d'anomalies additionnelles, aboutissant à la formation de sous-clones aux capacités de maturations et de différenciation altérées précipitant l'évolution vers la leucémie aiguë, avec un blocage cellulaire à un stade précoce de l'hématopoïèse. (9)

L'interaction entre la CSH et le micro-environnement médullaire altéré est une autre caractéristique à prendre en compte dans la physiopathologie de la maladie. L'inflammation joue un rôle dans des processus pathologiques variés comme les maladies cardiovasculaires ou auto-immunes. Des cytokines et médiateurs inflammatoires sont relargués, provoquant un déséquilibre dans la balance immune. Ce déséquilibre, associé aux cellules myéloïdes suppressives (CMS), des cellules immatures capables d'inhiber les fonctions des lymphocytes T, pourrait représenter le facteur clé de la physiopathologie des SMD. Il a été montré que ces CMS étaient retrouvées en quantité augmentée chez les

patients atteints de SMD et émettaient des cytokines régulatrices des lymphocytes T comme l'IL-10 ou le TGFβ de même que d'autres médiateurs pro-inflammatoires comme les dérivés réactifs de l'oxygène (ROS). L'accumulation de ces cellules s'accroit avec l'âge. (13) (figure 4)

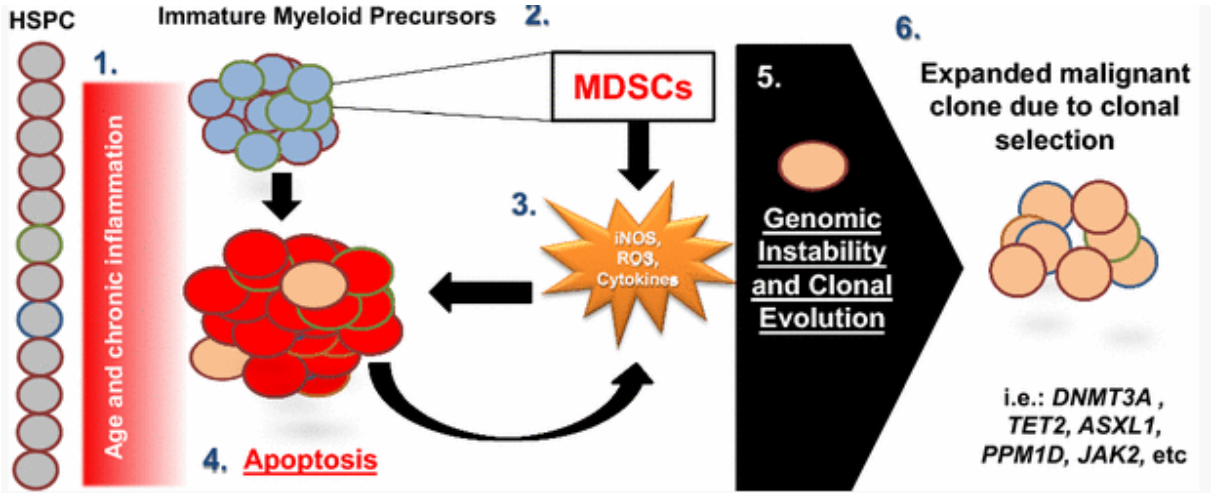

Figure 4 : Modèle inflammatoire de la pathogenèse des SMD induit par le microenvironnement de la moelle osseuse chez les personnes âgées. (13)

C. ***Clinique***

Un tiers des cas de SMD sont asymptomatiques et découverts fortuitement lors d'une Numération/Formule sanguine (NFS) de contrôle ou dans l'exploration d'une autre affection. Lorsqu'ils sont symptomatiques, la présentation clinique des SMD est variée. Elle est souvent liée aux cytopénies secondaires à l'insuffisance médullaire.
Les signes liés l'anémie sont les plus révélateurs (80% des cas). Généralement bien supportés car progressifs, ils comprennent une pâleur, une asthénie et une tachycardie.
Les manifestations infectieuses liées à la neutropénie sont moins courantes (10% des cas), le risque devenant élevé si les polynucléaires neutrophiles passent sous le seuil de 0,5 G/L. La dysplasie entraîne de plus un déficit fonctionnel.
Enfin, plus rarement, des signes hémorragiques spontanés (5% des cas), à prédominance cutanéo-muqueuse, peuvent être observés. Leur fréquence n'est pas proportionnelle à la profondeur de la thrombopénie, une thrombopathie étant souvent associée.

L'examen clinique et l'interrogatoire rechercheront avant tout le retentissement des cytopénies. Cette évaluation sera confrontée à leur impact sur les comorbidités, fréquentes à cet âge (atteinte vasculaire, cardiaque, insuffisance respiratoire). Une splénomégalie peut être mise en évidence, sa survenue devant faire rechercher un syndrome frontière myélodysplasique/myéloprolifératif.

Enfin, des manifestations auto-immunes peuvent se manifester dans 10 à 20 % des cas. Les études tendent à suggérer une prépondérance chez les patients jeunes, généralement féminins, avec un score pronostic de plus haut risque. Les SMD avec dysplasie multilignée et ceux avec excès de blastes de type 1 sont plus souvent concernés (14). On peut schématiquement les séparer en deux classes : les formes systémiques (vascularites et connectivites) et celles avec atteinte d'organe prédominante (dermatoses neutrophiliques ou syndrome de Sweet et les accès rhumatologiques inflammatoires).

L'évolution clinique est variable. Le décès des patients est le plus souvent lié aux complications des cytopénies, à l'acutisation en LAM ou aux conséquences cardiaques ou hépatiques de l'hémosidérose secondaire.

D. Examens biologiques

1) Cytologie.

La mise en évidence des cytopénies est établie par la réalisation d'une NFS.

L'anémie est définie par le seuil critique d'une hémoglobinémie inférieure à 13 g/dL de sang pour un homme et 12 g/dL pour une femme (15). 50% des patients présentent une anémie inférieure à 10 g/dL. Elle est généralement normochrome, macrocytaire (mais peut-être normocytaire) et arégénérative.
Des anomalies qualitatives des hématies peuvent aussi être observées sur le frottis sanguin notamment une anisocytose, une poïkilocytose, des ponctuations basophiles…

On parle de neutropénie quand le taux de polynucléaires neutrophiles est inférieur à 1,5 G/L (15). Ils peuvent présenter certaines altérations évoquant une dysgranulopoïèse : dégranulation, hyposegmentation ou hypersegmentation nucléaire…

Enfin, la thrombopénie est définie par un taux de plaquettes en dessous du seuil critique de 150 G/L.(15) Les anomalies morphologiques témoignant d'une dysmégacaryopoïèse à rechercher sur le frottis comprennent la présence de plaquettes géantes, de microplaquettes, de micromégacaryocytes ou de granulations anormales ou absentes.

En parallèle, l'élément clé du diagnostic de SMD repose sur l'analyse cytologique d'une ponction sternale ou iliaque de moelle osseuse (myélogramme). Il permet d'objectiver les anomalies morphologiques caractéristiques et de classer cytologiquement la maladie. Il offre également la possibilité d'effectuer des examens complémentaires diagnostiques et pronostiques (caryotype, biologie moléculaire, cytométrie en flux).

La biopsie ostéo-médullaire n'est considérée comme indispensable que si l'aspiration médullaire n'est pas concluante, ne permettant notamment pas d'éliminer une aplasie ou une myélofibrose.

i. Définition de la dysplasie

La classification des SMD proposée par l'OMS (2) se fonde largement sur des critères morphologiques pour caractériser la dysplasie. La plupart de ces anomalies ont été décrites pour la première fois en 1982 dans la classification FAB (Franco-Américano-Britannique) et leur caractérisation précise fait encore l'objet de nombreuses études.
Le référentiel de la Société Française d'Hématologie (SFH) de 2009 énonce les examens obligatoires pour le diagnostic des SMD : NFS, myélogramme avec étude morphologique et quantification de la ou des dysplasies ainsi qu'une coloration de Perls de la moelle osseuse (niveau de pertinence A). La description de la dysplasie est considérée comme un facteur biologique pronostique et de nombreux liens entre cytologie et cytogénétique ont été prouvés. (16)

Une moelle dysplasique peut être caractérisée par trois critères essentiels :

- Par une cellularité normale ou augmentée, contrastant avec les cytopénies périphériques, témoin d'une hématopoïèse inefficace.
- Par le pourcentage de blastes médullaires, autre critère fondamental dans la classification des SMD.
- Par des anomalies qualitatives touchant une ou plusieurs lignées cellulaires sur au moins 10% des éléments d'une lignée.

Malgré des définitions précises, l'évaluation de ces anomalies peut être ardue et demande une expertise cytologique confirmée. Son appréciation peut parfois être sujette à interprétation aussi bien d'un point de vue qualitatif que quantitatif et dépend de nombreux facteurs, dont la qualité du frottis médullaire. De plus, une dysplasie n'est pas une preuve certaine de clonalité. (17)

Ainsi, plusieurs études ont montré :

- Une reproductibilité variable dans l'évaluation de la dysplasie entre différents cytologistes. (18)
- La présence d'une dysplasie significative > 10% chez des patients sains, avec une atteinte variable selon l'âge. (19)

- Une plus grande significativité de la dysgranulopoïèse et de la dysmégacaryopoïèse que de la dysérythropoïèse.
- Que le seuil de 10% peut s'avérer non discriminant en particulier dans la dysmégacaryopoïèse où le nombre de cellules observées est faible. Cela conduit à proposer d'autres limites plus pertinentes.(19,20)

Plusieurs groupes de travail, notamment l'IWGM-SMD (International Working Group on Morphology of Myelodysplastic Syndromes) ont donc été constitués afin d'améliorer et d'harmoniser les pratiques pour un meilleur diagnostic de ces entités.

ii. Dysérythropoïèse

Plusieurs précurseurs issus de la différenciation des cellules souches myéloïdes érythroïdes (CFU-E) jusqu'au stade ultime de la lignée, l'érythrocyte peuvent être identifiés morphologiquement.
Au cours de cette différenciation, on observe progressivement une réduction de la taille de la cellule et du noyau central avec une condensation de sa chromatine. La synthèse d'hémoglobine acidophile augmente graduellement masquant la basophilie cytoplasmique liée à l'ARN libre. (Figure 5)

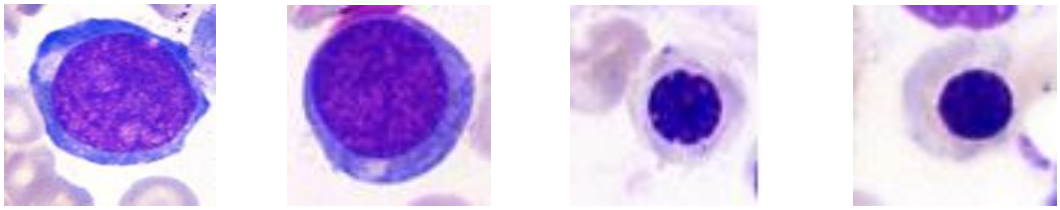

Figure 5 : Érythropoïèse physiologique. De gauche à droite : Proérythroblaste, érythroblaste basophile, érythroblaste polychromatophile et érythroblaste acidophile. (21)

Évaluer la dysérythropoïèse peut être difficile, avec de nombreux critères imprécis et peu spécifiques. La classification OMS des hémopathies indique qu'il est nécessaire que 10% des érythroblastes présentent des anomalies cytologiques ou cytochimiques caractéristiques pour que la lignée soit considérée comme dysplasique. Elle décrit plusieurs atteintes morphologiques que l'on peut diviser en fonction de leur nature nucléaire ou cytoplasmique. Cependant, si de nombreuses études ont prouvé la pertinence de ces

critères, certaines modifications morphologiques non précisées dans la littérature peuvent s'avérer importantes pour l'évaluation de la dysplasie. En 2018, Goasguen et al. ont présenté des travaux portant sur une comparaison de vingt myélogrammes lus par 7 cytologistes en double aveugle (22). Le but était de réussir à dégager clairement le spectre entier des anomalies morphologiques pouvant être retrouvées dans l'évaluation de la dysérythropoïèse. Les anomalies retenues dans cette étude sont décrites ci-dessous et détaillées en Annexe 1.

Anomalies nucléaires :

- Érythroblaste avec bourgeonnement ou lobulation nucléaire.
- Pont internucléaire : bande de chromatine reliant deux érythroblastes.
- Caryorrhexis : noyau pycnotique en désintégration (chromatine dense avec perte de structure). Ces noyaux peuvent présenter des lobulations, mais ne sont pas associés à des fragmentations du noyau. Bien que décrite dans la classification OMS, cette anomalie a été variablement observée et considérée par l'étude comme assez peu spécifique.
- Érythroblastes bi-nucléaires.
- Érythroblaste présentant trois ou plus noyaux.
- Érythroblaste avec deux ou plus noyaux dont la taille et le degré de condensation de la chromatine diffèrent.
- Mégaloblaste : érythroblaste de taille augmentée présentant un asynchronisme de maturation nucléo-cytoplasmique (la chromatine est plus fine ou décondensée qu'attendu au vu du degré de maturation cytoplasmique)
- Macronormoblaste : érythroblaste de taille augmentée sans asynchronie nucléo-cytoplasmique.
- Fragment nucléaire : inclusion cytoplasmique composée de chromatine condensée de type corps de Howell-Jolly. (Peut être le résultat d'un bourgeonnement du noyau ou représenter un chromosome détaché du fuseau mitotique lors de la mitose)
- Érythroblaste géant. Peut présenter un cytoplasme fin, être multi-nucléé ou avoir un noyau polylobé.
- Figure mitotique.

Anomalies cytoplasmiques :

- Érythroblastes reliés par des ponts cytoplasmiques.
- Présence de vacuoles cytoplasmiques. Anomalie de grande sensibilité et spécificité, en particulier les vacuoles positives à l'acide de Shiff (PAS). D'autres types peuvent être observés comme des vacuoles de formes irrégulières et fusionnantes, rondes ou contenant des traces de débris pouvant évoquer des vacuoles autophagiques.
- Défaut d'hémoglobinisation (zones de cytoplasme feuilleté). Cette diminution de l'hémoglobine cytoplasmique des érythroblastes peut être évocatrice d'une anémie sidéroblastique, détectable grâce à la mise en évidence de fer ferrique précipitant sous forme de granules bleu-vert ou corps de Pappenheimer, identifiables à la coloration de Perls.
- Ponctuations basophiles : inclusions basophiles multiples, dispersées dans le cytoplasme et de taille variable.

iii. Dysgranulopoïèse

La granulopoïèse définit le phénomène de maturation médullaire des précurseurs granuleux aboutissant à la formation des polynucléaires neutrophiles, éosinophiles (PE) et basophiles (PB).

Le premier précurseur neutrophile qui peut être décrit morphologiquement est le myéloblaste, se divisant successivement en promyélocyte, en myélocyte, puis en métamyélocyte. À ce stade, la division cellulaire s'arrête et le noyau se segmente en lobes pour produire les PNN. Au cours de cette différenciation, la chromatine se condense progressivement et le cytoplasme perd sa basophilie (diminution de la quantité d'ARN) tandis que les granulations (azurophiles pour les PNN, éosinophiles pour les PE et basophiles pour les PB) apparaissent en grand nombre (figure 6).

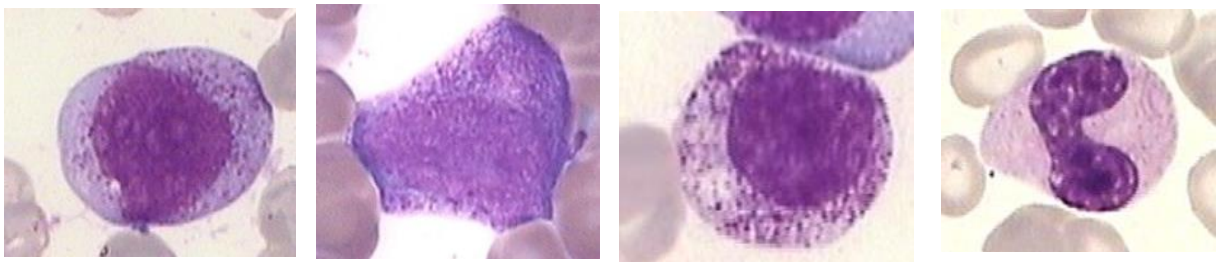

Figure 6 : Granulopoïèse. De gauche à droite : myéloblaste, promyélocyte, myélocyte, métamyélocyte. (23)

La formule d'Arneth (24) précise que le noyau d'un polynucléaire neutrophile mature possède 3 à 5 lobes reliés soit par un fil de chromatine, soit par un pincement dépassant la moitié de l'épaisseur nucléaire.

On peut citer six anomalies morphologiques principales dans la caractérisation de la dysgranulopoïèse.

- Hypogranulation ou agranulation des progéniteurs granuleux.

L'évaluation de l'hypogranulation étant difficilement reproductible entre les différentes observations, le groupe d'étude de Goasguen et *al*, composé de 7 cytologistes, publié dans *Leukemia Research* a estimé qu'une réduction de 2/3 ou plus des granules était un élément caractéristique de dysplasie. (25)

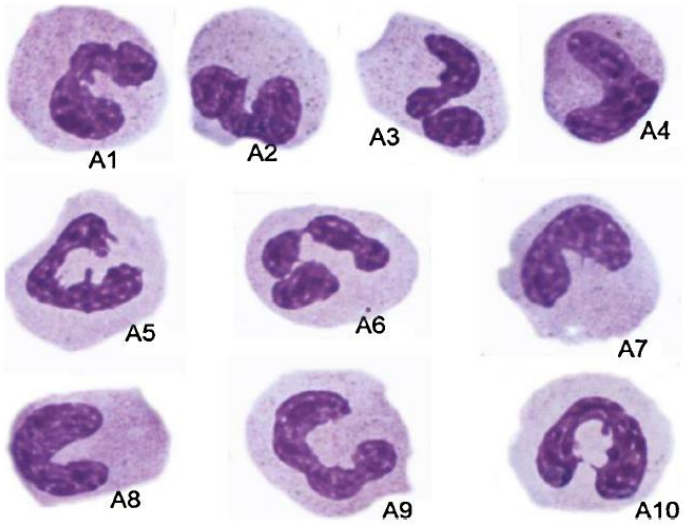

Figure 7 : Neutrophiles médullaires classés en fonction de la richesse de leur contenu granulaire. (25)

La présence de précurseurs dégranulés est considérée comme hautement spécifique, mais son interprétation est dépendante de la qualité du frottis et de la coloration. À noter que l'évaluation de la granulation des polynucléaires neutrophiles matures doit être interprétée selon l'âge du patient.

- Noyaux de type pseudo-Pelger-Huet (figure 8) : noyau en bissac (ovalaires) reliés par un segment fin de chromatine ou hyposegmenté (strictement inférieur à 3 lobes). Ce fut la première anomalie morphologique décrite, il y a plus de cent ans.

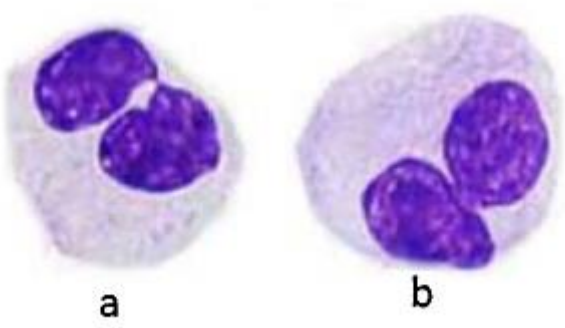

Figure 8 : Polynucléaires Pseudo-Pelger-Huet. (25)

- Hypersegmentation ou segmentation irrégulière du noyau, strictement supérieure à cinq lobes
- Condensation anormale de la chromatine : larges blocs de chromatine séparés de zones claires, mimant une fragmentation nucléaire. Si la notion est ancienne (décrite en 1970 par Gutske (26)), le degré de condensation pathologique est difficile à définir.
- Projections du noyau (drumsticks), aussi appelées caryoschize (figure 9): petit appendice nucléaire d'environ 1,5 µm de diamètre attaché au noyau par un fin filament.

  À noter que la présence d'un drumstick « physiologique » peut être observée chez un sujet de sexe féminin. Cette projection du noyau est consécutive à la lyonisation du deuxième chromosome X. C'est toutefois une manifestation rare, évaluée à 3% des neutrophiles (27). L'apparition d'un drumstick chez l'homme est donc évocatrice

d’une dysplasie, de même que l’apparition de plus d’une projection chez la femme, soit en termes de dysplasie soit dans l’évocation d’anomalies constitutionnelles du nombre de chromosomes.

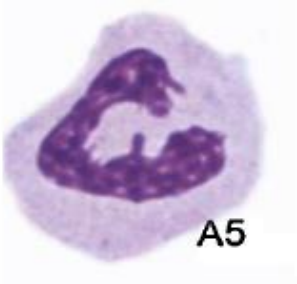

Figure 9 : Polynucléaire avec présence de deux drumsticks. (25)

- Neutrophiles géants ou macropolycyte (figure 10). Ils sont au moins deux fois plus grands qu’une cellule normale (volontiers > 20 µm), souvent associés à une segmentation nucléaire anormale.

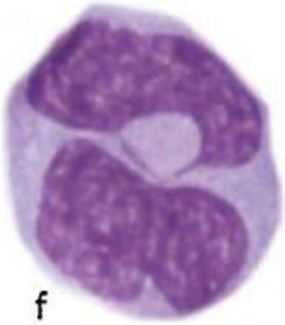

Figure 10 : Polynucléaire géant. (25)

D’autres anomalies morphologiques peuvent être apparentées à de la dysgranulopoïèse comme la persistance d’une basophilie cytoplasmique, constituant des corps de Döhle, la présence de corps d’Auer ou de granules de type pseudo Chédiak-Higashi.

iv. Dysmégacaryopoïèse

Les mégacaryocytes sont des cellules larges (50-100 µm) avec un cytoplasme mature où l'on peut observer des formations granulaires et la démarcation de pro-plaquettes dans certains cas. Il possède un noyau à la chromatine condensée et habituellement polylobé avec une quantité d'ADN variable, allant de 4N à 64N. (Figure 11)

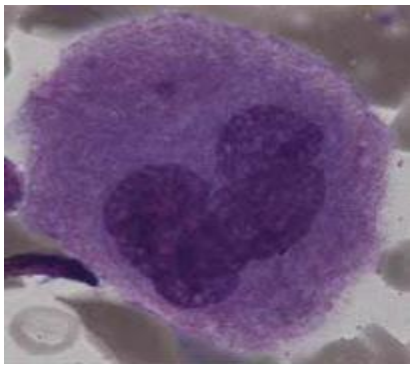

Figure 11 : Mégacaryocyte mature non dysplasique. (28)

Les recommandations de l'OMS édictent d'apprécier la dysmégacaryopoïèse sur au moins 30 mégacaryocytes. Dans cette catégorie, les atteintes morphologiques sont presque exclusivement nucléaires. (28)

- Mégacaryocytes de taille normale à noyau hypolobé (figure 12) présentant un noyau ovalaire ou rond et un cytoplasme mature. Cette anomalie est typique des SMD avec délétion du bras long du chromosome 5 (délétion 5q31), mais non pathognomonique.

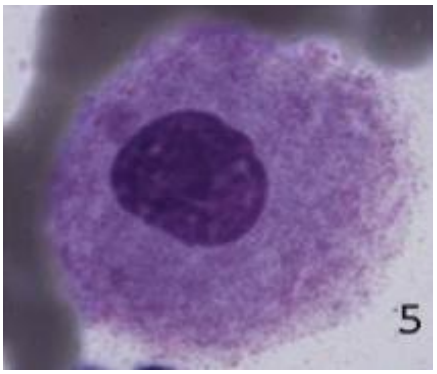

Figure 12 : Mégacaryocytes à noyau hypolobé. (28)

- Micromégacaryocytes (figure 13) : mégacaryocytes de très petite taille (<30 µm) caractérisés par un cytoplasme d'abondance variable, thrombocytogène ou non, souvent mononucléé et non lobé ou binucléé. C'est une anomalie morphologique retrouvée notamment dans les SMD (mais aussi dans la myélofibrose ou dans certaines leucémies aigues).

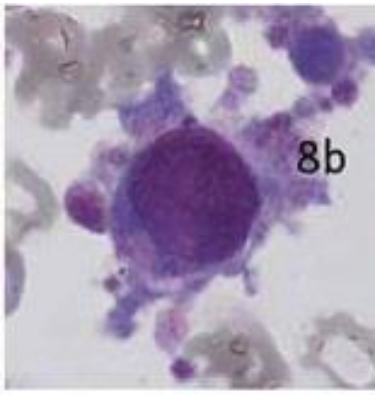

Figure 13 : Micromégacaryocyte mature. (28)

- Mégacaryocytes multinucléés (figure 14) : mégacaryocytes de taille supérieure à la moyenne, avec un degré de lobulation augmenté. S'ils sont retrouvés en grande quantité, cela peut faire évoquer un SMD, ou un syndrome frontière myélodysplasique/myéloprolifératif.

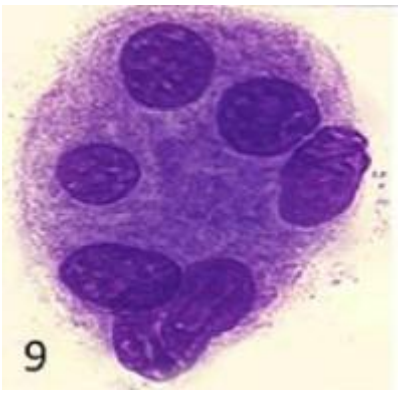

Figure 14 : Mégacaryocytes multi-nucléés. (28)

- Anomalies cytoplasmiques :

  a. Vacuolisation.
  b. Hypogranulation ou agranulation.
  c. Asynchronisme de maturation : persistance de la basophilie.

Elles ne sont pas citées dans les anomalies morphologiques caractéristiques des SMD par l'OMS 2016 et ne semblent pas montrer de sensibilité particulière pour distinguer les patients sains des patients myélodysplasiques.(28)

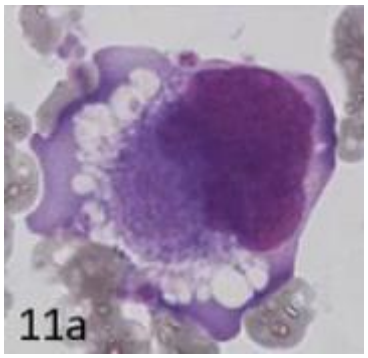

Figure 15 : Mégacaryocyte avec un cytoplasme vacuolisé. (28)

v. Décompte des blastes.

Étant un des piliers de la classification OMS, le dénombrement des cellules immatures doit être réalisé de manière rigoureuse. Les recommandations édictent d'effectuer ce compte sur 500 éléments pour obtenir la meilleure sensibilité possible.(2)

2) **Caryotype**

Le caryotype prend une place majeure dans le diagnostic et dans le pronostic des SMD. En effet, la présence d'anomalies cytogénétiques sur le caryotype médullaire évoque l'existence d'un clone pouvant être pathologique. De plus, un lien peut être établi entre certaines de ces anomalies, la morphologie et l'expression clinique. (8)

Le caryotype est effectué sur des cultures courtes du prélèvement médullaire avec ou sans facteur de croissance de la lignée myéloïde, selon les recommandations du Groupe Français de Cytogénétique Hématologique (GFCH) (29). Par définition, un clone est défini par deux métaphases ou plus présentant le même gain ou anomalie de structure (délétion, inversion ou translocation). Pour évaluer une perte de chromosome, la détection de l'anomalie sur au moins trois métaphases est nécessaire.
Le caryotype doit être systématique, à l'exception éventuellement de sujets très âgés où le diagnostic de SMD est certain et où le caryotype n'aurait aucun impact thérapeutique. Un minimum de 20 métaphases est analysé en l'absence de clone. Deux échecs consécutifs au caryotype justifient l'emploi d'une méthode par hybridation *in situ* en fluorescence (FISH). Dans ce cas, le Groupe Francophone des Myélodysplasies (GFM) recommande d'utiliser des sondes spécifiques des centromères des chromosomes 7 et 8 (CEP7/CEP8) et des sondes génomiques homologues des gènes *EVI1* et *TP53*. (30)

Des anomalies cytogénétiques sont décrites dans 30 à 50% des SMD primaires et jusqu'à 80% des SMD secondaires.(8)
Les plus fréquemment observées sont des délétions chromosomiques non aléatoires pour les SMD primitifs et des translocations pour les secondaires (Tableau 1).

Anomalie chromosomique		Fréquence	
		Ensemble des SMD	**SMD secondaire**
Déséquilibrées	Gain de chromosome 8*	10 %	
	Perte du chromosome -7 / del(7q)	10 %	50 %
	del (5q)	10 %	40 %
	del (20q)*	5-8 %	
	Perte du chromosome Y*	5 %	
	Isochormosome (17q) / t(17p)	3-5 %	25-30 %
	Perte du chromosome 13 / del(13q)	3 %	
	del(11q)	3 %	
	del(12p); t(12p)	3 %	
	del(9q)	1 - 2 %	
Équilibrées	t(11;16)(q23;p13)		3 %
	t(3;21)(q26;q22)		2 %
	inv(3)(q21q26); t(3;3)	1 %	
	t(1;3)(p36;q21)	1 %	
	t(2;11)(p21;q23)	1 %	
	t(6;9)(p23;q34)	1 %	

Tableau 1 : Anomalies chromosomiques récurrentes et leur fréquence (2)

À noter que la perte du chromosome Y, la trisomie 8 et la délétion 20q, bien que fréquentes dans ces pathologies, sont certes le reflet d'une pathologie myéloïde clonale mais ne permettent pas à elles seules de poser le diagnostic de SMD. En effet la trisomie 8 peut être retrouvée dans les syndromes myéloprolifératifs (SMP) ou les LAM de novo mais aussi de

manière constitutionnelle. La délétion 20q peut aussi être découverte dans les SMP, les myélofibroses primitives en particulier.
La perte du chromosome Y est quant à elle considérée comme peu spécifique car elle peut apparaître dans des conditions physiologiques, due à l'âge avancé des patients masculins, en particulier lorsqu'elle concerne un petit nombre de mitoses. Les SMD touchant une population majoritairement âgée, il est difficile d'attester de sa pertinence dans leur diagnostic. Cependant les études ont conclu que, quel que soit l'âge, si plus de 75% des cellules métaphasiques sont 45, X, -Y, la perte du chromosome Y représentait probablement une population clonale associée à la maladie. (31)

3) Biologie moléculaire

Les anomalies chromosomiques récurrentes ont un rôle d'orientation important pour la prise en charge des SMD car elles peuvent constituer un marqueur de prolifération clonale. Avec l'essor de la biologie moléculaire, une quarantaine de gènes cibles (notamment dans la méthylation de l'ADN, l'épissage de l'ARN, la modification des histones ou certains facteurs de transcription : *RUNX1, TP53*…) ont été identifiés, au moins une mutation somatique avec une fréquence d'allèle muté VAF > 2% étant décrite dans 78% des cas de SMD. 43% des SMD présenteront 2 à 3 mutations et jusqu'à 4 à 8 pour 10% d'entre eux.(32,33)

Certaines de ces mutations peuvent notamment jouer un rôle pronostic (particulièrement *RUNX1*, *TP53* et *EZH2* associés à une évolution péjorative ou favorable pour *SF3B1*) voire thérapeutique pour des thérapies ciblées (*IDH 1 et 2*, *FLT3* ou *TP53*).(34,35)
Ainsi, des propositions récentes de révisions des critères diagnostiques des SMD incluent la présence de mutations épigénétiques caractéristiques d'une clonalité comme co-critère chez des patients cytopéniques sans dysplasie significative (36,37). Cependant, ces mutations sont seulement évocatrices d'un SMD ou d'une évolution vers un état myélodysplasique.(38)
On pourrait alors supposer que leur séquençage pourrait avoir une sensibilité supérieure à l'étude du caryotype, sachant qu'uniquement 50% des patients atteints d'un SMD présenteront une anomalie cytogénétique. Néanmoins, aucune de ces anomalies n'est, comme pour les anomalies cytogénétiques, pathognomonique des SMD. En effet, certains gènes sont souvent retrouvés mutés dans les syndromes myéloprolifératifs ou les leucémies aiguës (*ASXL1*, *U2AF1* ou *SRSF2*), et parfois même peuvent être identifiés dans des hémopathies lymphoïdes (*SF3B1*, *TP53*, *TET2*, ou *DNMT3A*).

4) SNP array

Cette technique est fondée sur la capacité de certaines puces à ADN à mettre en évidence des polymorphismes mononucléotidiques (SNP arrays) et sont utilisées pour détecter les anomalies cytogénétiques non balancées (perte ou gain de segments de chromosome ou chromosome entier) dans l'ensemble du génome. Cette méthode offre une identification à haute résolution de variants qui peuvent ne pas être identifiables par l'analyse cytogénétique conventionnelle et les études FISH, à l'image des disomies uniparentales segmentaires (UPD). (39)

La SNP array peut donc être employée pour affiner le pronostic des patients grâce au caryotype moléculaire. En outre, elle ne nécessite pas de cellules proliférantes vivantes, et peut donc fournir des informations diagnostiques en cas d'échec du caryotype. (40)

Les analyses par SNP array trouvent leur intérêt chez des patients atteints de SMD, en particulier chez ceux ayant un caryotype normal, pour mettre en évidence la présence d'une hématopoïèse clonale. L'emploi combiné du caryotype avec la SNP array a montré une augmentation de la sensibilité de découverte des anomalies de 74% contre 59%, par rapport au caryotype seul, 20% des patients présentaient également des UPD (41).

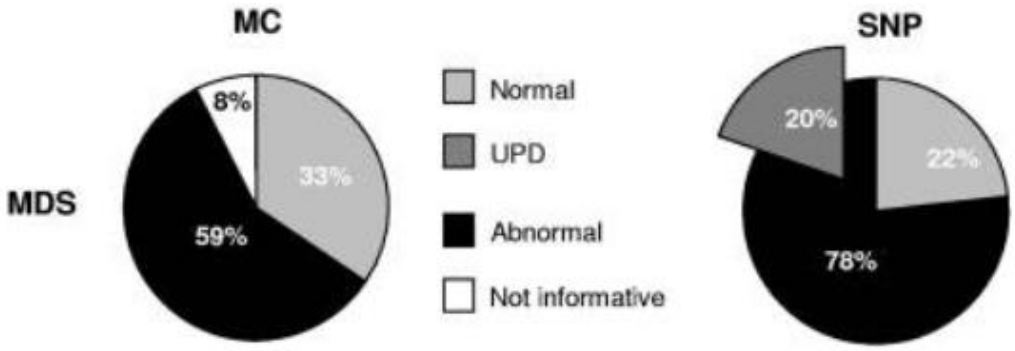

Figure 16 : Type, fréquence et nombre de lésions détectées par caryotype et SNP array. (41)

Historiquement, la SNP array a permis d'identifier certains gènes individuels impliqués dans la pathogenèse des hémopathies malignes, à l'image de *TET2* en 4q24, *TP53* en 17p13, *EZH2* en 7q36 et *c-CBL* en 11q23 (42).

5) Cytométrie en flux

Si la cytométrie en flux (CMF) n'est pas aujourd'hui entrée dans les critères d'évaluation des SMD définis par l'OMS, elle peut apporter des informations complémentaires utiles pour affiner l'orientation diagnostique des anomalies morphologiques et/ou cytogénétiques, établir le pronostic et suivre l'évolution de la maladie. (2,43)

La CMF permet de mettre en évidence des anomalies quantitatives et qualitatives. Les recommandations de l'European Leukemia Net (ELN) et de l'OMS décrivent par exemple plusieurs anomalies d'expression de certains marqueurs des précurseurs granuleux, des monocytes et des érythroblastes. Un minimum de trois anomalies détectées en CMF est nécessaire pour suggérer un SMD. On peut citer notamment une augmentation des progéniteurs myéloïdes CD34+ qui peut être associée à des expressions d'antigènes lymphoïdes aberrantes (CD2, CD5, CD19, CD56) ainsi qu'à une diminution des précurseurs lymphoïdes B. D'autre part, l'hypogranulation des granuleux peut être appréciée via le *Side Scatter* (SC).(44)

L'équipe d'Ogata a notamment établi un score simple, reproductible, basé sur l'attribution d'un point pour 4 paramètres. Un score supérieur ou égal à 2 serait évocateur d'un SMD. (45) (Tableau 2)

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

Tableau 2 : Score d'Ogata (46)

Cependant, bien que la spécificité de ce score soit très bonne (92%), celui-ci manque de sensibilité (69%) (45). D'autres auteurs proposent de le combiner au RED-score, qui évalue la dysérythropoïèse grâce aux coefficients de variation du CD36 et du CD71, et permettant d'atteindre une sensibilité de 88% et une spécificité de 89%. (47–49)

6) Autres examens biologiques

Dans le but de réaliser un diagnostic différentiel, certaines analyses de biologie médicale doivent être renseignées avant d'évoquer un SMD.

- Bilan martial complet comprenant le dosage de la ferritine, du fer total, et le calcul du coefficient de saturation de la transferrine (50). Pour la majorité des patients atteints d'un SMD, le fer sérique est normal ou augmenté, avec une capacité de saturation de la transferrine normale ou augmentée.

- Dosage des vitamines B9 (acide folique) et B12 sériques. Une carence en l'une de ces deux vitamines est une cause classique de dysplasie des lignées myéloïdes, par exemple d'hypersegmentation du noyau des PNN ou d'asynchronisme de maturation nucléo-cytoplasmique des érythroblastes.

- Bilan rénal et thyroïdien avec dosage de la créatinine et de la TSH pour exclure une anémie secondaire. Le dosage de l'érythropoïétine (EPO) sérique est nécessaire pour les patients de risque faible potentiellement sujets à des injections d'EPO recombinante. Une diminution des taux sériques serait en faveur d'une sensibilité à ce traitement.

E. Classification OMS des Syndromes Myélodysplasiques.

Le principe de la classification OMS (Tableau 3) est de combiner les informations cytologiques (évaluation de la dysplasie, compte de blastes), cliniques et cytogénétiques pour conduire au diagnostic de SMD.

La présence d'au minimum une cytopénie est le premier prérequis pour qualifier un SMD. (48) L'autre condition nécessaire est de retrouver, à l'étude cytologique des lignées hématopoïétiques sur le myélogramme, des anomalies morphologiques dysplasiques significatives sur au moins une des trois lignées myéloïdes. Il est proposé un seuil supérieur ou égal à 10% des cellules d'une lignée atteinte par l'anomalie pour la considérer comme dysplasique.

Cette classification a été remise à jour par l'OMS en 2016, supprimant les termes d'anémie ou de cytopénie réfractaires. Les syndromes myélodysplasiques sont désormais caractérisés par l'atteinte d'une ou plusieurs lignées (SMD-UL ou SMD-ML), ou la présence de plus de 15% de sidéroblastes en couronnes (SC).
Un des éléments fondamentaux dans cette classification reste le pourcentage de blastes médullaires. Il déterminera les SMD sans excès de blastes (< 5%), avec excès de blastes de type I (entre 5 et 9%) avec excès de blastes de type II (entre 10 et 19%), l'excès de blastes supérieur à 20% signant, par définition, une leucémie aiguë.

Enfin, la délétion isolée du bras long du chromosome 5 (*del(5q)),* seule ou associée à une autre anomalie cytogénétique autre que la perte du chromosome 7 ou une *del(7q),* définit un sous-type de SMD. Cette délétion est conjuguée à une cytopénie (généralement une anémie macrocytaire), une thrombocytose et l'absence d'excès de blastes. (49). Le sex-ratio de cette hémopathie est en défaveur de la femme et elle est caractérisée morphologiquement par des mégacaryocytes de taille normale à noyau hypo voire unilobé.

Pathologie	Lignée dysplasique	Cytopénies	% Sidérolastes en couronnes médullaires	% Blastes médullaires (BM) et sanguins (BS)	Caryotype
SMD avec dysplasie unilignée	1	1-2	< 15 % < 5 % si *SF3B1* muté	BM < 5 % BS < 1 %	Non spécifique
SMD avec dysplasie multilignée	2-3	1-3	< 15 % < 5 % si *SF3B1* muté	BM < 5 % BS < 1 %	Non spécifique
SMD avec *del(5q)* isolée	1-3	1-2	Absence	BM < 5 % BS < 1 %	*del*(5*q)* isolée +/- 1 autre anomalie (sauf *del(7q)* ou – 7)
SMD avec présence de sidéroblastes en couronne. (SMD-SC)					
SMD-SC avec dysplasie unilignée	1	1-2	≥ 15 % ≥ 5 % si *SF3B1* muté	BM < 5 % BS < 1 %	Non spécifique
SMD-SC avec dysplasie multilignée	2-3	1-3	≥ 15 % ≥ 5 % si *SF3B1* muté	BM < 5 % BS < 1 %	Non spécifique
SMD avec excès de blastes (SMD-EB)					
SMD-EB I	0-3	1-3	Absence	BM = 5-9 % ou BS =2-4 %	Non spécifique
SMD-EB II	0-3	1-3	Absence	BM = 10-19 % ou BS : 5-19 %	Non spécifique
SMD inclassables (MDS-U)					
Basé sur le caryotype	0	1-3	< 15 %	BM < 5 % BS < 1 %	Anomalie spécifique cf : tableau 1
1 % blastes sanguins	1-3	1-3	Absence	BM < 5 % BS = 1 %	Non spécifique
Dysplasie unilignée + pancytopénie	1	3	Absence	BM < 5 % BS < 1 %	Non spécifique

Tableau 3 : Critères de la classification des SMD, OMS 2016.(53)

F. Pronostic

Les syndromes myélodysplasiques évoluent naturellement vers une aggravation des cytopénies et, dans 30 à 40% des cas, vers une acutisation en LAM.(4) Les SMD étant un groupe de pathologies très hétérogène, la survie peut varier de quelques mois à plusieurs années selon le score pronostic.

1) Score IPPS (International Prognostic Scoring System)

Le score IPSS, publié en 1997, est devenu un standard pour prédire l'évolution de la maladie. Il est resté la référence pendant plusieurs années et continue d'être utilisé en pratique pour le choix des traitements, malgré ses limites (4). Il se fonde sur trois indicateurs (tableau 4) : le pourcentage de blastes médullaires, les anomalies cytogénétiques au caryotype et le nombre de cytopénies. Ces facteurs sont traduits en scores numériques additionnés classant le patient dans quatre catégories de risque : faible, intermédiaire-1, intermédiaire-2 ou élevé.

Variable pronostique	0	0,5	1	1,5	2
Blastes médullaires	< 5 %	5 - 10 %	5 - 10 %	11 - 20 %	21 - 30 %
Caryotype	Favorable : - Normal. - Perte isolée de l'Y. - Délétion 5q -Délation 20q isolée.	Intermédiaire : Autres anomalies.	Défavorable : - Complexe = 3 anomalies ou plus. - Anomalies du chromosome 7.		
Cytopénies	0 - 1	2 - 3	2 - 3		

Tableau 4 : Calcul du score pronostic IPSS. (4)

Groupe de risque	Score IPSS (points)	Médiane de survie (années)
Faible	**0**	**5,7**
Intermédiaire 1	**0,5 - 1**	**3,5**
Intermédiaire 2	**1,5 - 2**	**1,1**
Élevé	**≥ 2,5**	**0,2**

Tableau 5 : Groupes de risques selon le score IPSS et médiane de survie. (4)

On peut noter certaines limites à ce score. Tout d'abord, il ne peut être utilisé qu'au diagnostic et pour les patients présentant un SMD primaire et non traité. De plus, il ne prend pas en compte la profondeur des cytopénies, reflétée notamment par les besoins transfusionnels. Enfin, un pourcentage de blastes médullaires supérieur à 20% est désormais classé dans les LAM. D'autres scores ont ainsi été développés.

2) Score WPSS (WHO-based Prognostic System)

Le score WPSS (Tableaux 6 et 7), publié en 2005, affine la stratification de l'IPSS en prenant en compte l'importance de la dysplasie en plus du nombre de blastes. Il donne une plus grande influence à la cytogénétique et intègre la dépendance transfusionnelle, permettant de mieux refléter la profondeur de l'anémie. (51)

Variable pronostique	0	1	2	3
Catégorie OMS	CRDU, ARS, syndrome 5q-	CRDM	AREB-1	AREB-2
Caryotype	Favorable	Intermédiaire	Défavorable	
Besoins transfusionnels en CGR	Non	Oui		

Tableau 6 : Calcul du score WPSS. (51)

Groupe de risque	Score WPSS (points)	Médiane de survie (années)
Très faible	**0**	**> 10**
Faible	**1**	**8 – 9**
Intermédiaire	**2**	**4,5 – 5,5**
Élevé	**3 – 4**	**1,8 – 2,5**
Très élevé	**5 – 6**	**0,5 – 1**

Tableau 7 : Groupes de risques selon le score WPSS et médiane de survie. (51)

Cependant, la classification des SMD sur laquelle elle s'appuie a été abandonnée, ce qui rend ce score désuet.

3) Score IPPS-R (Score IPSS révisé)

En 2012, une méta-analyse des données de 7012 patients atteint de SMD primitif et de 71 ans d'âge médian a permis d'affiner les critères de l'IPPS (basé sur seulement 800 patients) donnant lieu à la création de l'IPSS-R.

Les cytopénies et leur profondeur sont désormais évaluées distinctement (Tableau 8). De plus, la classification cytogénétique a été plus largement détaillée (Tableau 9), séparant les patients en cinq catégories prédictives de l'évolution clinique contre trois dans l'IPSS. (10, 57) Ce score rajoute une catégorie pronostique. Le risque est ainsi évalué en tant que très faible, faible, intermédiaire, élevé ou très élevé (Tableau 10). (52)

Variable pronostique	0	0,5	1	1,5	2	3	4
Blastes médullaires	≤ 2 %		3 - 4 %		5 - 10 %	> 10%	
Caryotype	Très favorable		Favorable		Intermédiaire	Défavorable	Très défavorable
Hémoglobine (g/L)	≥ 100		8-9	8			
Plaquettes (G/L)	≥ 100	50-99	< 50				
Neutrophiles (G/L)	≥ 0,8	< 0,8					

Tableau 8 : Score pronostic IPSS-R. (52)

	Proportion de patients	Caryotype
Très Favorable	**4 %**	**-Y** **del(11q)**
Favorable	**72 %**	**Normal, del(5q), del(12p), del(20q)**
Intermédiaire	**13 %**	**del(7q), +8, +19, i(17q)**
Défavorable	**4 %**	**-7, inv(3), complexe (= 3 anomalies)**
Très défavorable	**7 %**	**Complexe > 3 anomalies**

Tableau 9 : Classification cytogénétique IPSS-R. (52)

Groupe de risque	Score IPSS-R (points)	Médiane de survie (années)
Très faible	**≤ 1,5**	**8,8**
Faible	**2 – 3**	**5,3**
Intermédiaire	**3,5 – 4,5**	**3,0**
Élevé	**5 – 6**	**1,6**
Très élevé	**> 6**	**0,8**

Tableau 10 : Groupes de risques selon le score IPSS-R et médiane de survie. (52)

L'évolution en LAM peut ainsi être estimée et divisée en deux catégories. L'une rassemblant les très faibles et faibles risques, avec une acutisation dans 15% des cas. L'autre, réunissant les scores intermédiaires, élevés et très élevés avec une évolution dans 30% des cas.

Certains facteurs complémentaires ont montré un intérêt dans la prédiction de la survie globale comme le Performance Status, les taux sériques de ferritine, de β2 microglobuline et de LDH. Ces critères ne permettent cependant pas d'estimer le risque évolutif en LAM. (52)

Tout comme l'IPSS, ce score n'est utilisable qu'au diagnostic et pour les patients atteints d'un SMD primaire non traité (33). Ainsi, ces modèles ne peuvent être utilisés de manière

dynamique. Cependant, bien que l'IPSS-R ait été initialement développé sur la base de données provenant de patients naïfs de traitement, il a ensuite été validé chez des patients traités par agent hypométhylant (53), lénalidomide (54) ou encore greffés par des cellules souches hématopoïétiques (55).

A l'instar de l'IPSS, le critère « nombre de blastes médullaires » de l'IPSS-R lors de l'étude initiale incluait une catégorie entre 20 et 30%, actuellement qualifiée comme LAM. Si les seuils diagnostics entre SMD et LAM ont évolué depuis l'étude initiale de l'IPSS-R, cela a peu d'impact en pratique, les patients atteints de SMD à haut risque étant souvent traités de la même manière que les LAM. (37)

G. ***Traitement***

L'objectif des différents traitements est double. D'une part, il a pour but d'atténuer le plus longtemps possible les conséquences des cytopénies sur la vie personnelle, sociale et professionnelle du patient. D'autre part, de ralentir la progression en leucémie aiguë et d'améliorer la survie globale. (10)

Il peut être divisé en traitements symptomatiques et spécifiques. La figure 17 détaille l'algorithme de traitement des SMD selon le risque de l'IPSS.

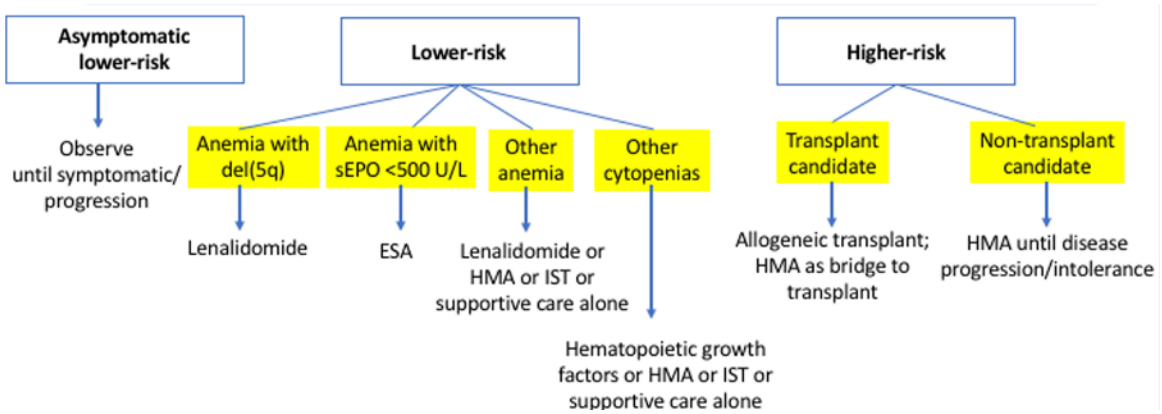

Figure 17 : Algorithme de traitement des SMD.(56)

1) Traitements symptomatiques

Pour corriger l'anémie, le traitement repose principalement sur des transfusions itératives de concentrés de globules rouges (CGR), dans le but de maintenir une hémoglobine supérieure à 10 g/dL. La complication majeure de cette thérapeutique est la surcharge en fer, pouvant évoluer en hémochromatose secondaire post-transfusionnelle. L'hémosidérose, maladie systémique, touche particulièrement le foie, le pancréas et induit un risque augmenté de myocardiopathie.(57)

Pour pallier à ce risque, chez des patients ayant eu plus de vingt transfusions ou une ferritine ≥ 1000 ng/L, un traitement chélateur sera mis en place. Le deferasirox, chélateur par voie orale, est une alternative au traitement historique de référence qu'est la desféroxamine par voie intra-veineuse (58).

Plusieurs études ont démontré l'intérêt de traiter les patients avec un taux d'EPO diminué (< 200 mUI/mL), souvent de risque IPSS faible ou intermédiaire-1, par érythropoïétine recombinante (ESA) pour retarder le risque de dépendance transfusionnelle (65, 66). C'est toutefois un traitement limité dans le temps, un échappement thérapeutique étant observé dans la plupart des cas, à plus ou moins court terme selon l'introduction de l'érythropoïétine recombinante (Figure 18).

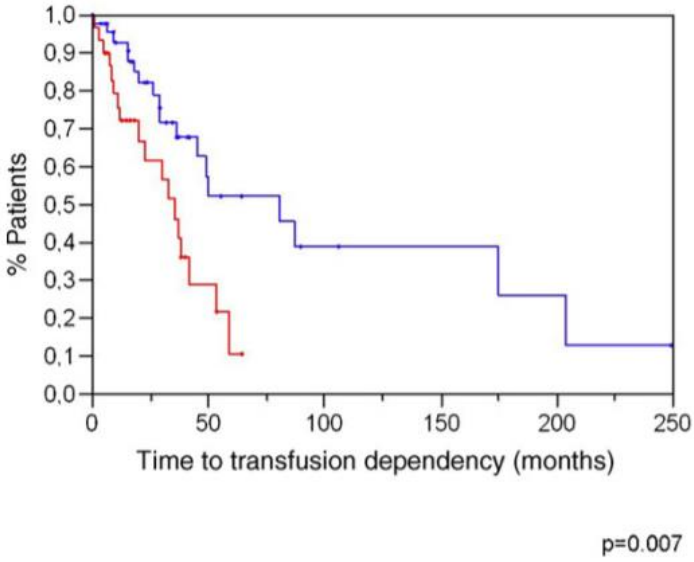

Figure 18 : Délai de dépendance à la transfusion à partir du diagnostic en fonction de l'apparition de l'ESA. (59)

Des essais étudiant l'efficacité des agents mimétiques de la thrombopoïétine (TPO) comme l'eltrombopag (per os) ou romiplostim (voie injectable) pour réduire les événements hémorragiques cliniquement significatifs chez certains patients atteints de thrombopénie sévère sont prometteurs mais n'ont pas d'autorisation de mise sur le marché (AMM) pour cette indication en France.(61)

L'injection de concentrés plaquettaires n'est indiquée qu'en cas de thrombopénie majeure induisant un risque hémorragique grave ou de gestes chirurgicaux pour éviter une allo-immunisation chez des patients potentiellement candidats à une greffe de cellules souches hématopoïétiques.

Enfin, l'utilisation de G-CSF comme thérapeutique de la neutropénie n'est pas, d'une façon générale, conseillée (50). La réponse à l'utilisation de facteurs de croissance

myéloïdes dans les SMD est bonne, mais il n'a jamais été démontré que leur utilisation améliorent la survie globale et leur effet sur la réduction du risque d'infection est minimal.(62) Le traitement d'une infection présumée s'appuiera donc sur les recommandations des neutropénies fébriles. Il peut cependant être proposé pour des courtes durées, en cas d'épisodes infectieux graves chez des patients dont la neutropénie est très profonde et sans excès de blastes.

2) Traitements spécifiques

Les agents déméthylants, comme l'azacitidine (VIDAZA©), représentent une classe de chimiothérapie indiquée chez les patients à haut risque d'évolution leucémique (IPSS ≥ 2) et non éligibles à l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques. (69, 70)
Les indications de chimiothérapie intensive « conventionnelle » (à base d'anthracyclines et de cytarabine) se sont donc nettement restreintes (par exemple aux sujets jeunes sans caryotype défavorable, notamment avant une allogreffe).

Le lénalidomide (REVLIMID©), un immuno-modulateur, indiqué principalement dans les syndromes 5q- chez des patients anémiés avec une dépendance transfusionnelle, donne des réponses complètes hématologiques et cytogénétiques dans plus de 60% des cas.(10)

Enfin, l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques est à ce jour le seul traitement curatif des SMD. Elle est généralement réservée aux SMD à haut risque et discutée selon l'âge du patient. Celui-ci étant généralement élevé, les greffes à conditionnement atténué sont préférées aux conditionnements myélo-ablatifs pour leur toxicité moindre.
Les SMD sont la troisième indication de greffe de CSH derrière les leucémies aiguës myéloïdes et lymphoïdes. (65)

II. Syndromes Myélodysplasiques Inclassables

A. Généralités

Bien que l'approche diagnostique des SMD détaillée par l'OMS reprenne l'état de l'art afin de les caractériser au mieux, des limites aux critères actuels peuvent être observées. Les syndromes myélodysplasiques inclassables (MDS-U) sont ainsi nés des cas où les caractéristiques nécessaires pour attribuer une catégorie précise sont manquantes. L'incidence exacte de ce syndrome est inconnue, mais est estimée dans une étude japonaise à 6,3% des cas de SMD (3). Selon une étude monocentrique portant sur une cohorte de 90 patients, la médiane d'âge serait de 71 ans, avec une prédominance masculine de 69%. (66)

B. Classification

La méconnaissance de cette entité peut en partie s'expliquer par un biais de dépistage, le diagnostic cytologique des SMD nécessitant une fine expertise morphologique.

Ainsi, une méta-analyse américaine étudiant l'évolution de la survie des patients atteints de SMD entre 2004 et 2013 a été réalisée à partir des données de la National Cancer Data Base (NCDB) (67). Elle y recense 70% des cancers diagnostiqués dans la population américaine. Sur cette période, 54 953 SMD ont été diagnostiqués, dont 55,6% de MDS-U. Ces résultats contrastent fortement avec des études allemande (du registre de Düsseldorf) et japonaise, retrouvant une incidence des MDS-U très faible (3 et 6% respectivement). (68)

De la sorte, il est raisonnable de se demander si la forte prévalence des MDS-U dans l'étude américaine, où le diagnostic était réalisé dans des centres hospitaliers et hospitaliers-universitaires confondus, comparée à l'étude allemande, uniquement dans des centres hospitalo-universitaires, serait partiellement la conséquence d'une difficulté des centres hospitaliers à typer précisément la catégorie de MDS.

Sur une étude rétrospective monocentrique réalisée par le service d'hématologie de la Mayo Clinic entre 1993 et 2014 par Baidoun et *al* (66), seuls 11% des SMD diagnostiqués

sur cette période ont été classés dans un 1er temps en MDS-U. Après revue cytologique, ce n'est plus que 47% de ces cas, soit 5% des patients au total qui ont été confirmés, l'autre moitié de la cohorte étant reclassée dans les différents sous-types de SMD. A noter que parmi eux, seuls 2 ont été définis en MDS-U définis par une anomalie cytogénétique.

La classification de l'OMS permet d'évoquer un MDS-U dans trois situations.

1) MDS-U avec 1 % de blastes circulants (MDS-U-B).

Le groupe FAB a introduit le terme « excès de blastes » pour caractériser les patients qui présentent au moins 5% de blastes médullaires et/ou plus de 1% de blastes dans le sang périphérique. De ce fait, la présence de précisément 1% de blastes circulants n'était pas considérée comme pertinente pour la classification et le pronostic des SMD.
L'apparition de la catégorie des MDS-U dans la classification OMS corrige cette lacune avec la catégorie des « MDS-U avec 1% de blastes circulants ».

Si le pourcentage de blastes médullaires est inférieur à 5% mais que le pourcentage de blastes circulants est compris entre 2% et 4%, le diagnostic retenu est celui de SMD avec excès de blaste de type 1. (69) Ainsi, les critères des MDS-U-B comprennent la présence d'une cytopénie ou plus, avec une atteinte dysplasique d'une à trois lignées myéloïdes sur au moins 10% des éléments, associée ou non à des sidéroblastes en couronne (> 15% ou >5% si *SF3B1* muté) ou à une délétion 5q isolée et par la présence de 1% de blastes circulants, sur au moins deux comptes cytologiques réalisés à distance. Les cellules immatures médullaires sont inférieures au seuil de 5% et sans corps d'Auer.(70)

2) MDS-U unilignée associé à une pancytopénie (MDS-U-P)

Cette catégorie est définie par la présence d'un SMD avec dysplasie unilignée, d'un SMD associé à une délétion 5q ou d'un SMD-RS associé à une pancytopénie définie ainsi :

- Anémie < 13 g/dL chez l'homme et 12 g/dL chez la femme.
- Thrombopénie < 150 G/L.
- Neutropénie < 1,5 G/L.

La blastose ne doit pas dépasser 1% dans le sang et 5% dans la moelle. Une incidence augmentée de cette anomalie en particulier au sein des populations japonaises a été décrite.(71)

3) MDS-U défini par une anomalie cytogénétique (MDS-U-C)

Enfin, en l'absence de critères morphologiques suffisants au myélogramme, la présence d'une ou plusieurs anomalies chromosomiques récurrentes caractéristiques des SMD (Tableau 11) peut être un argument présomptif pour établir le diagnostic de MDS-U devant des cytopénies d'origine indéterminée (69).

Anomalies déséquilibrées	Anomalies équilibrées
-5/del(5q) -7/del(7q) i(17q) ; t(17p) -13 ; del(13q) del(11q) del(9q) del(12p) ; t (12p) idic(X)(q13)	t(11;16)(q23;p13) t(3;21)(q26;q22) inv(3)(q21q26) ; t(3;3) t(1;3)(p36;q21)(p21;q23) t(2;11) t(6;9)(p23;q34)

Tableau 11 : Anomalies cytogénétiques des SMD selon l'OMS 2016. (2)

Trois anomalies sont exclues selon l'OMS, car jugées trop peu spécifiques comme déjà évoqué précédemment : la perte du chromosome Y (72), la trisomie 8 (73) et la *del(20q)* isolées (74).

C. Évolution

De nombreuses inconnues entourent encore les MDS-U quant à la progression naturelle de la maladie et l'évolution clinique. Les cas catégorisés comme MDS-U-B ont montré un pronostic similaire à ceux des SMD avec dysplasie multilignée avec une survie médiane estimée à 35 mois et un risque d'acutisation en LAM de 14% à 5 ans. Les MDS-U-P ont un pronostic légèrement plus péjoratif avec une survie médiane de 30 mois et un risque cumulatif d'évolution en LAM de 18% sur 5 ans. (2, 72)
Le pronostic des MDS-U-C reste, lui, inconnu.

Les scores IPSS et IPSS-R ne prennent pas en considération les MDS-U. Cependant, une étude rétrospective menée par Baidoun et *al*, sur 802 patients dont 42 caractérisés comme MDS-U a montré que ces scores pouvaient s'appliquer aussi bien aux MDS-U qu'aux autres SMD. Dans cette étude, la répartition des scores IPPS-R pour les MDS-U tous confondus montre une prédominance des scores faibles (42%), bien supérieurs aux scores très faibles, intermédiaires et élevés (respectivement 15, 15 et 21%). Les scores très élevés étaient rares (6%). (72)

D. Quid des états pré-dysplasiques ?

Un parallèle peut être fait avec une population décrite dès la révision OMS de 2008 : les cytopénies de signification indéterminées ou ICUS (Idiopathic Cytopenia of Undetermined Significance). Ce terme a été proposé pour définir des patients présentant une ou plusieurs cytopénies persistantes (≥ 6 mois), sans étiologie, et ne remplissant pas non plus les critères cytologiques de dysplasie pour être classés en SMD. La vaste majorité de ces patients ne montre pas d'anomalie cytogénétique, ce qui fait la distinction avec les MDS-U-C. (12) L'évolution de ces patients est variable. Le risque de progression de cette entité vers les SMD a été évalué à 9% à 5 ans (2), mais n'est pas limité à cette hémopathie. Elle peut aussi acutiser en LAM, en syndrome lymphoprolifératif ou encore, dans la grande majorité des cas, ne pas se transformer.

Si on recherche des mutations somatiques, jusqu'à 36% de ces patients peuvent en présenter une ou plusieurs, définissant alors l'entité de CCUS (Clonal Cytopenia of Undetermined Significance) (10). Le profil mutationnel est similaire aux SMD.

Cependant, les gènes les plus affectés dans les CCUS semblent être *TET2* et *DNMT3A* contre *TET2* et *SF3B1* pour les SMD de faible risque (32). En fonction du type de gènes affectés par les mutations, le risque d'évolution des CCUS vers un SMD peut atteindre 86%. Cependant, la distinction entre SMD et CCUS grâce à ces mutations reste difficile de par leur hétérogénéité et leur manque de spécificité.

Certaines de ces mutations évocatrices d'une hématopoïèse clonale ont même été mises en évidence chez des personnes saines, sans cytopénies, et pour lesquelles le concept récent d'hématopoïèse clonale de signification indéterminée (CHIP) a été défini. Les CSH acquièrent couramment des modifications génétiques ou épigénétiques pendant toute la durée de vie humaine. Certaines mutations confèrent un avantage de survie à la cellule mutée et à sa progéniture conduisant à l'expansion clonale. L'acquisition en série de mutations coopératives dans un clone élargi pourrait aboutir à un phénotype pathologique. Ainsi, leur prévalence augmente de manière constante avec l'âge, approchant les 10% après 70 ans (75). L'absence de cytopénies chez des patients pour lesquels une charge allélique mutée (VAF) ≥ 2% est retrouvée et persiste plus 6 mois caractérise cette entité.

Tous ces patients ne développeront pas d'hémopathie, la plupart de ces mutations n'ayant aucun impact à long terme sur l'hématopoïèse. Cependant, certaines mutations somatiques conductrices apportant un avantage prolifératif peuvent servir d'évènement néoplasique promoteur en favorisant l'expansion clonale. (76) Sur le même modèle que les gammapathies monoclonales de signification indéterminées (MGUS) ou les lymphocytoses B monoclonales (MBL), les CHIP semblent tendre vers une progression en SMD, en hémopathie lymphoïde ou myéloïde, voire en LAM à un taux de 0,5 à 1 % par an (Figure 19 et 20) (76). Mais, à l'instar des autres stades pré-néoplasiques comme les MGUS ou les MBL, la grande majorité des patients ne développeront pas d'hémopathies et décéderont d'une cause non liée.

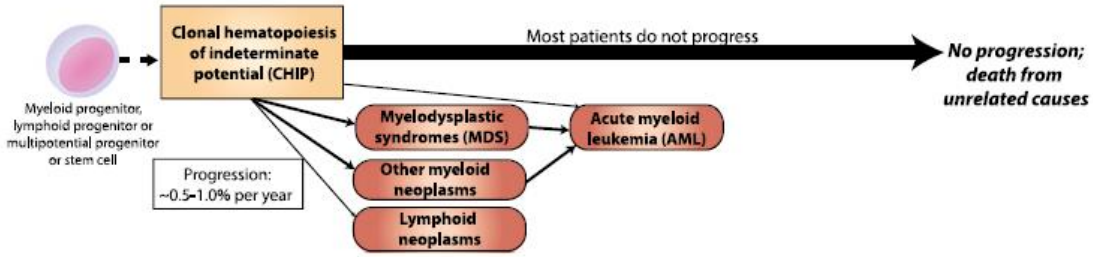

Figure 19 : Les CHIP comme précurseurs d'hémopathies. (46)

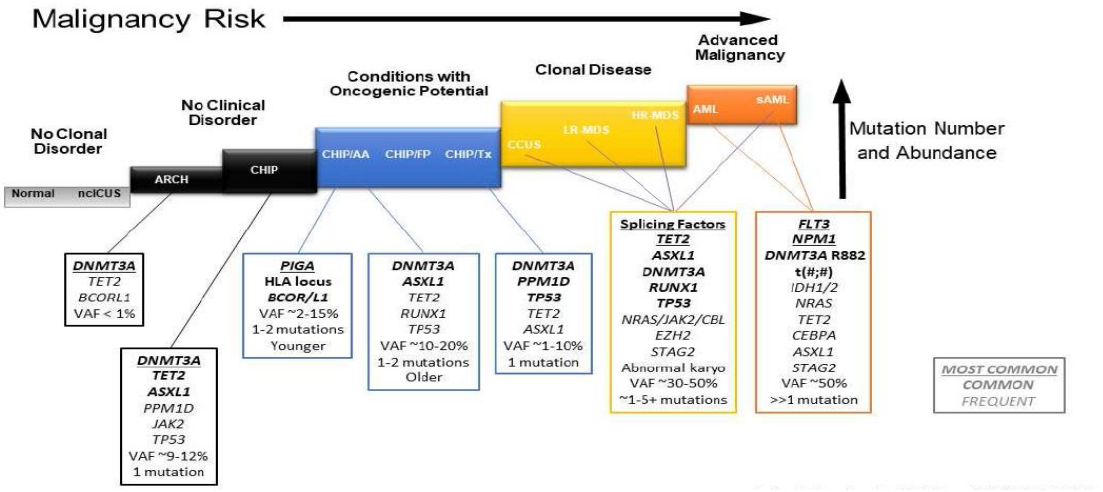

Figure 20 : Les mutations somatiques de la CHIP à la LA. (77)

Les caractéristiques respectives des CHIP, cytopénies idiopathiques et SMD sont résumées en Tableau 12.

Caractéristiques	CHIP	ICUS	CCUS	SMD	MDS-U-C
Cytopénies	Non	1 ou plus	1 ou plus	1 ou plus	1 ou plus
Dysplasie	Non	Non	Non	> 10%	< 10%
Anomalie cytogénétique	Non	Non	?	SMD primaires : 30-50% SMD secondaires : 80%	100 % des patients
Mutations somatiques	Oui VAF ≥ 2%	Non	Jusqu'à 36%	Oui > 85% des patients	?
Risque évolutif	0.5-1 % / an	10% à 5 ans	80% à 5 ans		

Tableau 12 : Diagnostic différentiel des CHIP, cytopénies idiopathiques et SMD. D'après Montalban et *al*. (10)

Partie II : étude multicentrique et rétrospective des syndromes myélodysplasiques inclassables définis par une anomalie cytogénétique.

I. Objectifs de l'étude

L'entité « Myelodysplasic Syndrome – Unclassified (MDS-U) », qui avait fait son apparition en 2008, est toujours présente dans la révision des critères diagnostiques des syndromes myélodysplasiques proposés par l'OMS en 2016. Parmi les critères proposés pour reclasser en MDS-U certaines cytopénies sans signes francs de dysplasie (<10%) ni excès de blastes, figure la mise en évidence d'une anomalie cytogénétique. Mais l'incidence et l'évolution clinique de ces MDS-U restent, à ce jour, inconnues. Cependant, pour ne pas méconnaître cette entité, les laboratoires de cytogénétique font face chaque année à une augmentation des demandes de caryotypes pour des cytopénies non étiquetées et pour lesquelles le myélogramme n'a pas fait la preuve de dysplasie.

Ce travail a plusieurs objectifs :

- Savoir si l'entité des MDS-U définie par une anomalie cytogénétique existe véritablement. Si oui, fait-elle consensus parmi les cytologistes ayant pris part à l'étude ? Même pour des cytologistes confirmés, évaluer l'ensemble du spectre des anomalies morphologiques compatibles avec un SMD peut s'avérer difficile et manquer de sensibilité.
- Si cette entité existe, déterminer ses caractéristiques clinico-biologiques pour mieux appréhender sa fréquence.
- S'interroger sur la pertinence des anomalies cytogénétiques ne figurant pas dans la liste établie par l'OMS mais retrouvées également dans des cytopénies sans dysplasie franche.

II. Matériel et Méthodes

A. *Sélection des patients*

Les patients inclus dans cette étude ont été sélectionnés par les cytogénéticiens du Groupe Français de Cytogénétique Hématologique (GFCH) selon les critères suivants :

- Patients présentant une ou plusieurs cytopénie(s) selon la **définition prise en compte par l'OMS** soit Hb < 10g/dL, plaquettes < 100 G/L et PNN < 1,8 G/L.
- Patients ayant eu un myélogramme interprétable avec possibilité de relecture centralisée.
- Lecture en local de ce myélogramme concluant à l'absence des critères cytologiques permettant de le classer d'emblée en SMD.
- Patients ayant eu un caryotype présentant une anomalie cytogénétique confirmée après relecture centralisée par le GFCH : sont acceptées les anomalies citées dans le tableau 1 ainsi que toute autre anomalie clonale (exemple : +15, +21 …) **à l'exception des –Y, des +8 et des del(20q) isolées.**

Au total, la population étudiée est constituée d'une cohorte de 64 patients issus de 9 centres hospitaliers universitaires (CHU) sur une période rétrospective de 2011 à 2019. La répartition est représentée en figure 21 :

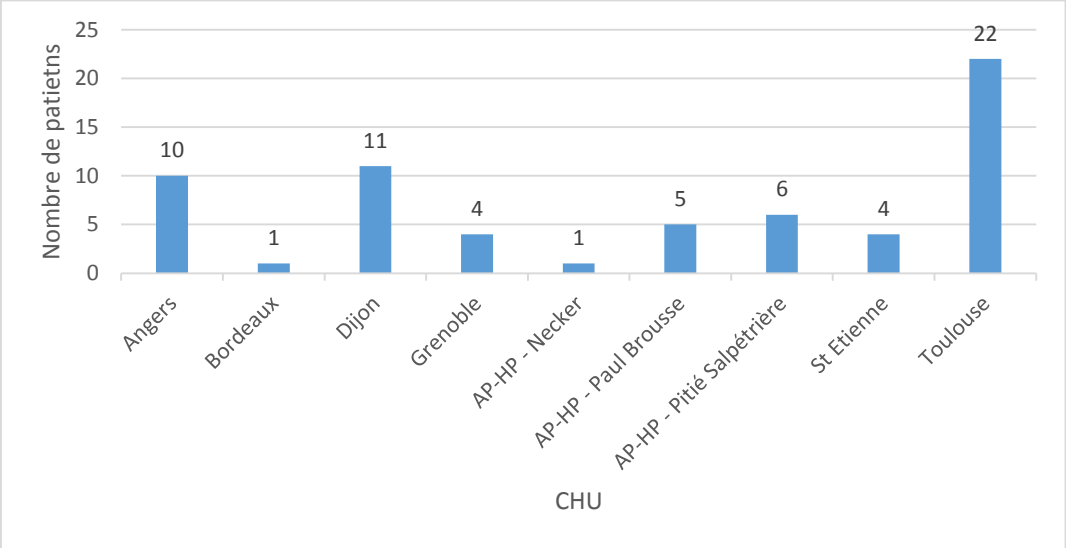

Figure 21 : Répartition des patients selon leur CHU d'origine.

Les informations cliniques, thérapeutiques et de suivi des patients ont été recueillies par les cytogénéticiens par l'examen des dossiers médicaux (Annexe 3).

B. Évaluation de la dysplasie

Pour inclure les patients dans l'étude, les CHU participants devaient fournir une ou plusieurs lames de myélogramme interprétables. Ces frottis médullaires, et éventuellement de sang périphérique s'ils étaient disponibles, ont été relus par trois cytologistes, de façon indépendante et sans avoir connaissance des résultats rendus par le cytologiste du CHU d'origine. L'évaluation de la dysérythropoïèse et de la dysgranulopoïèse a été réalisée sur 300 cellules pour chacune de ces deux lignées, l'évaluation de la dysmégacaryopoïèse sur 30 mégacaryocytes lorsque cela était possible.

Après cette étape de relecture, l'ensemble des cas ont été mis en commun et revus par les cytologistes.

Enfin, lorsque la conclusion du diagnostic cytologique était discordante entre les analyses, les résultats étaient confrontés à ceux des centres hospitaliers d'origine.

C. Caryotype

Chaque caryotype médullaire analysé a nécessité la lecture d'un minimum de 20 métaphases.

Une relecture collégiale des caryotypes par le GFCH a permis de valider les caryotypes d'abord en sous-groupe régional puis en groupe national. Les cas pour lesquels un doute subsistait ont été explorés pour confirmation par FISH. Les formules chromosomiques ont été établies selon l'ISCN 2016. (78)

III. Résultats

A. Sélection des patients.

La cohorte initiale de notre étude était composée de 64 patients : 39 hommes et 25 femmes (sex-ratio H/F = 1,56).
Malgré les préconisations des critères d'inclusion, 6 patients ont d'emblée été exclus de l'étude cytologique en raison de la qualité du matériel, la lecture qualitative comme quantitative des myélogrammes ne pouvant être assurée.

Après comparaison des résultats de la relecture en double aveugle des myélogrammes, 11 patients ont été exclus. En effet, une dysplasie significative, supérieure à 10%, a été mise en évidence permettant de reclasser ces patients dans les différentes catégories de SMD de l'OMS. Ainsi, sur les 47 patients restants, 23 patients ont ainsi pu être inclus au terme de cette première étape.

En second lieu, les résultats en double aveugle des analyses cytologiques des myélogrammes ont été confrontés, pour 24 patients dont l'interprétation était douteuse, à celles des centres d'origine nous ayant transmis leurs dossiers.

Cette étape a permis d'exclure 13 autres patients, portant ainsi la cohorte sélectionnée à 34 patients. En effet, les comptes-rendus des CHU notaient eux-mêmes cette dysplasie sans conclure à un SMD sans prélèvement de contrôle à distance. Ils ont toutefois été écartés de l'étude, la dysplasie étant pointée, et de manière significative, par chacun des cytologistes séparément.

La figure 22 décrit dans quelles catégories de SMD les patients exclus ont été reclassés. 17 d'entre eux présentaient les critères de SMD unilignée, 11 de SMD avec dysplasie multilignées, 1 patient a été reclassé en SMD avec excès de blastes de type I et 1 patient a été reclassé en syndrome 5q- sur la base des critères cytologiques et cytogénétiques.

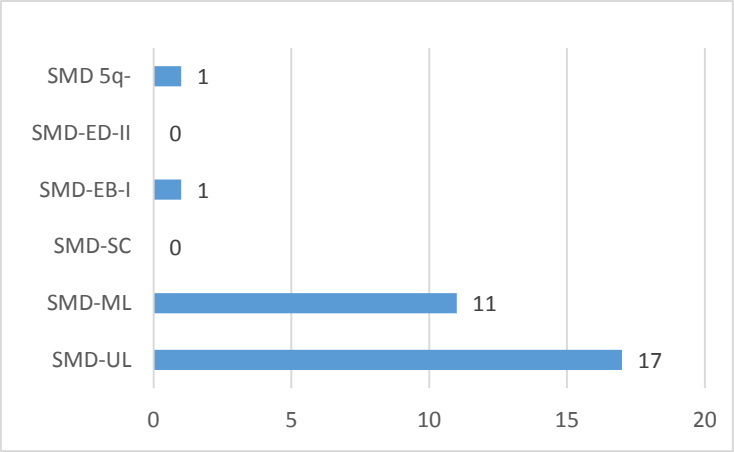

Figure 22 : Répartition selon l'OMS des patients exclus, reclassés en SMD par l'analyse cytologique.

Pour les patients exclus, la dysplasie allait de discrète pour 40% d'entre eux, à modérée pour une majorité (55%). Pour un patient, soit 5% des cas, elle était même forte (figure 23).

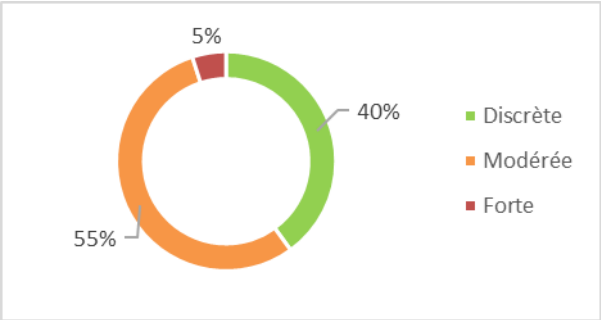

Figure 23 : Profondeur de la dysplasie observée.

Les différentes étapes de recrutement des patients correspondant aux critères OMS pour les MDS-U sont résumées en figure 24.

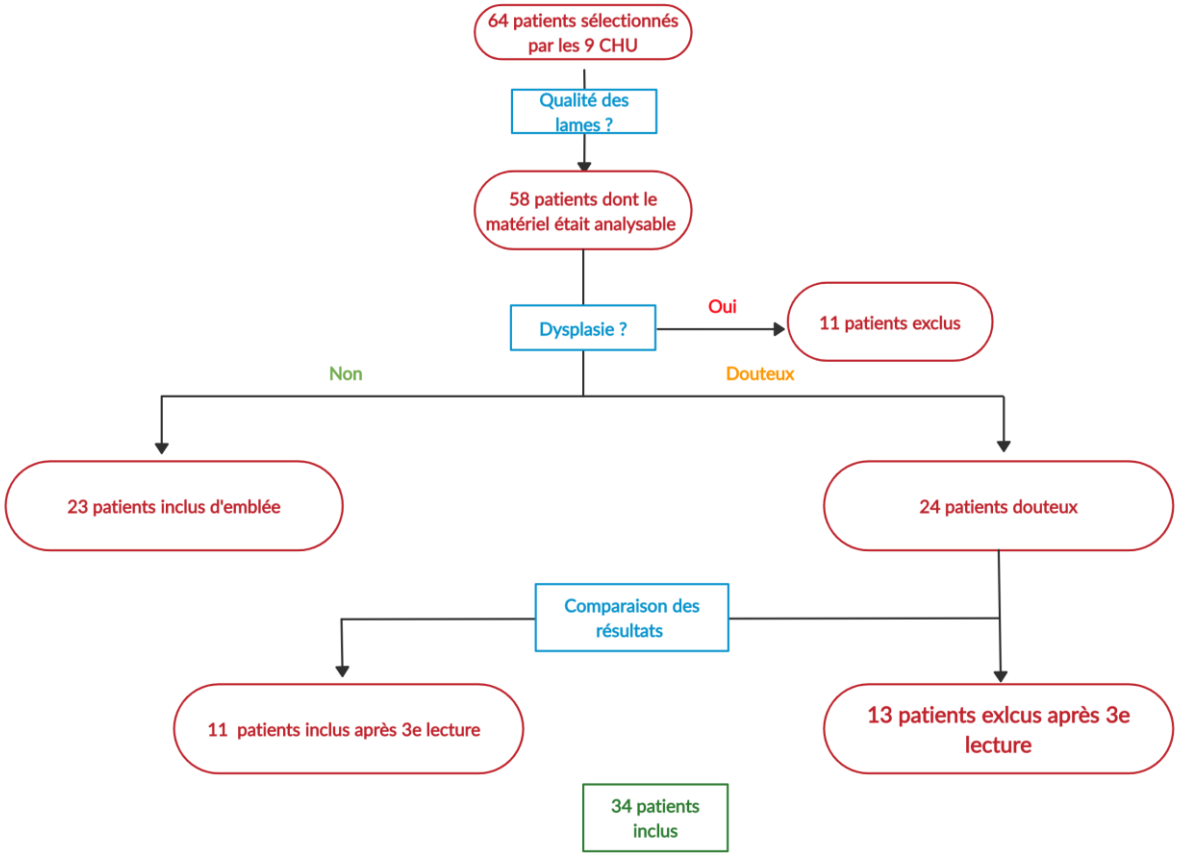

Figure 24 : Sélection des patients.

La dysérythropoïèse est l'anomalie morphologique la plus retrouvée parmi les patients exclus (58,3%), devant la dysmégacaryopoïèse (45,8%) et la dysgranulopoïèse (29,2%) (figure 25).

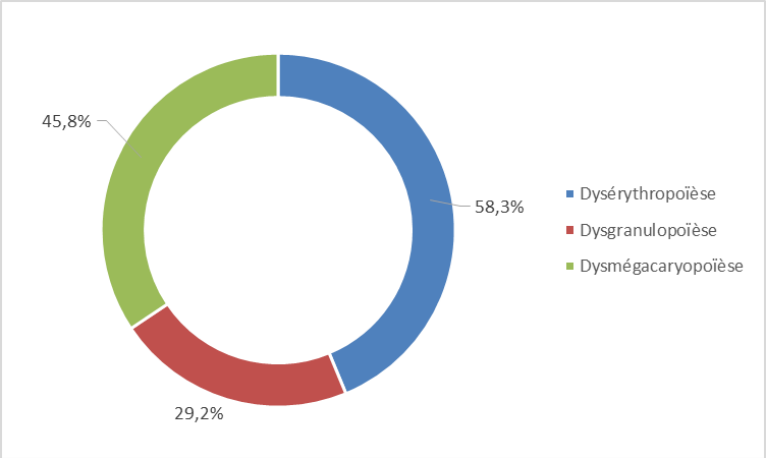

Figure 25 : Répartition des anomalies morphologiques des patients reclassées.

i. Dysérythropoïèse

Un défaut d'hémoglobinisation des précurseurs érythroïdes amenant à la formation de cytoplasmes feuilletés a été l'anomalie morphologique la plus représentée dans ce groupe (82%). En second lieu, c'est la présence en quantité significative de ponts cytoplasmiques pour 24% des patients, qui a conduit à leur reclassement. Cette anomalie n'a été décrite de manière isolée que chez un seul patient. Les bourgeonnements ou lobulations nucléaires étaient enfin, la dernière anomalie retrouvée en quantité suffisante pour évoquer une dysérythropoïèse (12%).

Dans une moindre mesure, non significative, il a été noté la présence d'érythroblastes bi-nucléés ou reliés par des ponts nucléaires.

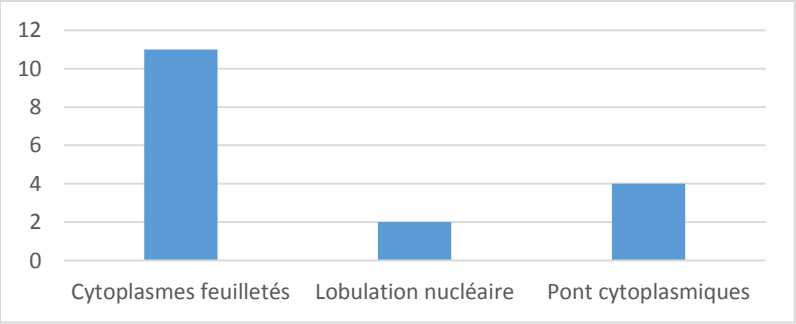

Figure 26 : Nature de la dysérythropoïèse dans le groupe reclassé.

ii. Dysgranulopoïèse

L'anomalie principale sur la lignée granuleuse était l'hypogranulation des précurseurs (75%). Cette assertion est à pondérer par certains facteurs. D'une part, l'appréciation varie selon les protocoles de coloration utilisés par les différents centres. D'autre part, la précision de l'atteinte des précurseurs précoces ou terminaux voire de toute la lignée granulocytaire est importante. Il est donc recommandé de comparer la moelle avec le sang pour s'assurer de la baisse de granulation effective. Ainsi, seuls les cas où les lignées étaient touchées de manière très significative ont été reclassés comme dysplasiques.

Les deux autres anomalies ayant permis de reclasser certains patients en SMD ont été notées à une fréquence bien plus discrète (12,5%) que la précédente. La présence de projections nucléaires ou drumsticks dans plus de 10% des PNN a été retrouvée chez une

patiente. Ainsi, les PNN qui ne comportaient qu'un seul drumstick, pouvant résulter de la lyonisation du chromosome X, n'ont pas été considérés comme dysplasiques.
L'occurrence de PNN pseudo-Pelger-Huet était la dernière anomalie en quantité significative.

Dans une moindre mesure, non significative, il a été noté des précurseurs granuleux présentant des condensations anormales de la chromatine, des corps de Döhle ou des segmentations atypiques du noyau.

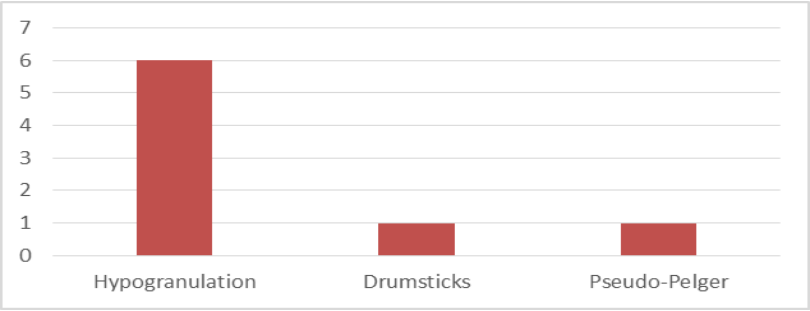

Figure 27 : Nature de la dysgranulopoïèse dans le groupe reclassé.

iii. Dysmégacaryopoïèse

Des cinq anomalies morphologiques des mégacaryocytes décrites dans la littérature, trois ont été retrouvées en quantité suffisante pour être significatives. Parmi les patients reclassés, les anomalies les plus retrouvées ont été les micromégacaryocytes et les caryorrhexis, ou séparations nucléaires, à hauteur de 42%. Les 16% restant présentaient des noyaux hypolobés. Ces anomalies sont spécifiques et caractéristiques des SMD. Le caryotype de l'un de ces patients a mis en évidence une délétion du bras long du chromosome 5 ce qui, en accord avec la dysmégacaryopoïèse typique (noyau hypolobé), a permis de conclure au diagnostic de syndrome 5q-.

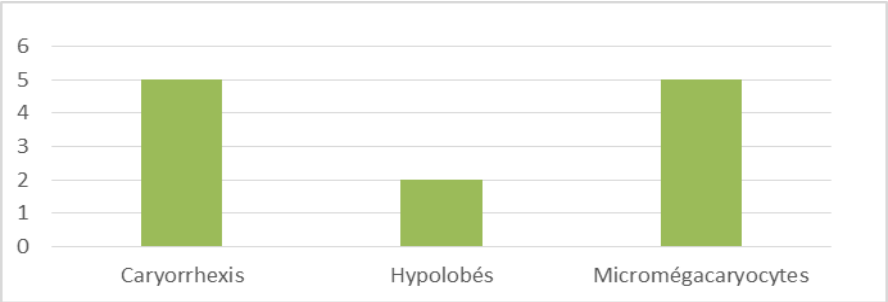

Figure 28 : Nature de la dysmégacaryopoïèse dans le groupe reclassé.

B. *Caractéristiques de la cohorte*

1) Description de la cohorte

La cohorte de patients retenus incluait donc 34 patients dont 22 hommes pour 12 femmes, ce qui correspond à un sex-ratio de 1,83. La médiane d'âge était comparable à celle décrite par le registre annuel du GFM dans la population générale de SMD. (79)

Les caractéristiques épidémiologiques des patients inclus dans la cohorte sont résumées dans le tableau 13 :

Paramètres (médiane) [min-max]	Homme (n=22)	Femme (n=12)	Total (n=34) p-value
Age	**74,4** [28,5-88,2]	**75 ,5** [60,2-87,8]	**75** p=0.27 [28,5-88,2]
Hb (g/dL)	**11,3** [8,1-15,6]	**10,1** [8,1-13,7]	**10,5** p=0.28 [8,1-15,6]
VGM (fL)	**91,7** [81,8-107]	**88,5** [68,1-95,3]	**89,4** p=0,065 [68,1-107]
Plaquettes (G/L)	**85,5** [20-284]	**182** [35-337]	**109,5** p=0,036 [23-337]
Leucocytes (G/L)	**4,5** [2,1-7,9]	**5,9** [2,1-8,6]	**4,82** p=0,016 [2,1-8,6]
PNN (G/L)	**2,89** [0,8-5,5]	**3,55** [1-6,4]	**3,12** p=0,21 [0,8-6,4]
Cytopénie unique :	**63,6%**	**83,6%**	
Anémie	27,3%	58,3%	
Thrombopénie	27,3%	25%	
Neutropénie	9,1%	0%	
Bi-cytopénie	**36,4%**	**16,7%**	
Anémie+ thrombopénie	27,3%	8,3%	
Anémie + neutropénie	4,5%	8,3%	
Thrombopénie+ neutropénie	4,5%	0%	

Tableau 13 : Statistiques descriptives de l'hémogramme dans la cohorte incluse.

Après comparaison par la loi de Student du groupe homme versus femme, il a été noté des différences statistiquement significatives sur deux paramètres ($p<0,05$) : le taux médian de plaquettes et de leucocytes était inférieur dans le groupe masculin par rapport à celui féminin. De plus, le groupe féminin semblait montrer une répartition plus importante de cytopénie unique, principalement des anémies, que le groupe masculin, majoritairement partagé entre l'anémie, la thrombopénie ou l'association de ces deux cytopénies.

2) Cytologie : analyse quantitative

i. Cellularité

La majorité des moelles de patients inclus était de richesse normale (50%) ou augmentée (47). Un seul patient a montré une densité médullaire diminuée (figure 29).

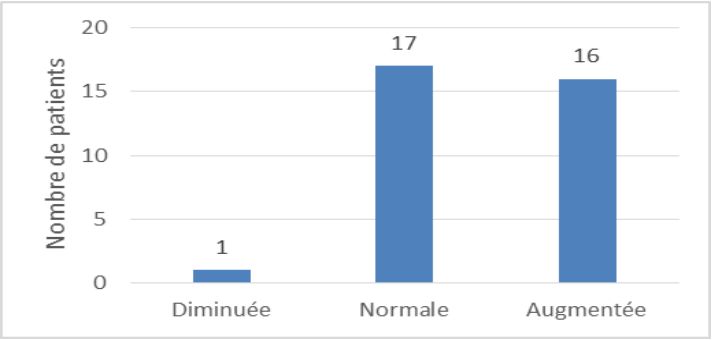

Figure 29 : Description de la répartition de la richesse médullaire.

ii. Lignée Mégacaryocytaire

De nombreux mégacaryocytes ont été observés chez 24 patients (71%) et d'assez nombreux chez 2 patients (6%). Un groupe de 9 patients (23%) présentait une richesse diminuée avec de rares mégacaryocytes examinés au frottis (figure 30).

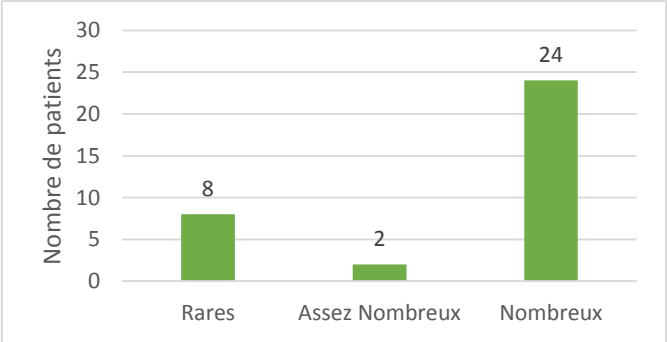

Figure 30 : Description de la répartition de la richesse mégacaryocytaire.

iii. Cellules immatures

Pour la grande majorité des patients, un taux de cellules immatures, indifférenciées et myéloblastes, inférieur ou égal à 2% (97%) a été observé. Seul 1 patient avait un nombre de cellules immatures compris entre 3 et 4%.

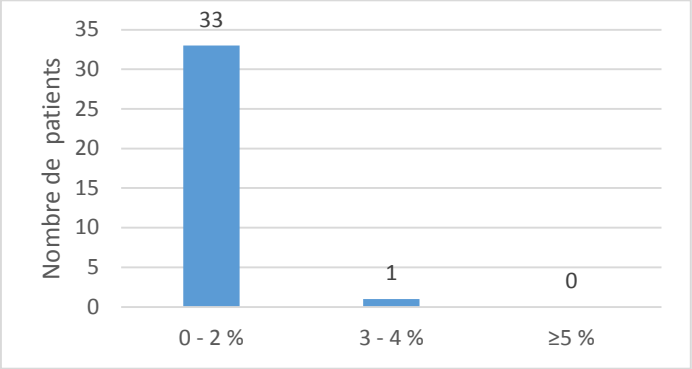

Figure 31 : Pourcentage de cellules immatures médullaires observées

3) Étude du caryotype

Parmi les 34 patients inclus sur les critères cytogénétiques comme cytologiques, nous avons décidé de faire 2 groupes selon le type d'anomalie retrouvée au caryotype :

- Anomalies chromosomiques décrites par l'OMS (Tableau 11, page 44 : anomalies dites « OMS».
- Autres anomalies chromosomiques non OMS.

Au total, des anomalies « OMS» ont ainsi été retrouvées chez seulement 12 patients (35%) (figure 32).

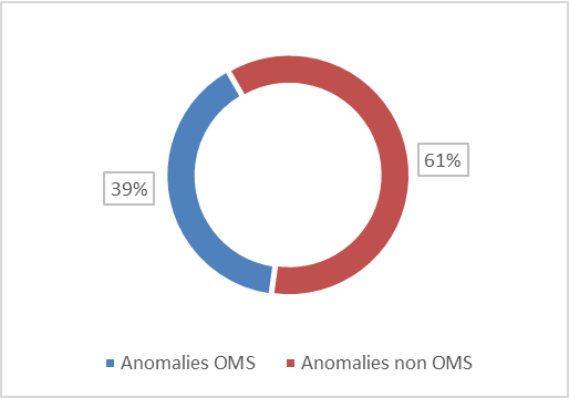

Figure 32 : Répartition des anomalies génétiques du groupe inclus selon l'OMS.

Paramètres (médiane) [min-max]	Anomalies non OMS (n=22)	Anomalies OMS (n=12)	p-value
Age	76,7 [49,8-88,2]	74,3 [28,5-88,2]	0,21
Sexe ratio H/F	1,75	2	
Hb (g/dL)	10,2 [8,1-15,6]	10,5 [8,1-15,6]	0,42
VGM (fL)	89,4 [68,1-104,6]	89,4 [68,1-107]	0,94
Plaquettes (G/L)	127,5 [23-337]	109,5 [23-337]	0,62
Leucocytes (G/L)	4,82 [2,1-8,6]	4,58 [2,1-8,6]	0,26
PNN (G/L)	3,26 [0,8-6,4]	3,1 [0,8-6,4]	0,43
Antécédents néoplasiques	9 (41%)	7 (58,3%)	
Antécédents thérapeutiques	4 (18,2%)	2 (16,7%)	
Cytopénie unique : Anémie Thrombopénie Neutropénie	58,3% 33,3% 16,7% 8,3%	77,3% 40,9% 31,8% 4,5%	
Bi-cytopénie : Anémie+ thrombopénie Anémie + neutropénie Thrombopénie+ neutropénie	41,7% 16,7% 16,7% 8,3%	22,7% 22,7% 0% 0%	

Tableau 14 : Comparaison des populations de la cohorte selon le type d'anomalies cytogénétiques.

La comparaison des paramètres des deux groupes selon la loi de Student ne permet pas de retrouver de différence significative entre ces deux groupes (p>0,05). On peut cependant noter une légère prédominance des cytopénies isolées dans le groupe OMS notamment des thrombopénies.

Au sein de cette cohorte, 16 patients avaient en outre un antécédent de néoplasie (tableau 15). Au diagnostic, 6 d'entre eux avaient reçu des traitements antérieurs par chimiothérapie et aucun par radiothérapie. Cette information n'était pas renseignée pour trois patients.

	Antécédent néoplasique	Antécédent thérapeutique
Anomalies OMS	Carcinome basocellulaire	
	Lymphome zone marginale	Cyclophosphamide
	Leucémie à grand lymphocytes granuleux	
	Maladie de Waldenström	
	Adénocarcinome colique	FOLFOX
	Oligodendriome	
	Carcinome hépatocellulaire	
Anomalies non OMS	Myélome à chaine légère	Velcade-Cyclophosphamide-Dexaméthasone
	Maladie de Kaposi	Bléomycine
	Amylose AL lambda	Melphalan
	Lymphome B grande cellule	R-CHOP + Méthotrexate
	Cancer du sein	
	Cancer de la prostate	
	Lymphome folliculaire	
	Sarcome granulocytaire du grêle	
	Cancer de la vessie	

Tableau 15 : Antécédent néoplasique et thérapeutique dans la cohorte sélectionnée.

La fréquence des anomalies retrouvées et décrites par le Comprehensive Cytogenetetic Scoring System (CCSS) dans l'OMS sont exposées dans le tableau 16.

Anomalie classée selon le pronostique	Nombre de patients
Très bon :	
— ***del(11q)***	3
Bon *:*	
— ***del(5q)***	4
Intermédiaire :	
— ***del(7q)***	1
— ***del(9q)***	3
Mauvais :	
— **Monosomie 7**	1

Tableau 16 : Distribution des anomalies cytogénétiques type OMS.

Les *del(5q), del(7q)* et monosomie 7 sont classiquement associées aux SMD secondaires et aux traitements antérieurs par radiothérapie et alkylants. (80)
Elles différent par leur pronostic, respectivement bon, intermédiaire et mauvais. 6 patients de notre cohorte présentaient ces anomalies.

Un des deux patients ayant une *del(7q)* avait reçu un traitement par cytarabine 13 ans auparavant. Le patient pour lequel une monosomie 7 a été découverte avait été traité par cyclophosphamide 14 ans auparavant. Les patients présentant un *del(5q)* au caryotype n'avaient pas reçu de traitement par chimiothérapie ou radiothérapie.

Les autres anomalies recensées, non citées dans l'OMS sont regroupées dans la figure 33. Une plus grande quantité d'anomalies déséquilibrées (n=14) qu'équilibrées (n=8) ont été observées dans notre cohorte.

Les anomalies du chromosome 1 sont les plus représentées dans ce panel (38%). Il est notamment impliqué dans diverses translocations avec les chromosomes 2 et 20, toutes impliquant différents segments du chromosome, une délétion sur le bras long et la formation d'un chromosome dérivé avec le chromosome 15.

Parmi les anomalies déséquilibrées, la trisomie 15 est la plus fréquemment retrouvée avec une fréquence de 10,5%.

A l'exception de cette dernière anomalie, aucune ne se démarque par son incidence augmentée par rapport aux autres.

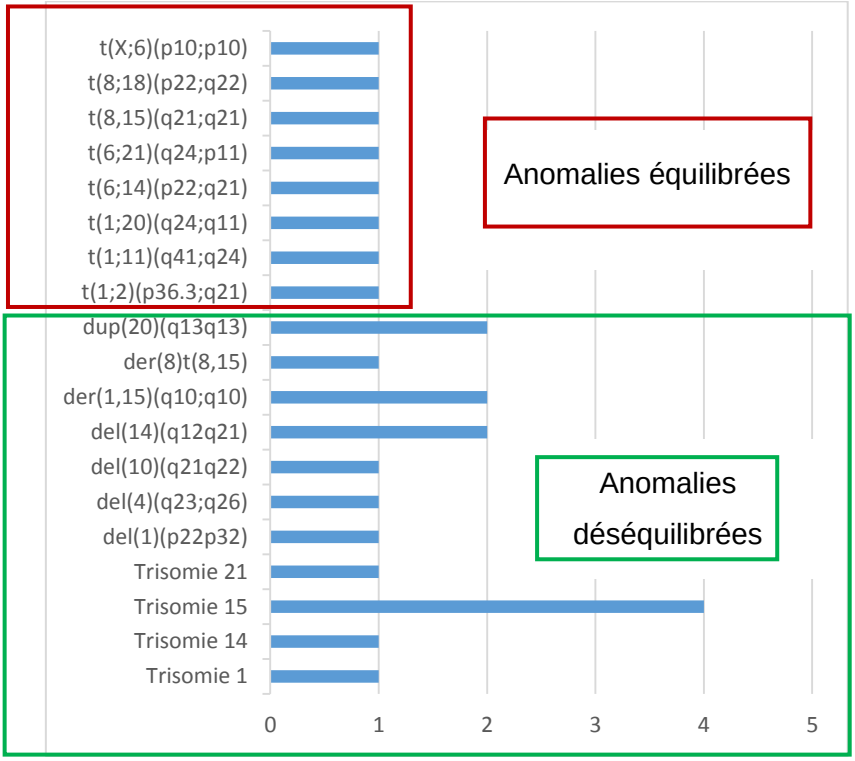

Figure 33 : Distribution des anomalies cytogénétiques non-OMS.

Dans un second temps est venue la question de l'impact pronostic de ces anomalies. Celui-ci a été déterminé selon les recommandations du CCSS décrites dans l'OMS (2,81). Ainsi, dans le groupe OMS, 25% des patients présentaient un score pronostic cytogénétique très

favorable et 34% favorable. 33% des patients avaient un score intermédiaire, 8% des patients ont montré un score pronostic défavorable et aucun très défavorable (figure 34).

Le groupe non OMS présentait une grande majorité de scores intermédiaires (86%), et une minorité de scores cytogénétiques de bon pronostic (9%) ou défavorable pour les caryoypes complexes (5%).

Figure 34: Répartition du pronostic du groupe inclus selon les anomalies génétiques (à gauche : décrite par l'OMS ; à droite : non décrite par l'OMS).

4) Répartition des MDS-U selon les scores IPSS et IPSS-R

En se basant sur le score IPSS, on observe une répartition différente entre les groupes présentant une anomalie OMS ou non. Le groupe OMS montrait une répartition presque identique entre les groupes pronostiques faibles (41,7%) et intermédiaires-1 (50%) comparé au groupe non OMS où le groupe faible risque (13,6%) est extrêmement réduit au profit du groupe intermédiaire-1 (81,8%) (figure 35).

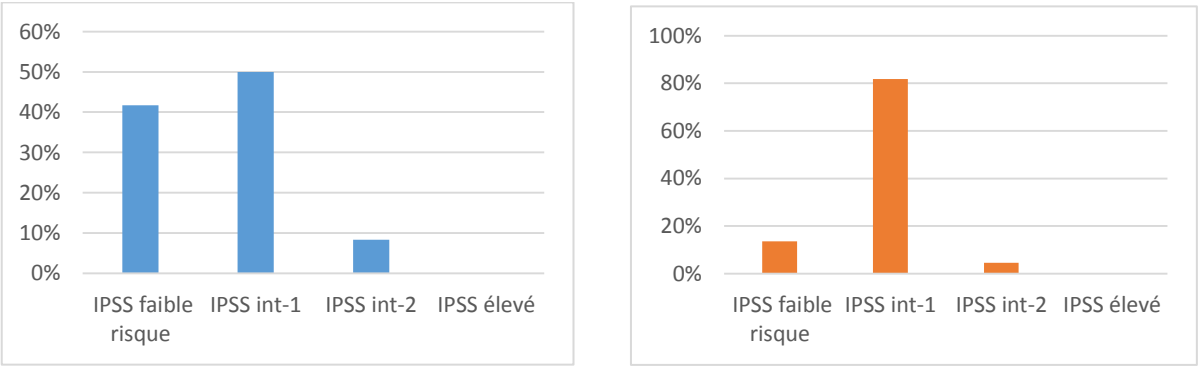

Figure 35 : Répartition des scores IPSS des patients inclus selon l'anomalie cytogénétique (à gauche : décrite par l'OMS ; à droite : non décrite par l'OMS).

En comparant les scores IPSS recensés dans le registre du GFM (figure 36), on note une répartition des pronostics entre le groupe OMS et les SMD toute catégories confondues similaire, à l'exception des scores intermédiaires-2 et élevés non représentés dans notre cohorte. A noter que pour 31% des patients, le score n'était pas réalisé dans le registre du GFM.

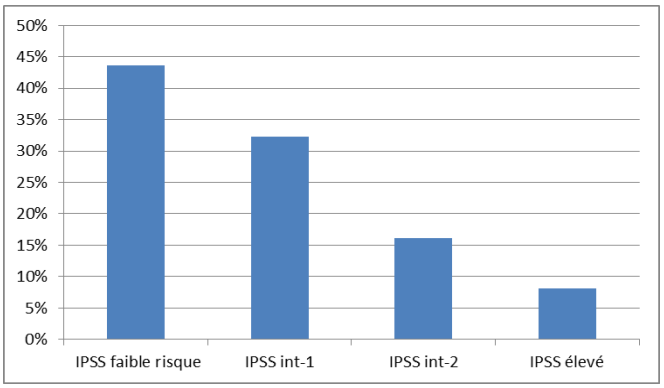

Figure 36 : Répartition des scores IPSS de l'ensemble des SMD d'après le GFM. (79)

La révision du score IPSS, en précisant chacun des facteurs de la maladie, notamment en accordant une place plus importante à la cytogénétique dans le pronostic des SMD, a permis de reclasser quelques patients de notre cohorte. La répartition des pronostics dans notre étude selon l'IPSS-R est résumée dans la figure 37.

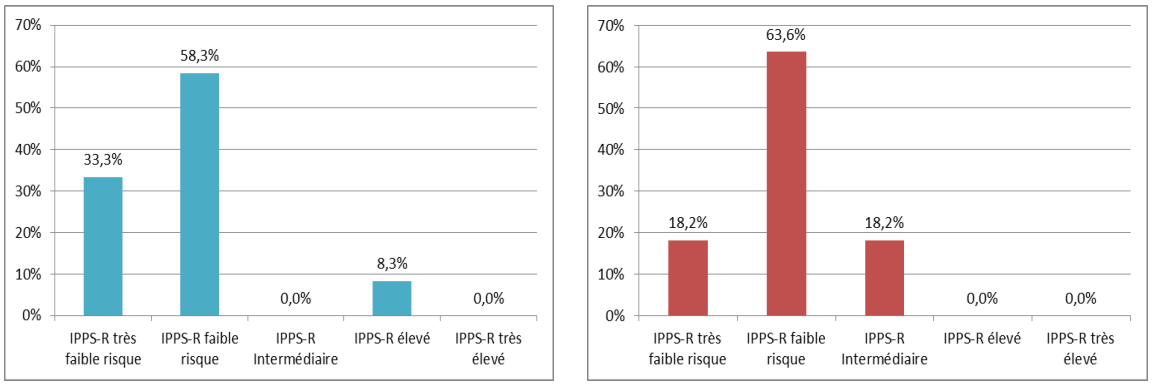

Figure 37 : Répartition des scores IPSS-R des patients inclus selon l'anomalie cytogénétique (à gauche : décrite par l'OMS ; à droite : non décrite par l'OMS).

En comparant les deux populations, on observe une répartition des scores faibles risques comparable mais une proportion de très faible risque majorée (33,3% contre 18,2%) dans le groupe OMS comparé à groupe non OMS qui se démarque, lui, par la présence d'une population au risque intermédiaire (18,2%).

La comparaison des IPSS-R avec le registre national du GFM (figure 38) montre quant à elle, que le groupe présentant des anomalies OMS a une tendance pronostique plus favorable que celle de l'ensemble des SMD tous confondus.

Le groupe non OMS présentait une répartition similaire à celle de l'ensemble des SMD décrite dans le GFM.

A noter que seul le groupe OMS présentait un patient avec un score pronostic défavorable.

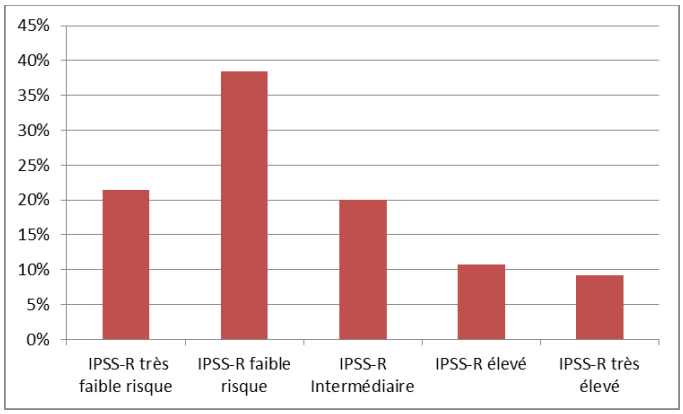

Figure 38 : Répartition en pourcentage des scores IPSS-R de l'ensemble des SMD d'après le GFM. (79)

De même que pour l'IPSS, le score n'était pas réalisé dans cette étude pour 35% des patients.

5) Évolution des patients

Le suivi médian des patients était de 10,4 mois [0 - 71,2 mois]. L'évolution était inconnue pour 6 patients sur 34 (17,6%), tous appartenant au groupe des anomalies non OMS.

Parmi les 28 patients dont le suivi était connu, 1 est décédé de cause non liée à son hémopathie, et 23 (68%) n'ont pas montré d'évolution de leur MDS-U (figure 39 et tableau 17).

Dans le groupe des anomalies décrites par l'OMS, une transformation en SMD avec excès de blastes a été notée pour 3 patients (1 de type I et 2 de type II) soit 25% d'entre eux. Les deux patients ayant évolué en SMD-EB-1 avaient respectivement des scores IPSS-R faible et très faible et celui ayant évolué en SMD-EB-2 avait l'unique IPSS-R élevé de la cohorte. Ce dernier est décédé des suites de sa pancytopénie profonde quatre mois plus tard.

Dans le groupe des anomalies non décrites par l'OMS, un patient seulement a évolué en SMD avec dysplasie multilignée (soit 4,5%). Il avait un score IPSS-R intermédiaire.

Aucune transformation en leucémie aigüe n'a été recensée.

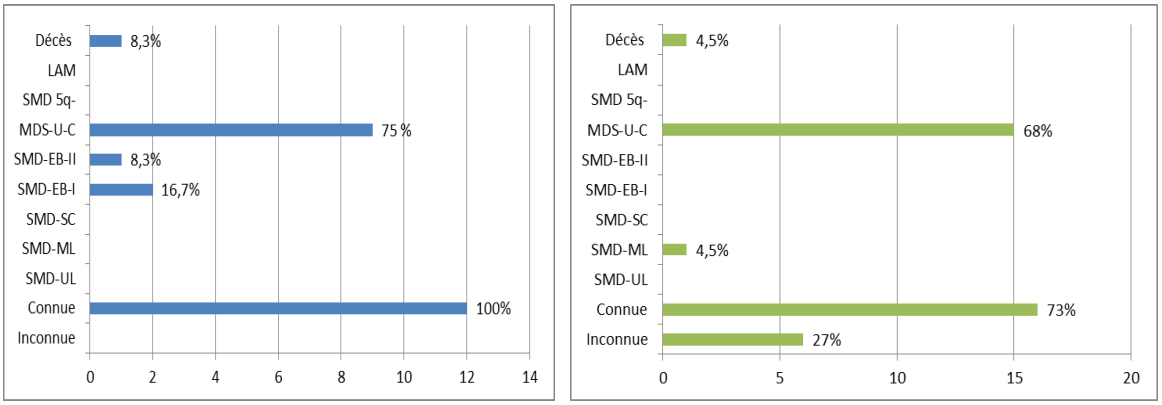

Figure 39 : Évolution des MDS-U-C chez les patients inclus (à gauche : décrite par l'OMS ; à droite : non décrite par l'OMS).

Patients	Décrite par l'OMS ?	Cytopénie	Sexe	Evolution	Délai (mois)	Traitement	IPSS-R
27	Oui	Anémie	F	SMD-EB-II	24	Vidaza	2,5 Faible
33		Thrombopénie + Anémie	M	SMD-EB-I	4	?	1,5 Très faible
44		Anémie + neutropénie	M	SMD-EB-II	45	Vidaza	5 Elevé
56	Non	Anémie + thrombopénie	M	SMD-DML	10	?	3,5 Intermédiaire

Tableau 17 : Caractéristiques des patients MDS-U-C ayant progressé.

Malgré les proportions réduites de chaque cohorte, des courbes de survies globales (figure 40) et de survie sans évènement (figure 41) en jours ont été modélisées pour illustrer les différences entre elles. Une tendance à une survie globale et une survie sans progression inférieure dans le groupe OMS par rapport au groupe non OMS semble se dessiner mais est non significative sur nos faibles effectifs.

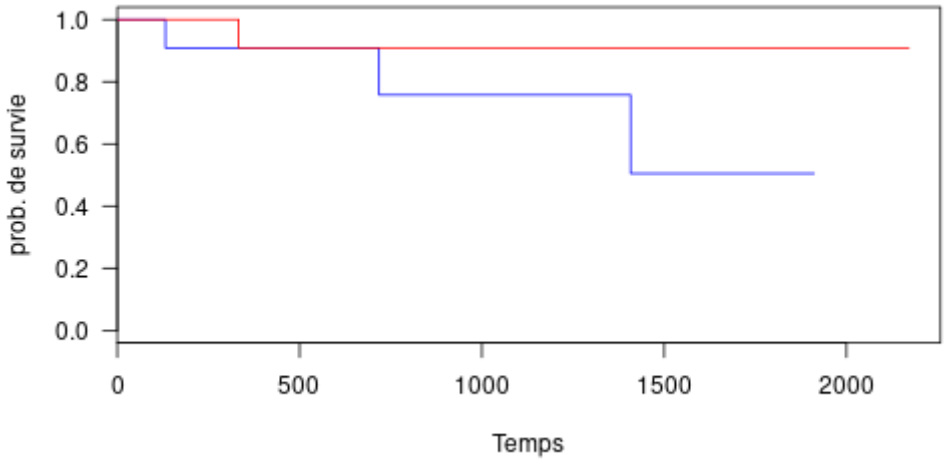

Figure 40 : Survie globale des patients inclus (p=0,18) : anomalies OMS en bleu et anomalies non OMS en rouge.

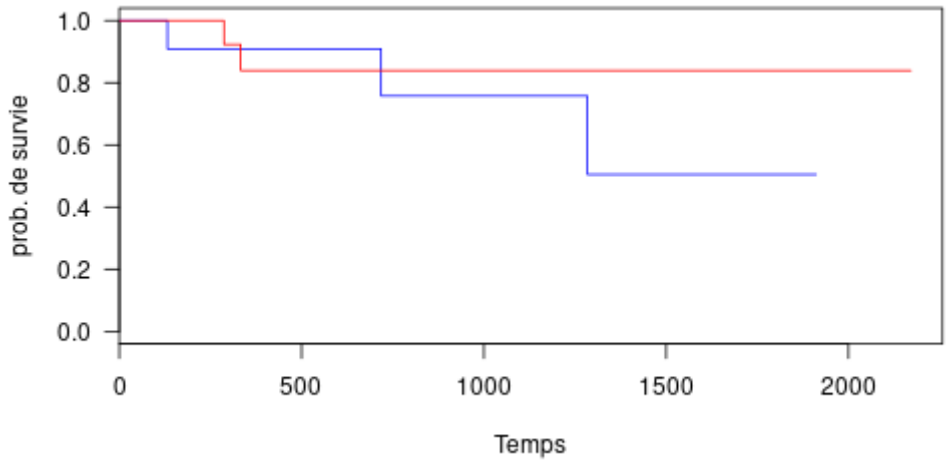

Figure 41 : Survie sans évènement des patients inclus (p=0,34) : anomalies OMS en bleu et anomalies non OMS en rouge.

IV. Discussion

Le diagnostic de SMD repose en grande partie sur l'observation d'anomalies morphologiques caractéristiques qui mettent en évidence une maturation ou un développement cellulaire anormal. La cytologie occupe donc une place prépondérante dans ce diagnostic, notamment dans les MDS-U définis par une anomalie cytogénétique. En effet, dans cette entité très particulière au sein de cette famille d'hémopathies, l'identification précise de chacune de ces anomalies cytologiques est primordiale à une bonne expertise, car pour pouvoir s'assurer que la dysplasie est inférieure à 10% sur chacune des lignées, faut-il pouvoir en reconnaître chaque aspect.

Les limites de la cytologie sont bien connues, liées à l'interprétation et à l'expertise cytologique propres à l'observateur. Les difficultés peuvent être nombreuses et le diagnostic soumis à une variabilité certaine :

- d'une part, interindividuelle avec une incidence possible sur le diagnostic ou la classification exacte de la maladie, l'appréciation qualitative de la dysplasie demandant une évaluation fine et précise d'une multitude d'anomalies morphologiques (18).
- d'autre part, une variabilité intra-individuelle peut être induite par la qualité inégale des prélèvements et des zones de lecture. Des frottis médullaires de bonne qualité sont donc indispensables.

Cette étude a confirmé ces observations, avec la reclassification de 30 des 64 patients sur ces motifs.

Ces variabilités peuvent être réduites par l'expérience du cytologiste et la répétition des comptes. En effet, les recommandations du GFHC de compter un minimum de 500 cellules pour apprécier quantitativement le myélogramme soustraient une grande partie de la variabilité inter comme intra-individuelle (83).

En revanche, l'intégration du nombre précis de blastes médullaires dans la mise à jour de l'IPSS comme critère pondérateur du pronostic soulève des interrogations. Si l'IPSS considérait comme favorable une blastose médullaire inférieure à 5%, l'IPSS-R introduit une nuance entre un nombre inférieur ou égal à 2% et compris entre 3 et 4%. La question d'une

bonne sensibilité et de la reproductibilité se pose alors dans ces conditions (84). Sur un échantillon de 108 prélèvements et à l'aide de 11 cytologistes, Font et *al* ont examiné la reproductibilité entre les catégories ≤2% cellules immatures et entre 3 et 4 %. 32 cas sur 108 étaient discordants entre les cytologistes, ce qui prouvait le manque de reproductibilité à cette limite de sensibilité extrêmement fine.
Dans notre étude, pour 7 des 64 patients, une divergence a été retrouvée qui, sans avoir d'impact sur la classification du SMD, en aurait un sur le score IPSS-R.

Pour ce qui est de l'évaluation de la dysplasie, les anomalies morphologiques ayant permis de reclasser les cas discordants dans notre étude étaient discrètes à modérées (10 à 50% de la ou des lignées impactées). Il est toutefois important de placer certaines limites.

La littérature a exposé que les anomalies citées dans l'OMS pour le diagnostic de la dysérythropoïèse montraient une bonne sensibilité et spécificité. La pertinence d'autres caractéristiques à l'image des ponts cytoplasmiques est beaucoup plus floue. L'équipe de Goasguen a évalué l'intégralité des signes de dysérythropoïèse, ceux décrits par l'OMS et ceux considérés comme évocateurs par la littérature, sur 20 échantillons analysés par 11 cytologistes. Pour notre étude, nous nous sommes basés sur l'ensemble des anomalies présentées dans cet article, par souci d'exhaustivité pour s'assurer de l'exclusion des patients dysplasiques ou évocateurs. (22)

Les ponts cytoplasmiques faisaient partie de cette deuxième catégorie. Goasguen et *al* ont conclu que cette dysmorphie manquait de spécificité, étant couramment retrouvée chez des patients sains et ne pouvait, de ce fait, être un critère de myélodysplasie. Cependant, il s'appuie en partie pour arriver à ce constat sur une autre étude elle-même menée sur 50 patients témoins sains. Celle-ci, mettait en exergue certaines anomalies comme les ponts cytoplasmiques chez les sujets sains, mais aussi des binucléarités érythroblastiques. Or, cette dernière anomalie est considérée comme preuve de dysplasie par l'OMS. De plus, si les ponts cytoplasmiques étaient notés chez 21 patients sur 50, soit 42%, le pourcentage d'érythroblastes affectés allait de 1 à 6%, soit en dessous du seuil de 10% imposé par l'OMS.(85) Il est par conséquent légitime de s'interroger sur la significativité des ponts cytoplasmiques, s'ils sont identifiés en quantité importante dans la population érythroblastique. Nous avons donc décidé d'exclure 4 patients qui présentaient une discrète dysérythropoïèse où des ponts cytoplasmiques étaient retrouvés à hauteur de 15 à 25%.

Le constat est similaire pour les cytoplasmes feuilletés, un des critères OMS de dysérythropoïèse. Ils sont décrits dans la même cohorte saine chez 62% des témoins avec un taux semblable, compris entre 1 et 7%. Il est acquis que l'âge ou les traitements médicamenteux ont un impact sur l'hémoglobinisation érythroblastique, pouvant provoquer l'apparition de cytoplasmes dits feuilletés. D'autre part, si une hémoglobinisation défectueuse peut faire évoquer un SMD avec sidéroblastes, cette indication est purement présomptive, une coloration de Perls étant nécessaire pour conclure (21).

Bien qu'il n'ait pas été retrouvé de SMD avec excès de sidéroblastes dans notre reclassification, un biais non négligeable est cependant à noter. Pour 29 patients de notre cohorte, aucune coloration de Perls n'avait été réalisée dans les centres d'origines, ce qui peut s'expliquer par l'absence d'hyperplasie érythroblastique, à l'exception de 3 d'entre eux, mais pas par la nature de la cytopénie (19 d'entre eux étaient anémiques). D'autre part, l'intégration à l'OMS du critère de la présence ou non du gène *SF3B1* muté au diagnostic des SMD avec excès de sidéroblastes doit être prise en compte (86). Ainsi, une recherche ciblée de cette mutation ou au sein d'un panel NGS peut être indiquée si une sidéroblastose de type III comprise entre 5 et 15 % persiste. Trois patients étaient notamment concernés, mais ont été écartés de cette étude sur d'autres motifs morphologiques.

En second lieu, la significativité du seuil auxquels les anomalies ont été retrouvées a été remise en question. En effet, pour les patients que nous avons exclus, la très grande majorité des dysplasies décrites étaient discrètes, c'est-à-dire touchant entre 10 et 30% des précurseurs, et étaient notées par les CHU participants dans leurs comptes-rendus. Ainsi, les patients n'avaient probablement pas été caractérisés comme SMD sur ces seules anomalies morphologiques en l'absence de contrôle à distance.

Il est alors intéressant de soulever la question de la pertinence de certains de ces seuils, sur laquelle se sont penchées plusieurs études. La dysérythropoïèse, regroupe un large panel d'anomalies morphologiques, mais dont la spécificité dans le diagnostic des SMD est variable et, pour certaines, remise en question. Le panel décrit dans l'OMS reste le « Gold Standard », même si la littérature a mis en évidence que l'analyse de cette lignée demeure moins distinctive que pour les lignées granuleuse et mégacaryocytaire. (87)

Ainsi, l'étude menée par Kawai et *al*. a abouti à la conclusion que le seuil de 20% de dysérythropoïèse serait plus approprié notamment si l'anomalie « condensation anormale de la chromatine » décrite par l'OMS était incluse, celle-ci étant retrouvée de manière discrète chez des patients sans SMD (88).

Matsuda et *al*, en comparant les données biologiques et pronostiques de l'IPSS avec la survie globale des patients, est arrivé à la conclusion que le seuil de 10% de dysplasie était adapté à la dysgranulopoïèse (89). L'hypogranulation a notamment montré sa spécificité dans le diagnostic, si toutefois les conditions analytiques étaient réunies. Le biais de la qualité de la coloration était le plus relevé.

Quant à la lignée mégacaryocytaire, si la présence de micromégacaryocytes était une caractéristique spécifique de la dysplasie, il préconise d'augmenter le seuil de dysmégacaryopoïèse à 30 voire 40 % pour un meilleur diagnostic de SMD et une corrélation plus précise avec la clinique et la survie globale, le nombre de cellules analysées dans cette lignée étant de surcroît plus faible. (19,90)

Ces résultats sont confirmés par notre étude où des discordances entre cytologistes ont été notées pour 12 patients. Quatre d'entre eux pouvant être considérés dysplasiques sur une différence de seulement 1 seul mégacaryocyte entre deux cytologistes sur les 30 observés. L'autre discordance d'ampleur était la détection des micromégacaryocytes, leur reconnaissance demandant une expertise cytologique très fine.

La restriction la plus connue en cytologie et de manière générale en hématologie, en particulier dans le diagnostic des SMD, liée à la variabilité interindividuelle entre cytologistes a été confirmée comme attendu. Mais surtout, cette étude a également révélé d'autres limites, parfois décrites dans la littérature, comme la présence d'anomalies morphologiques dont la spécificité et la pertinence ne sont pas complètement établies d'une part, et de certains seuils diagnostiques qui mériteraient peut-être d'être réévalués au regard de leur manque de spécificité d'autre part.

Pour s'affranchir des erreurs diagnostiques, ces seuils pourraient notamment être adaptés au type d'anomalie observée, avec des signes dits « de significativité forte » fixés à 10% et d'autres plus faibles à un seuil plus élevé. Le contexte clinico-biologique des patients pourrait aussi y être intégré en tant que pondérateur, notamment l'âge, associé aux érythroblastes feuilletés et aux précurseurs hypogranulés.

Enfin, l'intégration de certaines de ces anomalies devrait être confirmée sur de plus grandes cohortes, avec un nombre de cytologistes plus important.
Les variabilités interindividuelles, la significativité incertaine de certaines anomalies morphologiques et la spécificité variable des seuils de détection peuvent s'avérer un frein au diagnostic de MDS-U-C. Ainsi, la sous-estimation de la proportion réelle des patients atteints de cette entité pourrait en partie expliquer sa prévalence faible dans la population.

La recherche précise de la dysplasie est donc indispensable pour exclure un SMD classique, mais c'est sur la cytogénétique que repose aussi le diagnostic de MDS-U-C. Elle fournit une preuve objective de la présence d'un clone médullaire et est essentielle pour la détermination du risque pronostic.

D'après le recueil annuel du GFCH, il a été noté entre 2012 et 2018 une augmentation de 56% des demandes de caryotype pour une ou plusieurs cytopénies isolées pour ne pas méconnaître ces MDS-U-C. Cependant, sur 4 des 9 centres pour lesquels des patients ont été sélectionnés, pour un total de 615 caryotypes réalisés, 21,9% (9,7-33,7%) en moyenne retrouvaient une anomalie, la majorité d'entre elles étant des pertes du chromosome Y ou d'autres anomalies non décrites par l'OMS comme présomptives d'un MDS-U-C. Que peut-on alors conclure vis-à-vis de leur spécificité ?

En premier lieu, il est intéressant d'en citer trois, exclues si retrouvées isolément, car manquant de la spécificité nécessaire pour servir de preuve d'un SMD.

Des anomalies telles que la *del(20q)* et la trisomie 8 se retrouvent fréquemment dans le SMD, mais peuvent l'être dans d'autres troubles myéloïdes et même dans certaines conditions non néoplasiques.

La trisomie 8 peut être découverte chez environ 10 à 17% des patients atteints de SMD. Petrova-Drus et *al* ont étudié prospectivement deux groupes de patients présentant une trisomie 8 isolée : dans les SMD de bas grades et les cytopénies de signification indéterminée. Ils ont montré que les patients atteints d'un SMD de bas grade avaient une tendance à présenter un pourcentage plus élevé de métaphases avec une trisomie 8 par rapport aux ICUS. Sur la faible cohorte d'ICUS, 36% ont alors évolué en SMD ou LAM. Si l'examen morphologique n'a pas montré de différence entre les patients progressant ou non, le pourcentage de métaphases avec une trisomie 8 a montré une tendance à être plus élevé dans le groupe ICUS évoluant en hémopathie.(91)

Ainsi, on peut se demander si la trisomie 8 qui, bien qu'elle soit commune dans la population avec l'âge, pourrait avoir un rôle prédictif de l'évolution d'une cytopénie vers une hémopathie. Dès lors, serait-il intéressant d'inclure les patients avec une ou plusieurs cytopénies et une trisomie 8 dans le MDS-U-C ?

La perte isolée du chromosome Y n'est pas non plus considérée comme un marqueur clonal diagnostic, car elle peut couramment être observée chez les hommes âgés sans aucun signe de maladie hématologique (92). Cependant, sa disparition, même chez des hommes âgés, dans plus de 75% des métaphases, est susceptible d'indiquer une population clonale associée à un processus néoplasique tel un SMD (93).
Chez nos patients, la fréquence des cas avec un clone 45,X,-Y associé à une ou plusieurs autres anomalies cytogénétiques était de 6,3% des caryotypes masculins et représentait 16,4 % de toutes les anomalies cytogénétiques.

La significativité du vaste panel d'anomalies retrouvées dans notre cohorte, qui n'appartiennent pas à ce groupe OMS, est l'autre interrogation mise en lumière par nos résultats. Les anomalies déséquilibrées étaient les plus représentées dans ce groupe. En particulier, la trisomie 15 retrouvée chez 10,5% des patients de notre cohorte n'est pas associée aux anomalies cytogénétiques présomptives d'un MDS-U-C. Son apport informatif est ainsi encore méconnu, mais la littérature a montré qu'il pouvait être comparé à l'aneuploïdie du chromosome Y, identifiée chez des hommes âgés. De plus, les études bibliographiques n'ont pas décrit de caractéristique morphologique ou clinique typique ni montré de lien avec une chimiothérapie antérieure (94). Sa présence, seule ou associée à l'absence de chromosome Y garde donc un rôle comme marqueur de malignité incertain (95). Elle a été retrouvée chez 4 de nos patients inclus, tous des hommes, Trois des patients présentaient un clone 46, X,-Y, +15 et un la trisomie 15 isolée.

Un tour d'horizon des anomalies observées montre que les plus courantes chez nos patients MDS-U-C sont aussi celles les plus retrouvées dans les SMD « classiques » (trisomie 8, *del(5q),* monosomie 7), à l'exception de la perte du chromosome Y non isolée qui était en quantité plus importante dans notre cohorte, ce qui pourrait s'expliquer par un sex-ratio plus en faveur du sexe masculin, mais peu interprétable du faible nombre de patients inclus dans l'étude.

Les délétions du bras long des chromosomes 9 et 11, moins fréquentes, sont toutefois retrouvées à une fréquence plus importante dans notre groupe (9% contre 1 à 3% respectivement dans la population de SMD générale).

Une des principales limites de cette étude concerne la taille de la cohorte, imputable à la faible fréquence de cette entité ou à l'échec diagnostique des centres hospitaliers, universitaires ou non. C'est cette particularité qui a justifié notre sélection rétrospective qui, même si elle offre des résultats moins robustes qu'un recueil prospectif, était la mieux à même de réunir une cohorte suffisante.

Un autre facteur pouvant entrer en cause dans la sous-estimation de cette entité reste la sélection des échantillons étudiés par les services de cytogénétique selon les moyens humains dont ils disposent. En effet, les conditions de mise en cultures sont variables selon les centres et leur activité. Il est possible que le caryotype de patients âgés présentant une ou plusieurs cytopénies sans signe de dysplasie ne soit pas étudié lors du premier prélèvement.

Dans ce contexte, il est difficile de tirer certaines conclusions pour le groupe de patients présentant des anomalies « non-OMS ». En effet, s'ils étaient bien cytopéniques, sans dysplasie significative, ce qui correspondait aux critères OMS, la classification ne considère pas les anomalies retrouvées comme présomptives d'un MDS-U-C.

Cependant, au terme de cette étude, en comparant les résultats des scores IPPS-R des deux entités, il a été montré des différences modérées dans le pronostic des patients selon si l'anomalie était décrite par l'OMS ou non. En effet, cette première catégorie dévoilait des scores plus favorables que la deuxième, ce qu'on pourrait expliquer par le poids de la cytogénétique dans la classification IPSS-R. Néanmoins, en suivant l'évolution des patients sur une médiane de 10,4 mois, le groupe OMS semble présenter une tendance plus défavorable dans temps avec 25% des sujets ayant évolués vers des SMD de haut grade (avec excès de blastes de type I et II), l'un d'entre eux étant décédé des complications de son SMD. Quant au groupe non OMS, seul 4,5% des patients ont évolué vers un autre SMD (avec dysplasie multi-lignée). Ce résultat est à pondérer car 27% des patients ont été perdus de vue.

Dès lors, ces patients présentant une anomalie cytogénétique non décrite par l'OMS doivent-ils être considérés comme MDS-U-C ou comme présentant une cytopénie de signification indéterminée associée à une anomalie clonale quelle qu'elle soit (CCUS)?

Les profils génétiques et épigénétiques, aujourd'hui exclus des classifications diagnostiques, pourraient fournir les informations nécessaires pour éclaircir certaines ambiguïtés diagnostiques des MDS-U-C.
En effet, le séquençage permet d'identifier une ou plusieurs mutations somatiques dans un panel d'une quarantaine de gènes chez plus de 80% des cas de SMD. Or, seulement 50% des patients auront une anomalie au caryotype. Pour les ICUS, la grande majorité ont un caryotype normal. (32)
Si aucune mutation somatique n'est propre aux SMD, *SF3B1, TET2, SRSF2, ASXL1, DNMT3A, RUNX1, U2AF1, TP53,* et *EZH2* sont les mutations les plus retrouvées en termes de fréquence.

Dans l'étude prospective de Kwok et *al*, sur 144 patients suspectés d'avoir un SMD sur la présence une cytopénie, 24 ont été classés en SMD, 21 ont montré des signes équivoques de dysplasie et 99 n'en ont pas montré. L'étude du profil mutationnel de ces patients a dévoilé des similarités entre les deux premiers groupes avec une ou plusieurs mutations retrouvées chez 71% des patients SMD et 62% avec une dysplasie non significative contre seulement 20% chez les ICUS.
La principale limite de cet article est de ne pas apporter les informations cytogénétiques complètes des patients, ce qui ne permet pas de faire la différence dans le groupe étiqueté « sans dysplasie significative » entre les MDS-U-C et les CCUS.

La présence de certaines anomalies sur le profil génétique des patients dont le caryotype fait suspecter un MDS-U-C serait-elle alors la clé pour conduire avec plus de précision au diagnostic différentiel entre MDS-U-C, ICUS et CCUS ?

Afin de permettre une meilleure compréhension de la nature des MDS-U-C, l'objectif désormais est de réaliser le profil mutationnel de ces patients par NGS. Après recueil des culots médullaires auprès des différents centres, les manipulations seront réalisées dans les mois qui suivent ces travaux.

Ainsi, il s'agira alors de déterminer, en fonction du type des gènes atteints, du nombre de mutations retrouvées, et de la charge allélique mutée si ce profil se rapproche plutôt des CCUS ou des SMD conventionnels.

D'autre part, les résultats de cette étude pourraient permettre d'affiner la classification diagnostique avec une éventuelle mise en évidence de certains types de mutations somatiques évocatrices de cette entité. En comparant les résultats génétiques, cytogénétiques ainsi que la progression éventuelle de ces patients, il serait alors possible d'évaluer plus précisément l'évolution et le pronostic qui en découle.

Le matériel médullaire congelé lors du diagnostic de MDS-U-C par les CHU sera récupéré pour les tests moléculaires complémentaires par NGS. Le panel utilisé (Annexe IV) comprend 58 gènes pan-myéloïdes (panel mixte SMD, LAM et SMP) et la technique sera réalisée sur Illumina NextSeq^{MC} 550.

Enfin, pour en tirer le maximum d'enseignements, ces résultats seront confrontés aux patients de la base de données des SMD du Dr Dimicoli-Salazar du CHU de Bordeaux (référence CNIL : VEc2491306D).

Conclusion

Au sein de la grande famille des syndromes myélodysplasiques, une entité rare et méconnue se démarque : les syndromes myélodysplasiques inclassables. Apparue récemment dans la classification OMS 2008, cette catégorie accueille trois entités : les SMD avec 1% de blastes circulants, les SMD avec dysplasie unilignée associés à une pancytopénie et les SMD inclassables définis par une anomalie cytogénétique. C'est sur cette dernière qu'a porté notre étude. En effet, de nombreux paramètres restent encore inconnus à ce jour, notamment son incidence précise, ses caractéristiques épidémiologiques, son pronostic ou encore son évolution. Ainsi, les objectifs de cette étude sont de déterminer si cette entité de MDS-U-C existe véritablement, si elle fait consensus parmi les cytologistes et d'étudier les caryotypes et autres données clinico-biologiques de ces patients dans le but de dégager certaines caractéristiques propres au MDS-U-C. 64 patients ont été ainsi sélectionnés de manière rétrospective sur 9 CHU français, en fonction de la présence d'une anomalie cytogénétique (hors perte du chromosome Y, trisomie 8 et *del(20q)* isolée) chez des patients pour lesquels une cytopénie explorée par un myélogramme ne mettait pas évidence de dysplasie significative.

La relecture de ces 64 myélogrammes par trois cytologistes en double aveugle, de façon standardisée, sans avoir connaissance des résultats initiaux des CHU et après confrontation des expertises qualitatives, a permis d'obtenir un recueil de 34 patients atteints de MDS-U-C. Les caractéristiques cytogénétiques des patients inclus ont ensuite été comparées à celles décrites par l'OMS et à celles qui, bien que marqueur de clonalité, n'étaient pas considérés comme présomptives d'un SMD. L'âge médian de diagnostic, le sex-ratio et la profondeur des cytopénies n'a pas montré de différences significatives entre les deux groupes. Parmi le groupe OMS, les anomalies retrouvées étaient celles qui étaient le plus décrites dans la littérature tandis que dans le groupe non OMS, un panel vaste d'anomalies a été mis en évidence, majoritairement déséquilibrées. Seule la trisomie 15 se démarquait en nombre, mais sa spécificité reste encore débattue dans les SMD.

Ces résultats ont soulevé de nouvelles questions, notamment la pertinence clinico-biologiques des anomalies non décrites par l'OMS.

En conclusion, cette étude a permis de dégager une des plus grosses cohortes de MDS-U-C décrite dans la littérature. Après discussion de la pertinence des anomalies morphologiques, nous avons comparé les profils cytogénétiques pour affiner les caractéristiques des MDS-U-C, ouvrant ainsi la voie à des explorations complémentaires par NGS prochainement réalisées.

Bibliographie

1. Zini G. Diagnostics and Prognostication of Myelodysplastic Syndromes. Ann Lab Med. nov 2017;37(6):465;74.
2. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Revised 4th edition. Weltgesundheitsorganisation, Pileri SA, Stein H, Thiele J, éditeurs. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2017. 585 p. (World Health Organization classification of tumours).
3. Maassen A, Strupp C, Giagounidis A, Kuendgen A, Nachtkamp K, Hildebrandt B, et al. Validation and proposals for a refinement of the WHO 2008 classification of myelodysplastic syndromes without excess of blasts. Leuk Res. janv 2013;37(1):64‑70.
4. Neukirchen J, Lauseker M. Validation of the revised international prognostic scoring system (IPSS-R) in patients with myelodysplastic syndrome: a multicenter study. - PubMed - NCBI [Internet].
5. Look AT. Molecular Pathogenesis of MDS. Hematol Am Soc Hematol Educ Program. 2005;156‑60.
6. Malcovati L, Cazzola M. The shadowlands of MDS: idiopathic cytopenias of undetermined significance (ICUS) and clonal hematopoiesis of indeterminate potential (CHIP). ASH Educ Program Book. 12 mai 2015;2015(1):299;307.
7. Dao K-HT. Myelodysplastic syndromes: updates and nuances. Med Clin North Am. mars 2017;101(2):333;50.
8. Bejar R, Ebert BL. The genetic basis of myelodysplastic syndromes. Hematol Oncol Clin North Am. avr 2010;24(2):295‑315.
9. Cazzola M, Della Porta MG, Malcovati L. The genetic basis of myelodysplasia and its clinical relevance. Blood. 12 déc 2013;122(25):4021‑34.
10. Montalban-Bravo G, Garcia-Manero G. Myelodysplastic syndromes: 2018 update on diagnosis, risk-stratification and management. Am J Hematol. 1 janv 2018;93(1):129‑47.
11. Greenberg PL. Apoptosis and its role in the myelodysplastic syndromes: implications for disease natural history and treatment. Leuk Res. 1 déc 1998;22(12):1123‑36.
12. Steensma DP, Bejar R, Jaiswal S, Lindsley RC, Sekeres MA, Hasserjian RP, et al. Clonal hematopoiesis of indeterminate potential and its distinction from myelodysplastic syndromes. Blood. 2 juill 2015;126(1):9‑16.
13. Yang L, Qian Y, Eksioglu E, Epling-Burnette PK, Wei S. The inflammatory microenvironment in MDS. Cell Mol Life Sci. 1 mai 2015;72(10):1959‑66.
14. Grignano E, Jachiet V, Fenaux P, Ades L, Fain O, Mekinian A. Autoimmune manifestations associated with myelodysplastic syndromes. Ann Hematol. nov 2018;97(11):2015‑23.
15. Ifrah N, Maynadié M. Société Française d'Hématologie [Internet]. 2018
16. Rauh MJ. Standardizing dysgranulopoiesis in MDS and AML: refining diagnostics and laying the foundation for novel morphological-genetic correlations. Leuk Res. avr 2014;38(4):428‑9.
17. Glauser T, Sagatys E. Current pathology practices in and barriers to MDS diagnosis. - Abstract - Europe PMC.

18. Senent L, Arenillas L, Luño E, Ruiz JC, Sanz G, Florensa L. Reproducibility of the World Health Organization 2008 criteria for myelodysplastic syndromes. Haematologica. 1 avr 2013;98(4):568‑75.
19. Parmentier S, Schetelig J, Lorenz K, Kramer M, Ireland R, Schuler U, et al. Assessment of dysplastic hematopoiesis: lessons from healthy bone marrow donors. Haematologica. mai 2012;97(5):723‑30.
20. Germing U, Strupp C, Giagounidis A, Haas R, Gattermann N, Starke C, et al. Evaluation of dysplasia through detailed cytomorphology in 3156 patients from the Düsseldorf Registry on myelodysplastic syndromes. Leuk Res. juin 2012;36(6):727‑34.
21. Haematologica Atlas of Hematologic Cytology.
22. Goasguen J, Bennett JM, Renault A. Dyserythropoiesis in the diagnosis of the myelodysplastic syndromes and other myeloid neoplasms: problem areas. 2018 - PubMed - NCBI
23. Lignées granuleuses [Internet]. [cité 11 juill 2019]. Disponible sur: http://bioimage.free.fr/hem_image/lignees_granuleuses.php#mblaste1
24. Von Jolly J. Traite Technique D'Hermatologie. Morphologie - Histogenese - Histophysiologie - Histopathologie 2 Volumes von Jolly J.: Maloine, Paris Hardcover, First Edition. - Webbooks, Wigtown.
25. Goasguen JE, Bennett JM, Bain BJ, Brunning R, Vallespi M-T, Tomonaga M, et al. Proposal for refining the definition of dysgranulopoiesis in acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes. Leuk Res. avr 2014;38(4):447‑53.
26. Gustke SS, Becker GA, Garancis JC, et al. Chromatin clumping in mature leuco-cytes: an hitherto unrecognized abnormality. Blood 1970;35:637–58.
27. Frequency of Drumsticks in Normal Women and in Patients with Chromosomal Abnormalities | Nature
28. Goasguen JE, Bennett JM, Bain BJ, Brunning RD, Vallespí M-T, Tomonaga M, et al. Quality control initiative on the evaluation of the dysmegakaryopoiesis in myeloid neoplasms: Difficulties in the assessment of dysplasia. Leuk Res. 2016;45:75‑81.
29. Eclache V, Lafage-Pochitaloff M, Lefebvre C, Penther D, Raynaud S, Tigaud I. Cytogenetic place in managing myelodysplastic syndromes: an update by the Groupe francophone de cytogénétique hématologique (GFCH). Ann Biol Clin (Paris). sept 2016;74(5):525‑34.
30. Sebaa A, Ades L, Baran-Marzack F, Mozziconacci M-J, Penther D, Dobbelstein S, et al. Incidence of 17p deletions and TP53 mutation in myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia with 5q deletion. Genes Chromosomes Cancer. déc 2012;51(12):1086‑92.
31. Wiktor AE, Van Dyke DL, Hodnefield JM, Eckel-Passow J, Hanson CA. The significance of isolated Y chromosome loss in bone marrow metaphase cells from males over age 50 years. Leuk Res. oct 2011;35(10):1297‑300.
32. Kwok B, Hall JM, Witte JS, Xu Y, Reddy P, Lin K, et al. MDS-associated somatic mutations and clonal hematopoiesis are common in idiopathic cytopenias of undetermined significance. Blood. 19 nov 2015;126(21):2355‑61.
33. Nazha A, Seastone DP, Keng M, Hobson S, Kalaycio M, Maciejewski JP, et al. The Revised International Prognostic Scoring System (IPSS-R) is not predictive of survival in patients with secondary myelodysplastic syndromes. Leuk Lymphoma. 2015;56(12):3437‑9.
34. Papaemmanuil E, Gerstung M, Malcovati L, Tauro S, Gundem G, Van Loo P, et al. Clinical and biological implications of driver mutations in myelodysplastic syndromes. Blood. 21 nov 2013;122(22):3616‑27; quiz 3699.

35. Bejar R, Stevenson KE, Caughey BA, Abdel-Wahab O, Steensma DP, Galili N, et al. Validation of a prognostic model and the impact of mutations in patients with lower-risk myelodysplastic syndromes. J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol. 20 sept 2012;30(27):3376‑82.
36. Nazha A, Narkhede M, Radivoyevitch T, Seastone DJ, Patel BJ, Gerds AT, et al. Incorporation of molecular data into the Revised International Prognostic Scoring System in treated patients with myelodysplastic syndromes. Leukemia. 2016;30(11):2214‑20.
37. Patel SS, Sekeres MA, Nazha A. Prognostic models in predicting outcomes in myelodysplastic syndromes after hypomethylating agent failure. Leuk Lymphoma. 2017;58(11):2532‑9.
38. Valent P, Orazi A, Steensma DP, Ebert BL, Haase D, Malcovati L, et al. Proposed minimal diagnostic criteria for myelodysplastic syndromes (MDS) and potential pre-MDS conditions. Oncotarget. 5 juill 2017;8(43):73483‑500.
39. Tiu RV, Gondek LP, O'Keefe CL, Elson P, Huh J, Mohamedali A, et al. Prognostic impact of SNP array karyotyping in myelodysplastic syndromes and related myeloid malignancies. Blood. 28 avr 2011;117(17):4552‑60.
40. Song Q, Peng M, Chu Y, Huang S. Techniques for detecting chromosomal aberrations in myelodysplastic syndromes. Oncotarget. 9 mai 2017;8(37):62716‑29.
41. Gondek LP, Tiu R, O'Keefe CL, Sekeres MA, Theil KS, Maciejewski JP. Chromosomal lesions and uniparental disomy detected by SNP arrays in MDS, MDS/MPD, and MDS-derived AML. Blood. 1 févr 2008;111(3):1534‑42.
42. Cluzeau T, Moreilhon C, Mounier N, Karsenti J-M, Gastaud L, Garnier G, et al. Total genomic alteration as measured by SNP-array-based molecular karyotyping is predictive of overall survival in a cohort of MDS or AML patients treated with azacitidine. Blood Cancer J. 1 nov 2013;3:e155.
43. Bento LC, Correia RP, Pitangueiras Mangueira CL, De Souza Barroso R, Rocha FA, Bacal NS, et al. The Use of Flow Cytometry in Myelodysplastic Syndromes: A Review. Front Oncol . 15 nov 2017
44. Maynadié M, Picard F, Husson B, Chatelain B, Cornet Y, Le Roux G, et al. Immunophenotypic clustering of myelodysplastic syndromes. Blood. 1 oct 2002;100(7):2349‑56.
45. Ogata K, Kishikawa Y, Satoh C, Tamura H, Dan K, Hayashi A. Diagnostic application of flow cytometric characteristics of CD34+ cells in low-grade myelodysplastic syndromes. Blood. 1 août 2006;108(3):1037‑44.
46. Satoh C, Dan K, Yamashita T, Jo R, Tamura H, Ogata K. Flow cytometric parameters with little interexaminer variability for diagnosing low-grade myelodysplastic syndromes. Leuk Res. 1 mai 2008;32(5):699‑707.
47. Ogata K, Kishikawa Y. Flow cytometry « Ogata score » for the diagnosis of myelodysplastic syndromes in a real-life setting. A Latin American experience. - PubMed - NCBI.
48. Hong M, He G. The 2016 Revision to the World Health Organization Classification of Myelodysplastic Syndromes. J Transl Intern Med. 30 sept 2017;5(3):139‑43.
49. Kelaidi C, Rocha AOD, Fenaux P. Syndrome 5q- : caractéristiques hématologiques, physiopathologie et traitement. Hématologie. 29 sept 2008;14(4):259‑69.
50. Guide du parcours de soin - Insuffisances médullaires et autres cytopénies chroniques - Syndromes myélodysplasiques. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/guidem_syndrome_myelo_version_web_2008_05_20__8_32_46_696.pdf

51. Germing U, Kündgen A. Prognostic scoring systems in MDS. Leuk Res. déc 2012;36(12):1463‑9.
52. Greenberg PL, Tuechler H, Schanz J, Sanz G, Garcia-Manero G, Solé F, et al. Revised International Prognostic Scoring System for Myelodysplastic Syndromes. Blood. 20 sept 2012;120(12):2454‑65.
53. Breccia M, Salaroli A, Loglisci G, Alimena G. Revised IPSS (IPSS-R) stratification and outcome of MDS patients treated with azacitidine. Ann Hematol. 1 mars 2013;92(3):411‑2.
54. Sekeres MA, Swern AS, Fenaux P, Greenberg PL, Sanz GF, Bennett JM, et al. Validation of the IPSS-R in lenalidomide-treated, lower-risk myelodysplastic syndrome patients with del(5q). Blood Cancer J. août 2014;4(8):e242.
55. Della Porta MG, Alessandrino EP, Bacigalupo A, van Lint MT, Malcovati L, Pascutto C, et al. Predictive factors for the outcome of allogeneic transplantation in patients with MDS stratified according to the revised IPSS-R. Blood. 10 avr 2014;123(15):2333‑42.
56. Steensma DP. Myelodysplastic syndromes current treatment algorithm 2018. Blood Cancer J [Internet]. 24 mai 2018
57. De Montalembert M, Ribeil J-A, Brousse V, Guerci-Bresler A, Stamatoullas A, Vannier J-P, et al. Cardiac iron overload in chronically transfused patients with thalassemia, sickle cell anemia, or myelodysplastic syndrome. Connes P, éditeur. PLOS ONE. 3 mars 2017;12(3):e0172147.
58. Breccia M, Finsinger P, Loglisci G, Federico V, Santopietro M, Colafigli G, et al. Deferasirox treatment for myelodysplastic syndromes: « real-life » efficacy and safety in a single-institution patient population. Ann Hematol. sept 2012;91(9):1345‑9.
59. Park S, Kelaidi C, Sapena R, Vassilieff D, Beyne-Rauzy O, Coiteux V, et al. Early introduction of ESA in low risk MDS patients may delay the need for RBC transfusion: a retrospective analysis on 112 patients. Leuk Res. nov 2010;34(11):1430‑6.
60. Comission de transparence HAS - EPREX. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/upload/docs/evamed/CT-16361_EPREX_PIC_EI_SMD_Avis3_CT16361.pdf
61. Brierley CK, Steensma DP. Thrombopoiesis-stimulating agents and myelodysplastic syndromes. Br J Haematol. mai 2015;169(3):309‑23.
62. Zeidan AM, Linhares Y, Gore SD. Current therapy of myelodysplastic syndromes. Blood Rev. sept 2013;27(5):243‑59.
63. Comission de transparence HAS - VISAZA. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2009-05/vidaza_-_ct-6362.pdf
64. Gore SD, Fenaux P, Santini V, Bennett JM, Silverman LR, Seymour JF, et al. A multivariate analysis of the relationship between response and survival among patients with higher-risk myelodysplastic syndromes treated within azacitidine or conventional care regimens in the randomized AZA-001 trial. Haematologica. juill 2013;98(7):1067.
65. Gil-Perez A, Montalban-Bravo G. Management of myelodysplastic syndromes after failure of response to hypomethylating agents. Ther Adv Hematol
66. Baidoun F, Chen D, Alkhateeb H, Zblewski D, Elliott M, Hogan WJ, et al. Clinical Outcome of Patients Diagnosed with Myelodysplastic Syndrome-Unclassifiable (MDS-U): Single Center Experience. Blood. 6 déc 2014;124(21):3264‑3264.
67. Al-Kali A, Zblewski D. Outcome of Myelodysplastic Syndromes Over Time in the United States: A National Cancer Data Base Study From 2004-2013.
68. Strupp C, Nachtkamp K, Hildebrandt B, Giagounidis A, Haas R, Gattermann N, et al. New proposals of the WHO working group (2016) for the diagnosis of myelodysplastic syndromes (MDS): Characteristics of refined MDS types. Leuk Res. 2017;57:78‑84.

69. Margolskee E, Hasserjian RP, Hassane D, Tam W, Mathew S, Ok CY, et al. Myelodysplastic Syndrome, Unclassifiable (MDS-U) With 1% Blasts Is a Distinct Subgroup of MDS-U With a Poor Prognosis. Am J Clin Pathol. 1 juill 2017;148(1):49‑57.
70. Knipp S, Strupp C, Gattermann N, Hildebrandt B, Schapira M, Giagounidis A, et al. Presence of peripheral blasts in refractory anemia and refractory cytopenia with multilineage dysplasia predicts an unfavourable outcome. Leuk Res. janv 2008;32(1):33‑7.
71. Matsuda A, Germing U, Jinnai I, Araseki K, Kuendgen A, Strupp C, et al. Differences in the distribution of subtypes according to the WHO classification 2008 between Japanese and German patients with refractory anemia according to the FAB classification in myelodysplastic syndromes. Leuk Res. août 2010;34(8):974‑80.
72. Pierre R. 45,X cell lines in adult men: loss of Y chromosome, a normal aging phenomenon? - PubMed - NCBI
73. Maciejewski JP, Risitano A, Sloand EM, Nunez O, Young NS. Distinct clinical outcomes for cytogenetic abnormalities evolving from aplastic anemia. Blood. 1 mai 2002;99(9):3129‑35.
74. Steensma DP, Dewald GW, Hodnefield JM, Tefferi A, Hanson CA. Clonal cytogenetic abnormalities in bone marrow specimens without clear morphologic evidence of dysplasia: a form fruste of myelodysplasia? Leuk Res. mars 2003;27(3):235‑42.
75. Jaiswal S, Fontanillas P, Flannick J, Manning A, Grauman PV, Mar BG, et al. Age-related clonal hematopoiesis associated with adverse outcomes. N Engl J Med. 25 déc 2014;371(26):2488‑98.
76. Steensma DP, Bejar R, Jaiswal S, Lindsley RC, Sekeres MA, Hasserjian RP, et al. Clonal hematopoiesis of indeterminate potential and its distinction from myelodysplastic syndromes. Blood. 2 juill 2015;126(1):9‑16.
77. Bejar R. What biologic factors predict for transformation to AML? Best Pract Res Clin Haematol. 2018;31(4):341‑5.
78. McGowan-Jordan J, Simons A, Schmid M. ISCN: an international system for human cytogenomic nomenclature (2016). International Standing Committee on Human Cytogenomic Nomenclature, éditeur. Basel ; New York: Karger; 2016. 139 p.
79. Le Registre des Syndromes Myélodysplasiques – CCM : Connaitre et Combattre les Myelodysplasies. Disponible sur: https://www.myelodysplasies.org/actualites/registre-des-smd/
80. Karyotypic and fluorescent in situ hybridization study of the centromere of chromosome 7 in secondary myeloid neoplasms. - PubMed - NCBI [Internet]. [cité 28 mars 2020]. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23049358
81. Schanz J, Tüchler H, Solé F, Mallo M, Luño E, Cervera J, et al. New comprehensive cytogenetic scoring system for primary myelodysplastic syndromes (MDS) and oligoblastic acute myeloid leukemia after MDS derived from an international database merge. J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol. 10 mars 2012;30(8):820‑9.
82. Senent L, Arenillas L, Luño E, Ruiz JC, Sanz G, Florensa L. Reproducibility of the World Health Organization 2008 criteria for myelodysplastic syndromes. Haematologica. avr 2013;98(4):568‑75.
83. Recommandations du GFHC. Disponible sur: http://www.gfhc.fr/upload/LE%20MYELOGRAMME%20GFHC.pdf
84. Font P, Loscertales J, Soto C, Ricard P, Novas CM-, Martín-Clavero E, et al. Interobserver variance in myelodysplastic syndromes with less than 5 % bone marrow

blasts: unilineage vs. multilineage dysplasia and reproducibility of the threshold of 2 % blasts. Ann Hematol. avr 2015;94(4):565‑73.
85. Bain BJ. The bone marrow aspirate of healthy subjects. Br J Haematol. juill 1996;94(1):206‑9.
86. Cazzola M, Rossi M, Malcovati L, Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro Gruppo Italiano Malattie Mieloproliferative. Biologic and clinical significance of somatic mutations of SF3B1 in myeloid and lymphoid neoplasms. Blood. 10 janv 2013;121(2):260‑9.
87. Matsuda A, Germing U, Jinnai I, Iwanaga M, Misumi M, Kuendgen A, et al. Improvement of criteria for refractory cytopenia with multilineage dysplasia according to the WHO classification based on prognostic significance of morphological features in patients with refractory anemia according to the FAB classification. Leukemia. avr 2007;21(4):678‑86.
88. Kawai N, Matsuda A, Jinnai I, Ichimura T, Kayano H, Okamura D, et al. Proposal of criteria for dyserythropoiesis in the diagnosis of myelodysplastic syndromes. Int J Hematol. févr 2016;103(2):227‑33.
89. Matsuda A. Morphologic diagnosis of myelodysplastic syndromes. Rinsho Ketsueki. 2017;58(4):336‑46.
90. Della Porta MG, Travaglino E, Boveri E, Ponzoni M, Malcovati L, Papaemmanuil E, et al. Minimal morphological criteria for defining bone marrow dysplasia: a basis for clinical implementation of WHO classification of myelodysplastic syndromes. Leukemia. janv 2015;29(1):66‑75.
91. Petrova-Drus K, Hasserjian R, Pozdnyakova O, Dal Cin P, Mathew S, Margolskee E, et al. Clinicopathologic evaluation of cytopenic patients with isolated trisomy 8: a detailed comparison between idiopathic cytopenia of unknown significance and low-grade myelodysplastic syndrome. Leuk Lymphoma. 2017;58(3):569‑77.
92. Weinberg OK, Hasserjian RP. The current approach to the diagnosis of myelodysplastic syndromes☆. Semin Hematol. janv 2019;56(1):15‑21.
93. Wiktor A, Rybicki BA, Piao ZS, Shurafa M, Barthel B, Maeda K, et al. Clinical significance of Y chromosome loss in hematologic disease. Genes Chromosomes Cancer. janv 2000;27(1):11‑6.
94. Hanson CA, Steensma DP, Hodnefield JM, Nguyen PL, Hoyer JD, Viswanatha DS, et al. Isolated trisomy 15: a clonal chromosome abnormality in bone marrow with doubtful hematologic significance. Am J Clin Pathol. mars 2008;129(3):478‑85.
95. Sinclair EJ, Potter AM, Watmore AE, Fitchett M, Ross F. Trisomy 15 associated with loss of the Y chromosome in bone marrow: a possible new aging effect. Cancer Genet Cytogenet. août 1998;105(1):20‑3.

Table des Figures

Figure 1 : Catégories de gènes couramment mutés dans les SMD. (7) 10
Figure 2 : Distribution des évènements mutationnels dans les SMD. (10) 11
Figure 3 : Modèle évolutif de l'hématopoïèse normale vers l'hématopoïèse clonale et, éventuellement, une hémopathie. (12) 12
Figure 4 : Modèle inflammatoire de la pathogenèse des SMD induit par le microenvironnement de la moelle osseuse chez les personnes âgées. (13).....13
Figure 5 : Érythropoïèse physiologique. De gauche à droite : Proérythroblaste, érythroblaste basophile, érythroblaste polychromatophile et érythroblaste acidophile.....17
Figure 6 : Granulopoïèse. De gauche à droite : myéloblaste, promyélocyte, myélocyte, métamyélocyte. (22).....20
Figure 7 : Neutrophiles médullaires classés en fonction de la richesse de leur contenu granulaire. (24).....20
Figure 8 : Polynucléaires Pseudo-Pelger-Huet. (24).....21
Figure 9 : Polynucléaire avec présence de deux drumsticks. (24) 22
Figure 10 : Polynucléaire géant. (24).....22
Figure 11 : Mégacaryocyte mature non dysplasique. (27) 23
Figure 12 : Mégacaryocytes à noyau hypolobé. (27) 23
Figure 13 : Micromégacaryocyte mature. (27) 24
Figure 14 : Mégacaryocytes multi-nucléés. (27) 24
Figure 15 : Mégacaryocyte avec un cytoplasme vacuolisé. (27).....25
Figure 16 : Type, fréquence et nombre de lésions détectées par caryotype et SNP array. ...29
Figure 17 : Algorithme de traitement des SMD.(62).....39
Figure 18 : Délai de dépendance à la transfusion à partir du diagnostic en fonction de l'apparition de l'ESA. (65) 40
Figure 19 : Les CHIP comme précurseurs d'hémopathies. (46).....47
Figure 20 : Les mutations somatiques de la CHIP à la LA. (83).....47
Figure 21 : Répartition des patients selon leur CHU d'origine. 50
Figure 22 : Répartition selon l'OMS des patients exclus, reclassés en SMD par l'analyse cytologique. 53

Figure 23 : Profondeur de la dysplasie observée. 53
Figure 24 : Sélection des patients.....54
Figure 25 : Répartition des anomalies morphologiques des patients reclassées. 54
Figure 26 : Nature de la dysérythropoïèse dans le groupe reclassé. 55
Figure 27 : Nature de la dysgranulopoïèse dans le groupe reclassé.....56
Figure 28 : Nature de la dysmégacaryopoïèse dans le groupe reclassé. 56
Figure 29 : Description de la répartition de la richesse médullaire. 58
Figure 30 : Description de la répartition de la richesse mégacaryocytaire.....58
Figure 31 : Pourcentage de cellules immatures médullaires observées.....59
Figure 32 : Répartition des anomalies génétiques du groupe inclus selon l'OMS. 60
Figure 33 : Distribution des anomalies cytogénétiques non-OMS. 63
Figure 34: Répartition du pronostic du groupe inclus selon les anomalies génétiques (à gauche : décrite par l'OMS ; à droite : non décrite par l'OMS). 64
Figure 35 : Répartition des scores IPSS des patients inclus selon l'anomalie cytogénétique (à gauche : décrite par l'OMS ; à droite : non décrite par l'OMS). 64
Figure 36 : Répartition des scores IPSS de l'ensemble des SMD d'après le GFM. (85) 65
Figure 37 : Répartition des scores IPSS-R des patients inclus selon l'anomalie cytogénétique (à gauche : décrite par l'OMS ; à droite : non décrite par l'OMS). 65
Figure 38 : Répartition en pourcentage des scores IPSS-R de l'ensemble des SMD d'après le GFM. (85) 66
Figure 39 : Évolution des MDS-U-C chez les patients inclus (à gauche : décrite par l'OMS ; à droite : non décrite par l'OMS). 67
Figure 40 : Survie globale des patients inclus (p=0,18) : anomalies OMS en bleu et anomalies non OMS en rouge. 69
Figure 41 : Survie sans progression des patients inclus (p=0,34) : anomalies OMS en bleu et anomalies non OMS en rouge. 69

Table des Tableaux

Tableau 1 : Anomalies chromosomiques récurrentes et leur fréquence (2) 27
Tableau 2 : Score d'Ogata (46) 30
Tableau 3 : Critères de la classification des SMD, OMS 2016.(53).....33
Tableau 4 : Calcul du score pronostic IPSS. (4) 34
Tableau 5 : Groupes de risques selon le score IPSS et médiane de survie. (4).....35
Tableau 6 : Calcul du score WPSS. (53) 35
Tableau 7 : Groupes de risques selon le score WPSS et médiane de survie. (53) 36
Tableau 8 : Score pronostic IPSS-R. (54).....36
Tableau 9 : Classification cytogénétique IPSS-R. (54).....37
Tableau 10 : Groupes de risques selon le score IPSS-R et médiane de survie. (54) 37
Tableau 11 : Anomalies cytogénétiques des SMD selon l'OMS 2016. (2).....44
Tableau 12 : Diagnostic différentiel des CHIP, cytopénies idiopathiques et SMD. D'après Montalban et al. (10) 47
Tableau 13 : Statistiques descriptives de l'hémogramme dans la cohorte incluse. 57
Tableau 14 : Comparaison des populations de la cohorte selon le type d'anomalies cytogénétiques. 60
Tableau 15 : Antécédent néoplasique et thérapeutique dans la cohorte sélectionnée. 61
Tableau 16 : Distribution des anomalies cytogénétiques type OMS.....62
Tableau 17 : Caractéristiques des patients MDS-U-C ayant progressé. 68

Liste des abréviations

AREB-I : Anémie réfractaire avec excès de blastes de type I

AREB-II : Anémie réfractaire avec excès de blastes de type II

ARS : Anémie Réfractaire Sidéroblastique

BM : Blastes médullaires

BS: Blastes sanguins

CCSS: Comprehensive Cytogenetic Scoring System

CCUS: Clonal Cytopenia of Undermines Significance

CGR : Concentrés de Globules Rouges

CHIP : Clonal Hematopoiesis of Indeterminate Potential

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

CMF : Cytométrie en Flux

CSH : Cellules Souches Hématopoïétiques

CRDU : Cytopénie Réfractaire avec Dysplasie Unilignée

CSI : Cytopénies de Signification Indéterminées

DysMG : Dysmégacaryopoïèse

ELN : European Leukemia Net

ESA : Erythropoiesis-stimulating agent (Agents inducteurs de l'érythropoïèse)

FAB : Franco-Américano- Britannique

FISH : Fluorescence *In Situ* Hybridization (Hybridation *in situ* en fluorescence)

G-CSF : Granulocytes Colony-Stimulating Factor (Facteur de croissance granuleux)

GFHC : Groupe Francophone d'Hématologie Cellulaire

GFCH : Groupe Français de Cytogénétique Hématologique

GFM : Groupe Français des Myélodysplasies

IDIC: Isodicentrique

IWGM-SMD: International Working Group on Morphology of Myelodysplastic Syndromes

Hb : Hémoglobine

HPN : Hémoglobinurie Paroxystique Nocturne

ICUS : Idiopathic Cytopenia of Undetermined Significance (Cytopénie idiopathique de signification indéterminée)

LA : Leucémie aigüe

LAM : Leucémie Aiguë Myéloïde

MB: Lymphocytose B monoclonale

MDS-U : Syndromes Myélodysplasiques Inclassables

MDS-U-B : Syndromes Myélodysplasiques Inclassables avec 1% de blastes

MDS-U-C : Syndromes Myélodysplasiques Inclassables définis par une anomalie cytogénétique

MDS-U-P : Syndromes Myélodysplasiques Inclassables unilignées avec pancytopénie

MGG: May-Grünwald Giemsa

MGUS : Monoclonal Gammapathy of Undermined Significance (Gammapathie monoclonale de signification indéterminée)

PNN : Polynucléaires Neutrophiles

PEO : Polynucléaires Éosinophiles

PB : Polynucléaires Basophiles

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ROS : Reactive Oxygen Species (Espèces réactives dérivées de l'oxygène)

SFH : Société Française d'Hématologie

SMD : Syndromes Myélodysplasiques

SMD-EB : Syndromes Myélodysplasiques avec Excès de Blastes

SMD-ML : Syndromes Myélodysplasiques Multi-Lignées

SMD-SC : Syndromes Myélodysplasiques avec Sidéroblastes en Couronne

SMD-UL : Syndromes Myélodysplasiques Uni-Lignées

NGS : Next Generation Sequençage (Séquençage nouvelle génération)

UPD : Disomie uniparentale segmentaire

VAF : Variant Allele Fractions

WPSS: WHO-based Prognostic Scoring System

Annexes

I. Classification des anomalies morphologiques dysplasiques :

A. Dysérythropoïèse

0 : Erythroblaste normal.

1 : Erythroblaste avec bourgeonnement ou lobulation nucléaire.

2 : Pont inter-nucléaire : bande de chromatine reliant deux érythroblastes.

3 : Erythroblastes reliés par des ponts cytoplasmiques.

4 : Caryorrhexis : noyau pycnotique en désintégration (chromatine dense avec perte de structure). Ces noyaux peuvent présenter des lobulations, mais ne sont pas associés à la catégorie 1 s'ils sont pycnotiques. De même, ils peuvent présenter des fragmentations du noyau sans appartenir à la catégorie 12 s'ils sont pycnotiques.

5 : Erythroblastes bi-nucléaires.

6 : Erythroblaste présentant trois ou plus noyaux.

7 : Erythroblaste avec deux ou plus noyaux dont la taille et le degré de condensation de la chromatine diffèrent.

8: Vacuoles cytoplasmiques :

a. Vacuoles de formes irrégulières et fusionnantes.
b. Vacuoles rondes.
c. Autres vacuoles : Vacuoles positives à l'acide de Schiff (PAS) ou contenant des traces de débris pouvant évoquer des vacuoles autophagiques.

9 : Défaut d'hémoglobinisation (zones de cytoplasme feuilleté). Ces cellules peuvent contenir des corps de Pappenheimer, identifiables à la coloration de Perls.

10 : Mégaloblaste : érythroblaste de taille augmentée présentant un asynchronisme de maturation nucléo-cytoplasmique (la chromatine est plus fine ou décondensée qu'attendu au vu du degré de maturation cytoplasmique)

11 : Macronormoblaste : érythroblaste de taille augmentée sans asynchronisme nucléo-cytoplasmique.

12 : Fragment nucléaire détaché : inclusion cytoplasmique composée de chromatine condensée de type corps de Howell-Jolly. (Peut être le résultat d'un bourgeonnement du noyau ou représenter un chromosome détaché du fuseau mitotique lors de la mitose)

13: Ponctuations basophiles : inclusions basophiles multiples (non nécessairement petites ou dispersées dans le cytoplasme).

14 : Erythroblaste géant. Peut présenter un cytoplasme fin, être multi-nucléé ou avoir un noyau polylobé.

15 : Autre anomalie dysplasique

16 : Figure mitotique

17 : Sidéroblastes en couronne identifiables à la coloration de Perls.

B. Dysgranulopoïèse

0 : Précurseur granuleux normal.

1 : Hypogranulation ou agranulation des progéniteurs granuleux : une réduction d'au moins 2/3 des granules est considérée comme dysplasique.

2 : Noyau de type pseudo-Pelger-Huet : noyau en bissac ou non segmenté (ovalaire).

3 : Hypersegmentation ou segmentation irrégulière du noyau : strictement supérieure à cinq lobes.

4 : Condensation anormale de la chromatine : mottes séparés de zones claires, mimant une fragmentation nucléaire.

5 : Nombre de projections du noyau (drumsticks) augmenté : plus de quatre drumsticks pour être significatif.

6 : Neutrophiles géants ou macropolycyte : au moins deux fois plus grand qu'une cellule normale (volontiers > 20 µm), souvent associé à une segmentation nucléaire anormale.

7 : Basophilie cytoplasmique persistante : corps de Döhle.

8 : Corps d'Auer.

9 : Granules de type pseudo Chediak-Higashi.

C. ***Dysmégacaryopoïèse***

0 : Mégacaryocyte mature normal.

2 : Mégacaryocyte de taille normale avec un noyau hypolobé ou non lobé.

3 : Micro-mégacaryocyte.

4 : Mégacaryocytes multi-nucléés.

5 : Anomalie cytoplasmique :

a. Vacuolisation.
b. Hypogranulation ou agranulation.
c. Asynchronisme de maturation : persistance de la basophilie.

II. Exemple d'anomalies morphologiques de dysmyélopoïèse.

A. Dysérythropoïèse

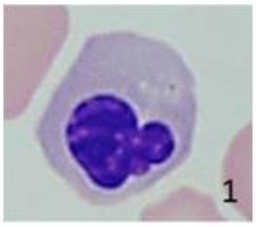

Figure 1 : Erythroblaste avec lobulation

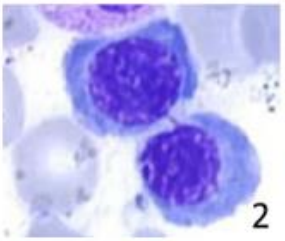

Figure 2 : Pont inter-nucléaire

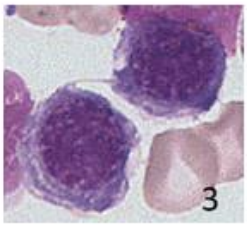

Figure 3 : Pont cytoplasmiques

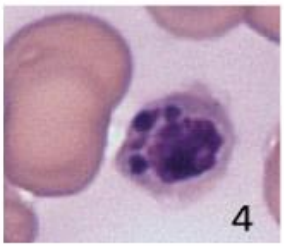

Figure 4 : Caryorrhexis

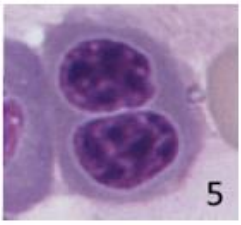

Figure 5 : Erythroblastes bi-nucléaires

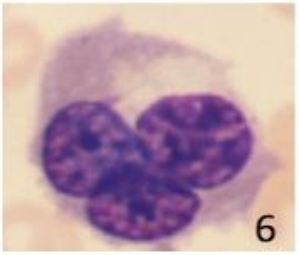

Figure 6 : Erythroblastes multinucléés

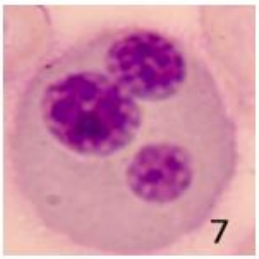

Figure 7 : Degrés de maturation nucléaire différents

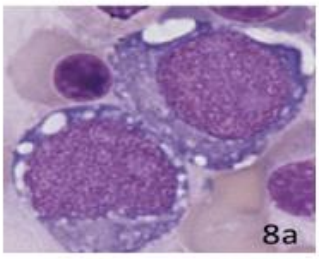

Figure 8a : Vacuoles irrégulières

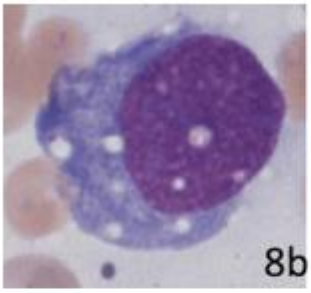

Figure 8b : Vacuoles rondes

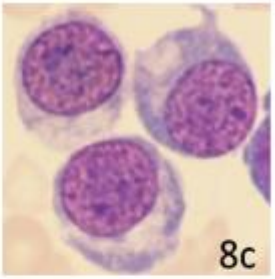

Figure 8c : Autres vacuoles

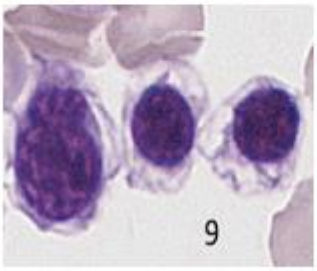

Figure 9 : Cytoplasme feuilleté

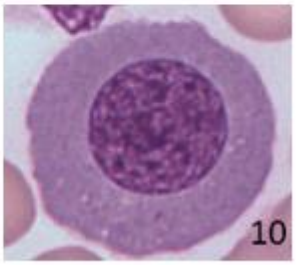

Figure 10 : Mégaloblaste

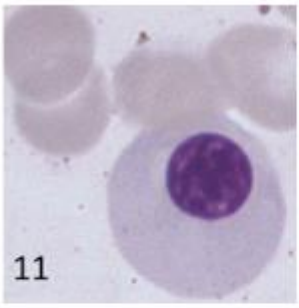

Figure 11 : Macronormoblaste

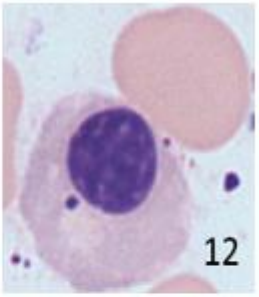

Figure 12 : Fragment nucléaire détaché

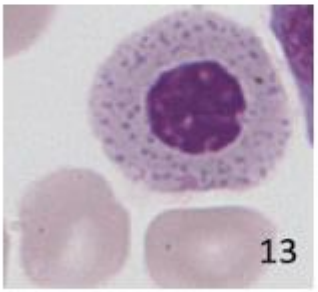

Figure 13 : Inclusions basophiles

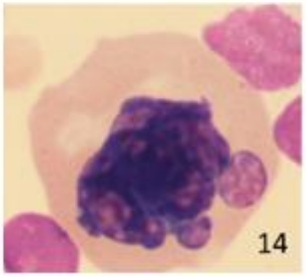

Figure 14 : Erythroblaste géant

Figure 15 : Figure Mitotique

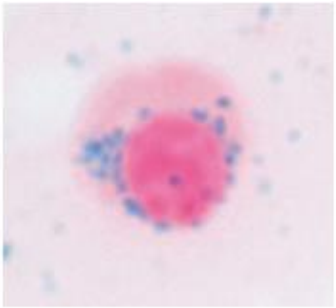

Figure 16 : Sidéroblaste en couronne

B. *Dysgranulopoïèse*

Figure 17 : Précurseur Granuleux normal

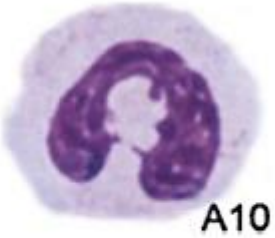

Figure 18 : Hypogranulation neutrophile

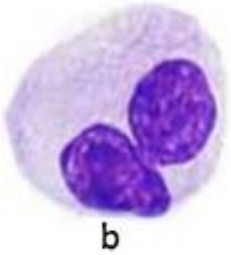

Figure 19 : Cellule Pseudo Pelger-Huët

Figure 20 : Noyau hypersegmenté

Figure 21 : Condensation anormale de la chromatine

Figure 22 : Drumsticks

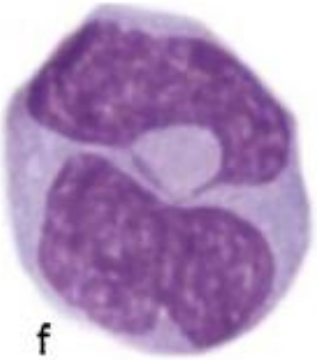

Figure 23 : Macropolycyte

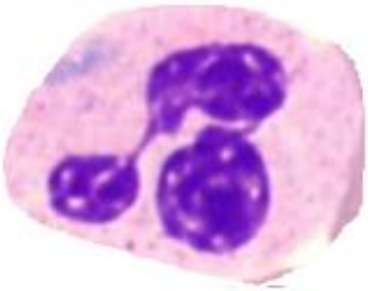

Figure 24 : Corps de Döhle

Figure 25 : Corps d'Auer

Figure 26 : Granules pseudo Chédiak-Higashi

C. *Dysmégacaryopoïèse*

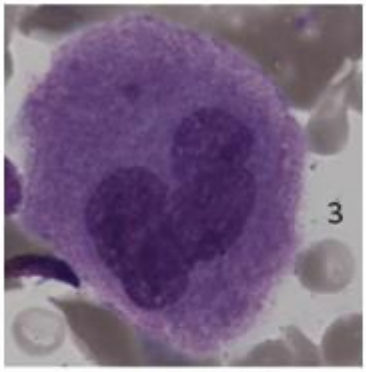

Figure 27 : Mégacaryocyte mature

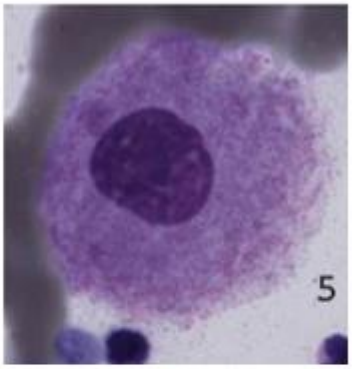

Figure 28 : Mégacaryocyte de taille normale avec un noyau hypolobé

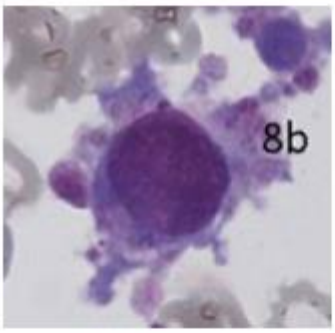

Figure 29 : Micromégacaryocyte

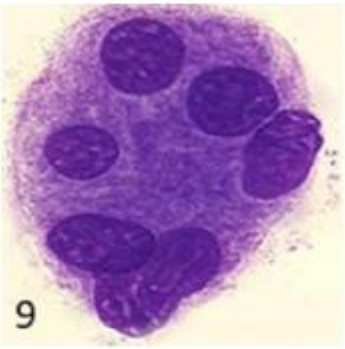

Figure 30 : Mégacaryocytes multi-nucléés

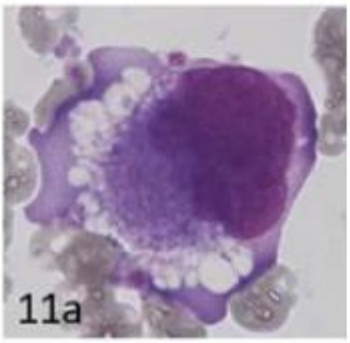

Figure 31 : Vacuolisation cytoplasmique

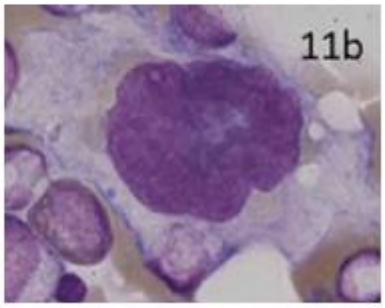

Figure 32 : Cytoplasme hypogranulé ou agranulation

III. Fiche de renseignements

CYTOGENETICIEN RESPONSABLE DU DOSSIER

NOM, Prénom :……...

Centre :…….

Adresse :……...

Tel :……...Fax:……

Mail :……

CYTOLOGISTE RESPONSABLE DU DOSSIER

NOM, Prénom :……...

Centre :…….

Adresse :……...

Tel :……...Fax:……

Mail :……

CLINICIEN RESPONSABLE DU DOSSIER

NOM, Prénom :……...

Centre :…….

Adresse :……...

Tel :……...Fax:……

Mail :……

IDENTIFICATION DU PATIENT

NOM : 3 premières lettres du **nom**, 2 premières lettres du **prénom** : __ __ __ /

Date de Naissance (JJ/MM/AAAA) : ____/ ___/ _____

Sexe (M,F) : ___

RENSEIGNEMENTS CLINICO-BIOLOGIQUES

Date du diagnostic (JJ/MM/AAAA) : ____/ ___/ _____

Antécédents :

Néoplasie associée (préciser) :……

Exposition professionnelle à un agent mutagène (préciser) :…….

Traitement antérieur (radiothérapie, chimiothérapie, à préciser) :……

Autre :……

Résultats biologiques

- **Numération Formule Sanguine :** joindre la NFS, sinon remplir l'annexe I

  Date de l'examen *:*

- **Myélogramme** : joindre le CR du myélogramme, sinon remplir l'annexe II

  Date de l'examen *:*

  → **Diagnostic (selon le FAB et l'OMS)**

- **Immunophénotypage** : fait / Non fait

  joindre le CR du résultat

- **Clone HPN** : fait / Non fait

  Résultat :

- **Mutations moléculaires recherchées**: OUI / NON

  Laboratoire responsable de l'analyse de Biologie Moléculaire :

Anomalies trouvées :

- **Paramètres biochimiques** (si disponibles)

Paramètres	Résultat
Ferritine	
Folates sériques	
Folates erythrocytaires	
Vitamine B12	
Créatinine	
TSH	
CRP	
Bilirubine	
Haptoglobine	

IV - Evolution de la maladie

Date des dernières nouvelles……

Traitements…….

Evolution en MDS : Oui / Non / Inconnu / Non applicable (si oui, rajouter une fiche cytologie)

Si oui, date : Type OMS : % blastes médullaires :

Traitements…….

……..

Transformation en LAM : Oui / Non / Inconnu (si oui, rajouter une fiche cytologie)

Si oui, date : Type FAB ou OMS : % blastes médullaires :

Traitements…….

……..

……..

Caryotype de la LAM : fait / non fait (si fait rajouter à la fiche cytogénétique) et mentionner en particulier s'il y a des modifications par rapport au caryotype initial

Décès : Oui / Non / Inconnu

Si oui : date : ……cause (si connue) :

MATERIEL CONGELE

Culot de cytogénétique : Oui / Non Date : ……

Culot de cytogénétique : Oui / Non Date :
……..

Culot de cytogénétique : Oui / Non Date :
……..

Cellules DMSO : Oui / Non Date : Nbre cell. (millions) / tube : Nbre tubes :

ADN génomique : Oui / Non Date : Nbre µg :

ARN : Oui / Non Date : Nbre µg :

ADN complémentaire : Oui / Non Date : Nbre µg :

Consentement du patient oui/non

DOSSIER CYTOGENETIQUE

Date du prélèvement : ……

Type de prélèvement : Sang |___| Moelle |___| Autre|___| :……..

Temps de culture : Additifs : Synchronisation : Oui / Non

Caryotype :

Bandes : RHG|___| GTG|___| QFQ|___|

Nombre de mitoses étudiées : Nombre de mitoses avec anomalie clonale :

Nombre modal : Nombre de clones anormaux :

Formule chromosomique :

……...

Caryotype de l'évolution (LAM, AREB ….) : fait / non fait
Mentionner en particulier s'il y a des modifications par rapport au caryotype initial

Date du prélèvement :

Type de prélèvement : Sang |___| Moelle |___| Autre|___| :……..

Formule chromosomique :

……...

Etude FISH :

1ère Sonde utilisée (fournisseur / localisation) :

Nombre de métaphases anormales / nombre de métaphases analysées:
soit : %

Type anomalie :

Nombre de noyaux anormaux / nombre de noyaux analysés: soit : %

Type anomalie : Seuil de positivité : %

Autres Sondes utilisées : rajouter une feuille FISH éventuellement

Formule ISCN 2013 : ……...

……...

……...

Modifications du caryotype après FISH :

……...

COMMENTAIRES DU SOUS-GROUPE : lieu, date

COMMENTAIRES DU GROUPE : date

IV. Panel myéloïde Illumina Capture^{CM} Agilent

Gène	Transcrit	Exon(s)
ANKRD26	NM_014915.2	5'UTR
ASXL1	NM_015338.5	entier
ASXL2	NM_018263	exons 11-12
BCOR	NM_001123385	entier
BCORL1	NM_021946	entier
CALR	NM_004343.3	exon 9
CBL	NM_005188.2	entier
CCND2	NM_001759.3	exon 5
CEBPA	NM_4364.3	entier
CSF3R	NM_156039.3	entier
CUX1	NM_181552.3	entier
DDX41	NM_016222	entier
DHX15	NM_001358.2	exon 3
DNMT3A	NM_175629.1	entier
ETNK1	NM_018638	3
ETV6	NM_001987.4	entier
EZH2	NM_004456.4	entier
FLT3	NM_004119	entier
GATA1	NM_002049.3	entier
GATA2	NM_032638	entier + intron 4

Gène	Transcrit	Exon(s)
GNAS	NM_000516.5	exon 8
GNB1	NM_002074.4	exons 5-6
IDH1	NM_005896.2	entier
IDH2	NM_002168.2	entier
IKZF1	NM_006060.6	entier
JAK2	NM_004972	entier
KDM6A	NM_021140.2	entier
KIT	NM_000222.2	entier
KMT2C	NM_170606.3	entier
KRAS	NM_033360.2	entier
MPL	NM_005373.2	entier
MYC	NM_001354870	entier
NFE2	NM_006163.2	entier
NPM1	NM_002520	11
NRAS	NM_002524.3	entier
PHF6	NM_001015877	entier
PPM1D	NM_003620	6
PTEN	NM_000314.4	5-7
PTPN11	NM_002834.3	3 et 13
RAD21	NM_006265.2	entier

Gène	Transcrit	Exon(s)
RIT1	NM_006912	5
RUNX1	NM_001754.4	entier
SAMD9	NM_017654	entier
SAMD9L	NM_001303497.2	entier
SETBP1	NM_015559.2	exon 4 : SKI
SF3B1	NM_012433.2	13 à 16
SH2B3	NM_005475.2	entier
SMC1A	NM_006306	entier
SMC3	NM_005445.3	entier
SRSF2	NM_003016.4	entier
SRY	NM_003140.2	entier
STAG2	NM_001042749.2	entier
TERC	NM_001566.1	entier
TERT	NM_198253	entier
TET2	NM_001127208.1	entier
TP53	NM_000546.4	entier
U2AF1	NM_001025203.1	entier
WT1	NM_001198551	7 et 9
ZRSR2	NM_005089	entier