

**MÉMOIRE DU DIPLÔME D'ÉTUDES
SPÉCIALISÉES DE BIOLOGIE MÉDICALE**

Soutenu devant le jury interrégional le 20 Juin 2017 par Robin BOUTAULT

Conformément aux dispositions du Décret n° 2012-172 du 3 février

THÈSE
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

**Intérêt de l'analyseur SYSMEX XN-10® dans le dépistage des syndromes
myélodysplasiques à partir d'une numération formule sanguine**

Composition de Jury :

Président : Madame le Professeur Marie-Christine BENE

Assesseurs : Monsieur le Professeur Jean-Marie BARD

Monsieur le Professeur Marc MAYNADIE

Monsieur le Docteur Pierre PETERLIN

Directeur de thèse : Madame le Docteur Marion EVEILLARD

**Les travaux présentés dans ce mémoire ont été réalisés au sein du Service d'Hématologie
Biologique du Pôle Laboratoires du CHU de Nantes
(Chef de service : Professeur Marie-Christine Béné)**

REMERCIEMENTS

A mes juges,

A Madame le Professeur Marie-Christine BENE,
Professeur des Universités – Praticien Hospitalier, Laboratoire d’Hématologie Biologique,
CHU de Nantes

Après m’avoir accueilli dans votre service, vous me faites l’honneur de présider le jury de cette thèse. Veuillez trouver ici le témoignage de toute ma reconnaissance et de mon profond respect.

A Monsieur le Professeur Jean-Marie BARD,
Professeur des Universités – Praticien Hospitalier, Laboratoire de Biochimie, Institut de
Cancérologie de l’Ouest

Vous me faites l’honneur de faire partie de mon jury de thèse. Soyez assuré de mon profond respect et de ma reconnaissance.

A Monsieur le Professeur Marc MAYNADIE,
Professeur des Universités – Praticien Hospitalier, Laboratoire d’Hématologie Biologique,
CHU de Dijon

Vous me faites l’honneur de juger ce travail. Soyez assuré de mon profond respect et de ma grande reconnaissance.

A Monsieur le Docteur Pierre PETERLIN,
Praticien Hospitalier, Service d’Hématologie Clinique, CHU de Nantes

Pour l’honneur que vous me faites d’avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse, pour l’intérêt que vous portez aux activités du laboratoire d’hématologie et pour votre implication clinique sans laquelle ce travail n’eut été possible. Soyez assuré de mon respect et de toute ma gratitude.

A ma directrice de thèse, Madame le Docteur Marion EVEILLARD,
Praticien Hospitalier, Laboratoire d’Hématologie Biologique, CHU de Nantes

*Je te suis reconnaissant de m’avoir accordé ta confiance et confié ce travail. Merci pour ton implication, tes conseils et ta réactivité, en espérant que ces travaux en appellent d’autres.
Merci*

REMERCIEMENTS

Je tiens également à remercier,

La société SYSMEX® et particulièrement Monsieur Jean-Pierre Pérol,

Je tiens à remercier la société SYSMEX® pour nous avoir permis de réaliser ces travaux, et tout particulièrement Monsieur Jean-Pierre Pérol pour sa grande réactivité, ses compétences et son enthousiasme sans lesquels cette étude n'aurait pas été possible.

Monsieur Marouane Boubaya,

Je tiens également à remercier Monsieur Marouane Boubaya pour la réalisation de l'analyse statistique.

L'ensemble des biologistes et techniciens des laboratoires des CHU de Nantes et d'Angers que j'ai cotoyé durant mon internat, et notamment des laboratoires d'Hématologie,

Pour votre accueil, votre enseignement et vos conseils, pour m'avoir fait partager votre expérience et vos connaissances et pour m'avoir fait découvrir cette discipline passionnante qu'est l'hématologie.

L'ensemble du personnel médical et infirmier du service d'Hématologie Clinique du CHU de Nantes,

Sans qui ce travail n'aurait pu être réalisé.

A mes co-internes,

A mes co-internes nantais et angevins,

Merci pour ces quatre années passées en votre compagnie. Plus que de simples relations courtoises entre co-internes, ce sont de véritables amitiés que j'ai eu la chance de tisser avec certains d'entre vous (qui se reconnaîtront sans peine).

REMERCIEMENTS

A mes proches,

A mes parents, ma sœur et mon frère,

Merci pour votre soutien infaillible, votre patience, vos encouragements, votre aide et votre affection.

A mes ami(e)s de la TDL, et les autres...

Ces années d'études auront été une occasion privilégiée pour me mener à l'essentiel, une amitié sincère et immuable. Merci à vous les « historiques » (Martin, Hugo, Paul, Jeff, Pierre-Antoine, Julie, Damien, Hélène, Johanna, Arthur) et les nantais (Anthony, Maxime, Grégoire, Solen, Sophie, Claire).

A Astrid,

Merci pour ton soutien de tous les instants, pour la grande patience dont tu fais preuve à mon égard, pour ta présence et surtout pour ton amour depuis déjà six belles années. Je suis très heureux et fier de les avoir partagées avec toi et surtout impatient d'écrire une nouvelle page de notre histoire commune dès cet été.

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES ABREVIATIONS	14
TABLE DES FIGURES.....	18
LISTE DES TABLEAUX.....	22
ANNEXES.....	26
INTRODUCTION GENERALE	27
PARTIE A : GENERALITES.....	29
I. LES SYNDROMES MYELODYSPLASIQUES (SMD).....	29
I.1. Définition et épidémiologie des SMD.....	29
I.2. Classification des SMD : historique et évolution.....	33
I.3. Critères diagnostiques des SMD	36
I.4. Physiopathologie et aspects moléculaires des SMD	38
a) Oncogenèse des SMD	38
b) Phénotype biologique	40
c) Hématopoïèse clonale (CHIP).....	41
d) Caractéristiques des <i>CHIP</i> , <i>ICUS</i> , <i>CCUS</i> et distinction avec les SMD	44
e) SMD et mutations somatiques.....	46
(1) Gènes impliqués dans la régulation épigénétique	47
(2) Gènes impliqués dans l'épissage.....	50
(3) Gènes impliqués dans la transcription et la signalisation intracellulaire	50
(4) Gènes impliqués dans la ségrégation chromosomique.....	51

SOMMAIRE

(5) Principaux gènes d'intérêt dans les SMD et fréquence de leurs mutations	52
I.5. Diagnostic des SMD.....	53
a) Aspects cliniques.....	53
b) Hémogramme	54
(1) Caractéristiques de l'hémogramme	54
(2) Aspects morphologiques	55
(a) Lignée érythrocytaire.....	55
(b) Lignée plaquettaire	59
(c) Lignée granuleuse.....	60
c) Myélogramme	65
(1) Evaluation de la cellularité médullaire.....	65
(2) Lignée érythroblastique.....	67
(3) Lignées granuleuses	72
(a) Evaluation de la dysplasie	72
(b) Evaluation et caractérisation de la blastose médullaire	74
(4) Lignée mégacaryocytaire	75
d) Cytogénétique.....	77
d) Cytométrie en flux (CMF).....	82
e) Biologie moléculaire	83
(1) Fréquence des mutations dans les SMD.....	83
(2) Rôle dans le diagnostic des SMD.....	84
(3) Intérêt dans l'évaluation pronostique des SMD	84

SOMMAIRE

f)	Examens complémentaires	88
(1)	Biochimie	88
(2)	Autres examens	89
g)	Récapitulatif des examens biologiques dans les SMD.....	90
I.6.	SMD atypiques et diagnostic différentiel.....	91
a)	Syndromes mixtes myélodysplasiques / myéloprolifératifs.....	91
b)	SMD pancytopéniques	92
c)	SMD et atteinte unilignée.....	93
d)	Anémies sidéroblastiques congénitales.....	93
e)	Causes non néoplasiques	94
I.7.	Détermination du risque évolutif des SMD.....	95
a)	Score IPSS : <i>International Prognostic Scoring System</i>	95
b)	Révision du score IPSS : l'IPSS-R.....	97
(1)	Données cytogénétiques	97
(2)	Score IPSS-R : <i>Revised International Prognostic Scoring System</i>	102
c)	Autres scores évaluant le risque évolutif.....	103
d)	Limites des scores évaluant le risque évolutif des SMD.....	105
I.8.	Prise en charge thérapeutique des SMD.....	106
a)	Prise en charge des SMD de bas risque.....	107
(1)	Traitement de l'anémie.....	108
(a)	Agents stimulants l'érythropoïèse	108
(b)	Traitement de seconde ligne des SMD de faible risque	110

SOMMAIRE

(2) Traitement de la thrombopénie	113
(3) Traitement de la neutropénie.....	115
(4) Traitement d'une pancytopénie	115
b) Patients candidats à l'allogreffe	116
c) Prise en charge des SMD de haut risque en dehors de l'allogreffe.....	121
(1) Chimiothérapie intensive.....	122
(2) Agents hypométhylants	123
(3) Nouvelles molécules dans le traitement des SMD de haut risque.....	127
d) Traitements symptomatiques.....	129
(1) Transfusions érythrocytaires	129
(2) Transfusions plaquettaires.....	130
(3) Prophylaxie et traitements des infections.....	130
(4) Traitement chélateur du fer	130
e) Critères de réponse	131
II. ANALYSEUR EN HEMATOLOGIE CELLULAIRE.....	133
II.1. Introduction.....	133
II.2. Place de l'analyseur SYSMEX XN-10 [®] en hématologie cellulaire.....	134
II.3. Analyseurs d'hématologie cellulaire et SMD	134
II.4. Caractéristiques de l'automate SYSMEX XN-10 [®]	136
II.5. Principes de mesure du XN-10 [®] et applications	136
a) Principes	136
(1) Impédance	136

SOMMAIRE

(2) Cytométrie en flux.....	138
b) Applications à la lignée érythrocytaire.....	139
(1) Hématies.....	139
(2) Hémoglobine	139
(3) Hématocrite et constantes érythrocytaires : VGM, CCMH, TCMH, IDR-SD .	140
(4) Réticulocytes	141
c) Applications à la lignée plaquettaire	142
(1) Mesure par impédance	142
(2) Mesure par fluorocytométrie.....	143
d) Applications à la lignée leucocytaire	144
(1) Numération leucocytaire : canal WNR	144
(2) Formule leucocytaire : canal WDF	145
II.6. Paramètres de recherche et SMD	147
a) Paramètres érythrocytaires	147
(1) IRF : <i>Immature Reticulocyte Fraction</i>	147
(2) RET-He : <i>Reticulocyte Haemoglobin equivalent</i>	148
b) Paramètres plaquettares.....	148
(1) IPF : <i>Immature Platelet Fraction</i>	148
(2) H-IPF : <i>High Immature Platelet Fraction</i>	149
c) Paramètres leucocytaires	149
(1) NEUT-SSC.....	149
(2) Ne-WX	150

SOMMAIRE

(3) Autres paramètres de la lignée leucocytaire.....	150
PARTIE B : ETUDE	151
I. OBJECTIF	151
II. PATIENTS, MATERIEL ET METHODES	152
II.1. Cohorte témoin.....	152
II.2. Patients avec SMD au diagnostic.....	152
a) Introduction	152
b) Age	153
c) Sexe	154
d) Répartition des SMD selon les classifications OMS 2008 ET OMS 2016	155
e) Répartition des SMD selon les classifications IPSS et IPSS-R	158
II.3. Analyse statistique : méthodologie	161
III. RESULTATS.....	162
III.1. Cohorte globale.....	162
a) Données de la NFS	162
(1) Résultats de l'hémogramme	162
(2) Données morphologiques	165
b) Examens biochimiques.....	166
c) Myélogramme	166
(1) Cellularité médullaire	166
(2) Lignée mégacaryocytaire	167

SOMMAIRE

(3) Evaluation de la blastose médullaire.....	167
(4) Evaluation de l'érythroblastose médullaire.....	168
(1) Etude de la morphologie	168
III.2. SMD répartis en sous-classes.....	169
a) SMD avec excès de blastes	169
b) SMD avec dysplasie multilignée.....	171
c) SMD-RS-DUL	172
d) SMD-dul et SMD avec del(5q)	174
e) Comparaison des sous-groupes de SMD.....	175
III.3. Cytogénétique	181
III.4. Prise en charge thérapeutique	185
a) SMD de faible risque.....	185
b) SMD de haut risque.....	186
III.5. Score de dépistage des SMD.....	188
a) Limites du paramètre NEUT-SSC dans l'aide au diagnostic des SMD.....	188
b) Seuil des cytopénies	189
c) Paramètres d'intérêts : analyse univariée et multivariée.....	192
d) Equation du modèle.....	196
(a) Score de dépistage	196
(b) Score complémentaire	199
b) Performances du modèle	204
IV. DISCUSSION	206

SOMMAIRE

V. CONCLUSION	213
VI. ANNEXES.....	215
Références bibliographiques	222
Serment de Galien	239

LISTE DES ABBREVIATIONS

LISTE DES ABBREVIATIONS

- ADN : Acide DésoxyriboNucléique
- ALIP : Localisation Anormale de Précurseurs Immatures
- AMM : Autorisation de mise sur le marché
- ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé
- AR : Anémie réfractaire
- Ara-C : Cytarabine
- AREB1 : Anémie réfractaire avec excès de blastes de type 1
- AREB2 : Anémie réfractaire avec excès de blastes de type 2
- AREB-t : Anémie réfractaire avec excès de blastes en transformation
- ARN : Acide RiboNucléique
- ARSI : Anémie réfractaire sidéroblastique idiopathique
- ARSI-T : Anémie réfractaire sidéroblastique avec thrombocytose
- ASE : Agents stimulant l'érythropoïèse
- ASXL1 : Additional Sex-Comb Like 1*
- ATG : *Antithymocyte globulin*
- ATRA : *All-trans retinoic acid* (Acide tout trans-rétinoïque)
- AZA : Azacitidine
- BOM : Biopsie ostéomédullaire
- BSC : *Best supportive care* (soins de support)
- CCUS : *Clonal cytopenia of undetermined significance*
- CD : Cluster de différenciation
- CFU-GM : *Colony-forming unit-granulocyte macrophage*
- CHIP : Hématopoïèse clonale de signification indéterminée (*Clonal Hematopoiesis of Indeterminate Potential*)
- CHU : Centre hospitalier universitaire
- CMF : Cytométrie en flux
- CR : *Complete response* (réponse complète)
- CRDM : Cytopénie réfractaire avec dysplasie multilignée
- CRDM-RS : Cytopénie réfractaire avec dysplasie multilignée et sidéroblastes en couronne
- CRU : Cytopénie réfractaire avec dysplasie unilignée
- CSH : Cellule souche hématopoïétique

LISTE DES ABBREVIATIONS

DAC : Decitabine
del(5q) : délétion 5q
DFS : *Disease free survival* (survie sans maladie)
DNMT3A : *DNA methyltransferase 3A*
EB : Erythroblaste
EPO : Erythropoïétine
EZH2 : *Enhancer of zeste homolog 2*
FAB : Franco-Américain Britannique
FISH : *Fluorescence in situ hybridization* (hybridation in situ en fluorescence)
FSC : *Forward Scatter*
G-CSF : *Granulocyte colony-stimulating factor* (facteur de croissance granulocytaire)
GFHC : Groupe Francophone d'Hématologie Cellulaire
GFM : Groupe Francophone des Myélodysplasies
GPI : Glycosyl phosphatidylinositol
GVH : *Graft versus host* (réaction du greffon contre l'hôte)
GVL : *Graft versus leukemia* (réaction du greffon contre la tumeur)
HAS : Haute Autorité de la Santé
Hb : Hémoglobine
HDACi : Inhibiteurs d'histone déacétylase
HI : *Hematological improvement* (amélioration hématologique)
HLA : *Human Leukocyte Antigen*
HPN : Hémoglobinurie paroxystique nocturne
ICUS : *Idiopathic cytopenia of undetermined significance*
IDH : Isocitrate déshydrogénase
IDUS : *Idiopathic dysplasia of undetermined significance*
IPSS : *International prognostic scoring system*
IPSS-R : *Revised-international prognostic scoring system*
LAM : Leucémie aiguë myéloïde
LLC : Leucémie lymphoïde chronique
LEN : Lénalidomide
LMC : Leucémie myéloïde chronique
LMMC : Leucémie myélomonocytaire chronique

LISTE DES ABBREVIATIONS

MBL : *Monoclonal B-cell lymphocytosis*

MGG : May-Grünwald Giemsa

MGUS : *Monoclonal gammopathy of undetermined significance*

NF- κ B : *Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*

NGS : *Next generation sequencing* (séquençage de nouvelle génération)

NFS : Numération formule sanguine

NR : Neutropénie réfractaire

NRM : *Non-relapse mortality* (mortalité non provoquée par une rechute de la maladie)

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PNB : Polynucléaire basophile

PNE : Polynucléaire éosinophile

PNN : Polynucléaire neutrophile

PR : *Partial remission* (rémission partielle)

PTAI : Purpura thrombopénique auto-immun

RIC : *Reduced-Intensity Conditioning* (Conditionnement à intensité réduite)

RC : Rémission complète

RP : Rémission partielle

RS : *Ring sideroblastes* (sidéroblastes en couronne)

SAL : Sérum antilymphocytaire

SF3B1 : *Splicing factor 3B subunit 1*

SMD : Syndrome myélodysplasique

SMD-EB-1 : Syndrome myélodysplasique avec excès de blastes de type 1

SMD-EB-2 : Syndrome myélodysplasique avec excès de blastes de type 2

SMD-DUL : Syndrome myélodysplasique avec dysplasie unilignée

SMD-RS-DUL : Syndrome myélodysplasique avec dysplasie unilignée et sidéroblastes en couronne

SMD-DML : Syndrome myélodysplasique avec dysplasie multilignée

SMD-RS-DML : Syndrome myélodysplasique avec dysplasie multilignée et sidéroblastes en couronne

SMD del(5q) : Syndrome myélodysplasique avec délétion 5q-

SRSF2 : *Serine/arginine-rich splicing factor 2*

SSC : *Side Scatter*

LISTE DES ABBREVIATIONS

TET2 : Ten eleven translocation 2

TNF : Tumor necrosis factor

TPO : Thrombopoïétine

TR : Thrombopénie réfractaire

TSH : Thyroid-stimulating hormone (thyréotropine)

U2AF1 : U2 small nuclear RNA auxiliary factor 1

WPSS : WHO classification based prognosis scoring system

LISTE DES FIGURES

TABLE DES FIGURES

Figure 1 : Incidence des SMD selon l'âge et le sexe, d'après Neukirchen J., et al. [4].....	30
Figure 2 : Physiopathologie des syndromes myélodysplasiques, Tefferi A., et al. [2].....	40
Figure 3 : Fréquence des mutations somatiques affectant les gènes myéloïdes dans une cohorte de 12 380 patients sains en fonction de l'âge, Genovese G., et al. [33].....	41
Figure 4 : Mutations somatiques retrouvées dans les CHIP, SMD, LAM secondaires et LAM de novo, et leurs fréquences, Sperling A.S., et al. [36]	43
Figure 5 : Fréquence des principaux gènes mutés dans les SMD et dans les CCUS, Kwok B., et al. [39].....	45
Figure 6 : Mécanisme de méthylation et de déméthylation de l'ADN, et effets des mutations de TET2 et IDH1/IDH2 sur la régulation épigénétique [56].....	49
Figure 7 : Elliptocytose acquise et image d'hémophagocytose dans le cadre d'un SMD avec del(20q), d'après Boutault R., et al. [66].....	58
Figure 8 : Description des 4 catégories de projections nucléaires ou extensions chromatinienne (caryoschizes) [70].....	63
Figure 9 : Fréquences des principales anomalies caryotypiques rencontrées dans les SMD, qu'elles soient isolées, associées ou multiples, Haase D., et al. [31]	79
Figure 10 : Courbes de survie des patients avec del(5q) isolée, associée à une seconde anomalie clonale cytogénétique, ou retrouvée au sein d'un caryotype complexe, Haase D., et al. [31].....	81
Figure 11 : Courbes de survie des patients avec anomalie cytogénétique intéressant le chromosome 7 : isolée, associée à une seconde anomalie clonale cytogénétique, ou au sein d'un caryotype complexe, Haase D., et al. [31].....	81
Figure 12 : Mutations oncogéniques retrouvées dans les SMD : séquençage de 111 gènes chez 738 patients, Papaemmanuil E., et al. [84]	84
Figure 13 : Impact de la mutation SF3B1 dans les SMD de faible risque (n = 243 patients), Malcovati L., et al. [85].....	85
Figure 14 : Impact pronostique des mutations somatiques, Papaemmanuil E., et al. [84]	85
Figure 15 : Survie des patients avec SMD avec ou sans mutation TP53, Wattel E., et al. [89]	86
Figure 16 : Ajustement de l'IPSS en fonction du type de mutation somatique, Bejar R., et al. [90]	86
Figure 17 : Survie médiane en fonction du score IPSS et de la présence ou non de mutation oncogénique myéloïde, Bejar R., et al. [90]	87
Figure 18 : Impact pronostic du nombre de mutation dans les SMD, Papaemmanuil E., et al. [84].....	87
Figure 19 : Examens biologiques recommandés par le GFM, Fenaux P., et al. [15]	90
Figure 20 : Evolution en LAM et survie des SMD en fonction du nombre de blastes et du nombre de cytopénies [77].....	96
Figure 21 : Courbes de survie et de transformation leucémique des SMD en fonction du score IPSS, Greenberg P., et al. [77].....	97
Figure 22 : Fréquences des anomalies cytogénétiques associées à un mauvais pronostic selon l'IPSS en fonction du type de SMD [31].....	98

LISTE DES FIGURES

Figure 23 : Impact des anomalies caryotypiques sur le pronostic des SMD, Schanz J., et al [106].....	99
Figure 24 : Impact du nombre d’anomalies caryotypiques sur la survie, Haase D., et al. [31]	100
Figure 25 : Stratification du risque cytogénétique des SMD primaires et des LAM secondaires à une myélodysplasie, d’après Schanz J., et al. [106].....	101
Figure 26 : Stratification du risque cytogénétique des SMD primaires et LAM secondaires à une myélodysplasie chez patients avec traitement symptomatique exclusivement, Schanz J., et al. [106].....	101
Figure 27 : Score IPSS-R, d’après Greenberg P., et al.....	102
Figure 28 : Survie et évolution en LAM des SMD selon l’IPSS-R, Greenberg P., et al. [108]	103
Figure 29 : Impact de la fibrose médullaire dans les SMD, Della Porta M.G., et al. [114]	104
Figure 30 : Traitement des syndromes myélodysplasiques de faible risque (IPSS faible ou intermédiaire-1), Fenaux P., et al. [15]	107
Figure 31 : Facteurs prédictifs de la réponse à un traitement par ASE, Hellström-Lindberg E., et al. [117].....	109
Figure 32 : Traitement des syndromes myélodysplasiques : patients candidats à l’allogreffe, Fenaux P., et al. [15]	116
Figure 33 : Thérapeutiques possibles en pré-greffe dans les SMD en fonction de l’âge et des comorbidités des patients, Yacoub-Agha I., et al. [139]	119
Figure 34 : Traitement des syndromes myélodysplasiques de risque IPSS élevé et intermédiaire-2 non allogreffables, Fenaux P., et al. [15]	122
Figure 35 : Voies d’activation intracellulaire de la Decitabine et de l’Azacitidine [147].....	124
Figure 36 : Structure et mécanisme d’action de l’Azacitidine (Vidaza [®]), Issa J.P., et al. [148]	124
Figure 37 : Etude randomisée AZA-001 comparant la survie dans le bras Azacitidine vs traitements classiques, Fenaux P., et al. [150]	125
Figure 38 : Critères de réponse IWG-2006, Cheson B.D., et al. [158].....	132
Figure 39 : Comparaison de l’indice GI entre patients avec anémie isolée et patients avec anémie dans le cadre d’un SMD, Le Roux G., et al. [162].....	135
Figure 40 : Principe de la focalisation hydrodynamique.....	136
Figure 41 : Principe de l’impédance électrique http://www.sysmex-europe.com	137
Figure 42 : Représentation graphique de la distribution des éléments figurés du sang en fonction du volume ..	137
Figure 43 : Principe de la diffraction LASER et de la fluorescence sur automate SYSMEX XN-10 [®] http://www.sysmex-europe.com	138
Figure 44 : Diagramme de la distribution des hématies en fonction de leur volume http://www.sysmex-europe.com	139
Figure 45 : Histogramme avec calcul de l’IDR-SD http://www.sysmex-europe.com	140
Figure 46 : Distribution des éléments de la lignée érythrocytaire en fonction de la taille et de l’intensité de fluorescence http://www.sysmex-europe.com	141
Figure 47 : Distribution des réticulocytes en fonction de la taille et de l’intensité de fluorescence http://www.sysmex-europe.com	142
Figure 48 : Distribution des plaquettes en fonction du volume http://www.sysmex-europe.com	143

LISTE DES FIGURES

Figure 49 : Distribution des plaquettes mesurées par fluorocytométrie (PLT-F) http://www.sysmex-europe.com	144
Figure 50 : Répartition des éléments comptés dans le canal WNR du SYSMEX XN-10® http://www.sysmex-europe.com	145
Figure 51 : Répartition des sous-populations leucocytaires dans le canal WBC de l'analyseur SYSMEX XN-10® http://www.sysmex-europe.com	146
Figure 52 : Répartition des éventuelles cellules anormales dans le canal WBC de l'analyseur SYSMEX XN-10® http://www.sysmex-europe.com	147
Figure 53 : Représentation graphique de l'indice NEUT-SSC http://www.sysmex-europe.com	149
Figure 54 : Représentation graphique de l'indice Ne-WX http://www.sysmex-europe.com	150
Figure 55 : Fonction de répartition des âges au moment du diagnostic de SMD	154
Figure 56 : Scattergram de répartition des âges au moment du diagnostic de SMD	154
Figure 57 : Répartition des SMD selon la classification OMS 2008.....	156
Figure 58 : Répartition des SMD selon la classification OMS 2016.....	156
Figure 59 : Répartition des SMD en 4 sous-classes	157
Figure 60 : Répartition des SMD selon le risque défini par l'IPSS.....	160
Figure 61 : Répartition des SMD selon le risque défini par l'IPSS-R.....	160
Figure 62 : Cellularité médullaire de la cohorte de 108 SMD au diagnostic	167
Figure 63 : Evaluation de la morphologie cellulaire myéloïde sur le frottis médullaire	169
Figure 64 : Cytopénies selon les normes du laboratoire des 108 SMD.....	176
Figure 65 : Répartition des anémies isolées au diagnostic en fonction des sous-groupes de SMD.....	177
Figure 66 : Répartition des caryotypes sur la cohorte de 108 SMD au diagnostic.....	181
Figure 67 : Répartition des caryotypes des SMD avec excès de blastes	182
Figure 68 : Caryotypes des SMD avec dysplasie multilignée	182
Figure 69 : Caryotypes des SMD avec dysplasie unilignée et sidéroblastose en couronne significative (SMD-RS-DUL).....	183
Figure 70 : Caryotypes des SMD avec dysplasie unilignée	183
Figure 71 : Répartition des caryotypes selon le pronostic de l'IPSS.....	184
Figure 72 : Répartition des caryotypes selon le pronostic de l'IPSS-R.....	184
Figure 73 : Répartition des sous-groupes de SMD de faible risque selon l'IPSS	185
Figure 74 : Traitements des SMD de faible risque.....	186
Figure 75 : Traitements des SMD de haut risque	187
Figure 76 : Comparaison du Neutro-SSC chez des patients anémiés en fonction du contexte clinique	189
Figure 77 : Comparaison de l'hémoglobinémie entre les témoins et les 4 sous-groupes de SMD.....	193
Figure 78 : Comparaison du VGM entre les témoins et les 4 sous-groupes de SMD	194
Figure 79 : Comparaison de la numération plaquettaire entre les témoins et les 4 sous-groupes de SMD	194
Figure 80 : Comparaison de la numération des neutrophiles entre les témoins et les 4 sous-groupes de SMD ..	195
Figure 81 : Comparaison du Ne-WX entre les témoins et les 4 sous-groupes de SMD	195

LISTE DES FIGURES

Figure 84 : Box plots des réticulocytes des témoins et des SMD.....	200
Figure 85 : Box plots IRF(%) des témoins et des SMD	201
Figure 86 : Box plots H-IPF(%) des témoins et des SMD	203
Figure 82 : Courbe ROC du score de dépistage des SMD	204
Figure 83 : Courbe de calibration du modèle	205

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Etiologie des syndromes myéodysplasiques secondaires, d'après Fenaux P., et al. [15].....	32
Tableau 2 : Classification FAB (1982) des syndromes myéodysplasiques [16]	33
Tableau 3 : Classification OMS 2002 des syndromes myéodysplasiques [17].....	33
Tableau 4 : Classification OMS 2008 des syndromes myéodysplasiques (www.has-sante.fr).....	34
Tableau 5 : Comparaison des classifications OMS 2008 et OMS 2016 des syndromes myéodysplasiques	35
Tableau 6 : Critères diagnostiques des SMD sur le sang et la moelle.....	37
Tableau 7 : Fréquence des mutations somatiques affectant les gènes myéloïdes chez des patients sains en fonction de l'âge, d'après Genovese G., et al. [33].....	42
Tableau 8 : Critères définissant les CHIP, d'après Steensma D.P., et al. [34].....	42
Tableau 9 : Principales caractéristiques des CHIP, ICUS, CCUS et SMD, d'après Steensma D.P., et al. [34]....	44
Tableau 10 : Principaux gènes de la régulation épigénétique impliqués dans les SMD, d'après Cluzeau T., et al. [28].....	47
Tableau 11 : Description des gènes impliqués dans la méthylation de l'ADN	49
Tableau 12 : Principaux gènes de l'épissage impliqués dans les SMD, d'après Cluzeau T., et al. [28]	50
Tableau 13 : Principaux gènes de la transcription et de la régulation épigénétique impliqués dans les SMD, d'après Cluzeau T., et al. [28].....	51
Tableau 14 : Principaux gènes de la ségrégation des chromosomes impliqués dans les SMD, d'après Cluzeau T., et al. [28].....	51
Tableau 15 : Principales mutations retrouvées dans les SMD et leurs fréquences, d'après Cluzeau T., et al. [28]	52
Tableau 16 : Anomalies morphologiques de la lignée érythrocytaire retrouvées sur le frottis sanguin.....	57
Tableau 17 : Anomalies morphologiques de la lignée mégacaryocytaire retrouvées sur le frottis sanguin	59
Tableau 18 : Anomalies morphologiques de la lignée granulocytaire sur frottis sanguin.....	61
Tableau 19 : Anomalies morphologiques des granuleux observées sur frottis sanguin	63
Tableau 20 : Principaux diagnostics différentiels des dysgranulopoïèses observées sur le frottis sanguin.....	64
Tableau 21 : Anomalies morphologiques de la lignée érythrocytaire sur le myélogramme	68
Tableau 22 : Principaux signes de dysérythropoïèse observés dans les SMD sur le myélogramme	69
Tableau 23 : Caractéristiques morphologiques des sidéroblastes	70
Tableau 24 : Principales causes d'anémies avec sidéroblastose en couronne significative	71
Tableau 25 : Quantification de la dysérythropoïèse médullaire	72
Tableau 26 : Principaux signes de dysgranulopoïèse sur frottis de moelle osseuse	73
Tableau 27 : Quantification de la dysgranulopoïèse médullaire	74
Tableau 28 : Classification des SMD en fonction du pourcentage de blastes sanguins et médullaires, d'après l'OMS 2016 [1].....	74
Tableau 29 : Principaux signes de dysmégacaryopoïèse sur frottis de moelle osseuse.....	76
Tableau 30 : Quantification de la dysmégacaryopoïèse	77

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 31 : Fréquence des principales anomalies caryotypiques des SMD (OMS 2008), d’après Haase D., et al. [31].....	78
Tableau 32 : Anomalies cytogénétiques classantes en SMD, d’après Haase D., et al. [31].....	79
Tableau 33 : Groupes de risque cytogénétique définie par l’IPSS dans les SMD [77].....	80
Tableau 34 : Principaux diagnostics différentiels des syndromes myélodysplasiques, d’après Steensma D.P., et al. [63].....	94
Tableau 35 : Score IPSS, d’après Greenberg P., et al. [77].....	95
Tableau 36 : Pronostic des anomalies cytogénétiques selon l’IPSS, d’après Greenberg P., et al. [77].....	95
Tableau 37 : Survie médiane et risque de transformation leucémique en fonction du score IPSS, d’après Greenberg P., et al. [77].....	96
Tableau 38 : Médiane de survie selon le caryotype, d’après Haase D., et al. [31].....	99
Tableau 39 : Scores globaux dans l’IPSS-R, d’après Greenberg P., et al. [108].....	102
Tableau 40 : Score WPSS, d’après Malcovati L., et al. [111].....	103
Tableau 41 : Risque et médiane de survie définis par le WPSS, d’après Malcovati L., et al. [111].....	104
Tableau 42 : Objectifs des traitements des SMD	106
Tableau 43 : Survie sans maladie et rechutes post-allogreffe selon le risque cytogénétique (IPSS), d’après Nevill T.J., et al. [142].....	121
Tableau 44 : Survie médiane et rechutes post-allogreffe selon le risque cytogénétique (IPSS-R), d’après Gauthier J., et al [143].....	121
Tableau 45 : Comparaison de la survie médiane et de la survie globale à 2 ans en fonction du traitement, d’après Fenaux P., et al. [150].....	126
Tableau 46 : Facteurs prédictifs de réponse à l’Azacitidine, d’après Itzykson R., et al. [151].....	126
Tableau 47 : Statistiques descriptives de la population totale d’étude	152
Tableau 48 : Description de la cohorte de patients selon l’âge au moment du diagnostic de SMD.....	153
Tableau 49 : Répartition des âges au moment du diagnostic de SMD.....	153
Tableau 50 : Répartition des SMD selon la classification OMS 2008.....	155
Tableau 51 : Répartition des SMD selon la classification OMS 2016.....	155
Tableau 52 : Répartition des SMD en 4 sous-classes.....	157
Tableau 53 : Répartition des SMD selon le score IPSS	158
Tableau 54 : Répartition des SMD selon le risque défini par l’IPSS	158
Tableau 55 : Répartition des SMD selon le score IPSS-R	159
Tableau 56 : Répartition des SMD selon le risque défini par l’IPSS-R	159
Tableau 57 : Distribution des NFS de routine et des SMD en fonction des valeurs normales de l’adulte	162
Tableau 58 : Statistiques descriptives de l’hémogramme dans la cohorte de 108 SMD.....	162
Tableau 59 : Répartition de l’hémoglobinémie des 108 SMD.....	163
Tableau 60 : Répartition du VGM des 108 SMD.....	163
Tableau 61 : Numération plaquettaire des 108 SMD.....	163
Tableau 62 : Répartition des PNN en fonction des seuils du laboratoire, de l’IPSS et de l’IPSS-R.....	164

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 63 : Répartition du Ne-WX des 108 SMD	164
Tableau 64 : Anomalies morphologiques érythrocytaires sur le frottis sanguin	165
Tableau 65 : Statistiques descriptives des analyses biochimiques des 108 SMD	166
Tableau 66 : Evaluation quantitative de la lignée mégacaryocytaire sur frottis médullaire	167
Tableau 67 : Blastose médullaire des 108 SMD	167
Tableau 68 : Evaluation quantitative de la lignée érythroblastique sur frottis médullaire	168
Tableau 69 : Statistiques descriptives de l'hémogramme des SMD avec excès de blastes	169
Tableau 70 : Etude morphologique médullaire des SMD avec excès de blastes.....	171
Tableau 71 : Statistiques descriptives des données de l'hémogramme des SMD avec dysplasie multilignée	171
Tableau 72 : Statistiques descriptives des données de l'hémogramme sur les SMD avec sidéroblastose en couronne significative et dysplasie unilignée.....	173
Tableau 73 : Statistiques descriptives des données de l'hémogramme des SMD avec dysplasie unilignée et SMD avec del(5q).....	174
Tableau 74 : Comparaison des principaux paramètres d'intérêt de l'hémogramme entre les 4 sous-groupes de SMD.....	175
Tableau 75 : Sous-groupes de SMD et seuils des principaux paramètres d'intérêt de l'hémogramme.....	176
Tableau 76 : Statistiques descriptives de l'hémoglobine, des plaquettes et des neutrophiles dans les anémies isolées des SMD au diagnostic.....	177
Tableau 77 : SMD avec thrombopénie isolée : sous-groupes, hémoglobine, plaquettes et neutrophiles	178
Tableau 78 : SMD avec neutropénie isolée : sous-groupes, hémoglobine, plaquettes et neutrophiles	178
Tableau 79 : Principales caractéristiques des SMD avec cytopénie isolée en tenant compte des normes du laboratoire, de l'IPSS et de l'IPSS-R	179
Tableau 80 : Comparaison des principaux paramètres quantitatifs du myélogramme entre les 4 sous-groupes de SMD.....	180
Tableau 81 : Comparaison de la morphologie médullaire entre les 4 sous-groupes de SMD	180
Tableau 82 : Distribution des 108 SMD selon le nombre de cytopénies en utilisant les valeurs de référence du laboratoire, d'après Greenberg P., et al. [174]	190
Tableau 83 : Distribution des 108 SMD selon le nombre de cytopénies en utilisant les valeurs seuils définies par le score IPSS, d'après Greenberg P., et al. [174]	191
Tableau 84 : Distribution des 108 SMD selon le nombre de cytopénies en utilisant les valeurs seuils définies par le score IPSS-R, d'après Greenberg P., et al. [174]	191
Tableau 85 : Analyse univariée et multivariée du risque de maladie	192
Tableau 86 : Sensibilité et spécificité du score de dépistage en fonction du seuil fixé	196
Tableau 87 : Caractéristiques du score de dépistage des SMD au seuil de 0,0467	197
Tableau 88 : Caractéristiques du score de dépistage des SMD au seuil de 0,112	197
Tableau 89 : Score de dépistage des SMD en fonction des sous-groupes.....	198
Tableau 90 : Principales caractéristiques des SMD avec score de dépistage négatif	198
Tableau 91 : Score de dépistage des SMD et cytopénie isolée	198

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 92 : p-values des réticulocytes des témoins et des SMD.....	199
Tableau 93 : Statistiques descriptives de l'IRF(%) chez les témoins et dans les sous-groupes de SMD.....	200
Tableau 94 : p-values de l'IRF(%) des témoins et des SMD.....	201
Tableau 95 : Statistiques descriptives de l'IPF(%) des témoins et des SMD.....	202
Tableau 96 : Statistiques descriptives de l'H-IPF(%) des témoins et des SMD.....	202
Tableau 97 : p-values de l'H-IPF(%) des témoins et des SMD.....	203

LISTE DES ANNEXES

ANNEXES

ANNEXE I : Acquired elliptocytosis in the setting of a refractory anemia with excess blasts and del(20q), Blood 2016.....	215
ANNEXE II : Abstract SFH 2017.....	216
ANNEXE III : Poster SFH 2017.....	216
ANNEXE IV : Abstract ISLH 2017.....	218
ANNEXE V : Poster ISLH 2017.....	219
ANNEXE VI : Interest of the XN-10 Analyzer to Screen for Myelodysplastic Syndromes on Complete Blood Count (CBC) Especially with Hemoglobin Levels and Neut-WX, Blood online.....	220

Les syndromes myélodysplasiques (SMD) regroupent un ensemble hétérogène d'hémopathies malignes et sont caractérisés par une hématopoïèse inefficace responsable de cytopénies périphériques. Les SMD constituent une pathologie fréquente du sujet âgé. Les signes cliniques de cette hémopathie myéloïde sont associés aux cytopénies : syndrome anémique (pâleur, asthénie, tachycardie), neutropénie (complications infectieuses), thrombopénie (syndrome hémorragique). Asymptomatique dans près de 50% des cas, la découverte est alors fortuite sur un bilan de routine. Le diagnostic de cette hémopathie est plutôt aisé lorsque la pathologie est à un stade avancé, mais il peut s'avérer plus délicat dans les stades plus précoces de la maladie. Classiquement, le diagnostic de SMD repose sur les données combinées de l'hémogramme et du myélogramme ainsi que sur la mise en évidence d'anomalies cytogénétiques. Plus récemment, le développement de la cytométrie en flux et de la biologie moléculaire apporte, dans les cas les plus compliqués, des arguments supplémentaires pour affirmer le diagnostic de myélodysplasie. Cependant, ces techniques sont réservées à des laboratoires d'hématologie spécialisée et à des équipes expérimentées, le plus souvent au sein de centres hospitaliers universitaires (CHU).

La numération formule sanguine (NFS) est un examen de routine aisément et rapidement réalisable. C'est par cet examen biologique de base que le diagnostic de SMD est évoqué par le clinicien, en montrant la présence d'une ou plusieurs cytopénies (le plus souvent une anémie normo ou macrocytaire, parfois associée à une neutropénie et/ou une thrombopénie), voir des signes de dysmyélopoïèse sur le frottis sanguin. Néanmoins, près d'un tiers des SMD sont dépourvus de critères cytologiques suffisants pour qu'une relecture en microscopie optique ait lieu.

Disposer d'une technique de diagnostic des SMD à partir d'un prélèvement sanguin constituerait donc un moyen simple et rapide de dépistage de cette hémopathie. Un diagnostic tardif retarde la mise en place d'une prise en charge adaptée de ces patients. En effet, de nouveaux traitements ont fait leur apparition au cours des dernières années permettant d'améliorer significativement la prise en charge des SMD, aussi bien en termes de survie que de qualité de vie pour les patients. Un retard diagnostique potentiel a donc des conséquences aussi bien médicales qu'économiques.

INTRODUCTION GENERALE

Le but de notre travail était donc d'identifier des paramètres de l'hémogramme, classiques ou « de recherche », apportés par la technologie SYSMEX[®] (XN-10[®]) et pouvant fournir une aide au dépistage des SMD tout en étant adaptés à une pratique quotidienne.

PARTIE A : GENERALITES

I LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES (SMD)

I.1. DÉFINITION ET ÉPIDÉMIOLOGIE DES SMD

Les syndromes myélodysplasiques (SMD) sont un groupe de maladies clonales des cellules souches hématopoïétiques. Les anomalies clonales confèrent un avantage de croissance aux clones pathologiques, avec toutefois la persistance d'une hématopoïèse normale. Les SMD sont un groupe d'affections hétérogènes : les cytopénies peuvent être uniques ou multiples, et la ponction médullaire peut montrer des signes de dysplasie sur une ou plusieurs lignées myéloïdes, avec ou sans sidéroblastes en couronne, avec ou sans excès de blastes. La présence d'au moins une cytopénie est une condition indispensable pour retenir le diagnostic de SMD [1].

Les SMD constituent une pathologie du sujet âgé (médiane d'âge au diagnostic 65-70 ans), dont 20 à 40% évoluent en leucémie aiguë myéloblastique (LAM) en l'absence de traitement. Seuls 8 à 10% des patients ont moins de 50 ans au moment du diagnostic [2] [3].

L'incidence globale est d'environ quatre cas pour 100 000 habitants et par an, soit environ 2500 nouveaux cas par an en France. Cette incidence atteint 70 cas pour 100 000 habitants par an de 70 à 80 ans. Une étude de Neukirchen J. et al. montre, sur une cohorte de 216 patients allemands nouvellement diagnostiqués, une prévalence de 7 cas pour 100 000 personnes [4]. Ces incidence et prévalence sont significativement supérieures chez les hommes (sexe ratio de 1,5 à 2 hommes pour une femme) et augmentent avec l'âge (Figure 1).

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

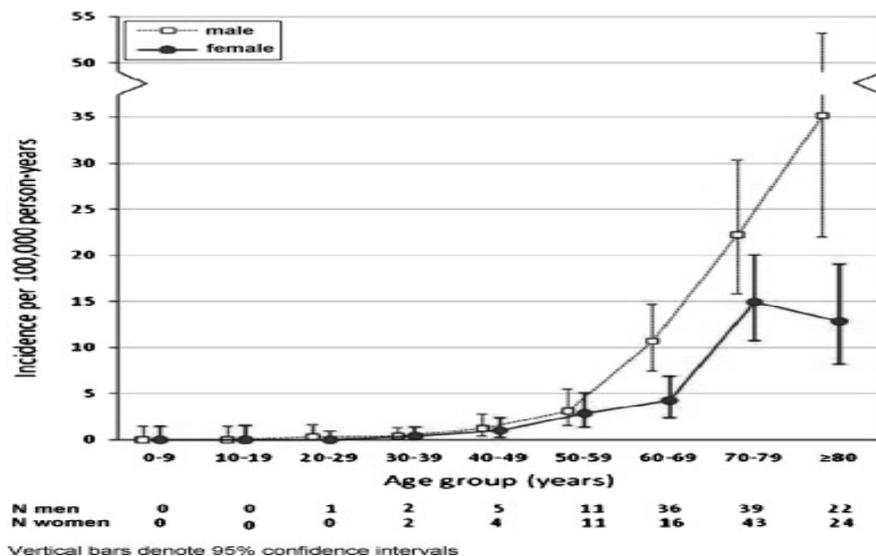


Figure 1 : Incidence des SMD selon l'âge et le sexe, d'après Neukirchen J., et al. [4]

La publication de Guralnik et al. en 2004 dans la revue *Blood* montre que les SMD sont responsables de 15 à 20% des anémies du sujet âgé [5].

Primitifs dans la plupart des cas, une étiologie est cependant retrouvée dans 15% des SMD : il peut s'agir de patients exposés à des agents toxiques, présentant des maladies constitutionnelles (responsables d'un tiers des SMD de l'enfant) ou des mutations germinales (Tableau 1). Des liens entre myélodysplasie et auto-immunité ont été établis (concernant 5 à 10% des patients avec un SMD) [6] [7].

L'exposition aux toxiques a pour conséquence d'accélérer l'accumulation de mutations, parmi lesquelles de possibles mutations driver induisant des néoplasies myéloïdes, dont les SMD. Les patients avec SMD secondaires à une chimiothérapie sont plus jeunes que les patients avec une myélodysplasie dite primaire (20 ans de moins en moyenne) [4]. Les molécules le plus fréquemment incriminées dans la survenue de SMD secondaires sont les agents alkylants. Le temps de latence est assez long (SMD survenant de 3 à 7 ans après le début de la chimiothérapie), les anomalies cytogénétiques sont fréquentes et concernent les chromosomes 5 et 7, retrouvées le plus souvent au sein de caryotypes complexes [8]. Ces SMD secondaires à une chimiothérapie par agents alkylants sont associés à un pronostic péjoratif.

Parmi les contextes les plus fréquemment associés aux SMD et LAM secondaires, on retrouve les patients traités pour un cancer du sein (près de 1% d'hémopathie secondaire) et pour des hémopathies lymphoïdes.

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

Chez les patients atteints initialement de polyglobulie de Vaquez, il est avéré que le traitement par pipobroman, busulphan et/ou le P³² est responsable de SMD et de LAM secondaires [9]. Le rôle de l'hydroxyurée (Hydréa®) dans la survenue à long terme d'hémopathie secondaire chez les patients traités pour une polyglobulie primitive est discuté, car cet effet n'est pas retrouvé chez les drépanocytaires homozygotes traités au long cours par Hydréa®, suggérant le rôle d'une hématopoïèse clonale dans la survenue de SMD et LAM secondaires chez les patients atteints de syndrome myéloprolifératif (SMP) [10].

Après autogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH), l'incidence des SMD secondaires est estimée à environ 5% [11].

Pour prévenir ces SMD et LAM secondaires aux chimiothérapies, les thérapeutiques des SMP (recours aux interférons, à l'anagrelide), de la leucémie lymphoïde chronique (LLC) (fludarabine *vs* molécules de dernière génération comme l'ibrutinib) et des cancers solides (diminution de l'utilisation des anthracyclines) ont été adaptées afin de réduire leur incidence. Les traitements immunosuppresseurs utilisés dans le cadre de maladies systémiques (lupus érythémateux systémique, vascularites), notamment le cyclophosphamide, sont également impliqués dans la survenue des SMD. Des travaux montrent une incidence proche de 10% sur des cohortes de patients traités par cyclophosphamide au long cours (moyennes de 4.4 ans) et à fortes doses. Les SMD surviennent en moyenne 8 ans après l'introduction du traitement, et sont associés à des anomalies chromosomiques impliquant les chromosomes 7 et 5. Les adaptations posologiques et la limitation de la durée du traitement ont permis de diminuer la dose cumulée et l'incidence des SMD secondaires dans ce cadre [12] [13].

Une incidence élevée de pathologies constitutionnelles (30%) est constatée dans les SMD de l'enfant (Tableau 1). Ces affections constitutionnelles s'accompagnent d'une instabilité génétique, plus ou moins associée à des anomalies de réparation de l'ADN. Dans le cas de la neurofibromatose de type 1, l'absence de gène *NF1* (gène suppresseur de tumeur dans les cellules myéloïdes immatures) conduit à l'activation de la protéine RAS [14].

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

Etiologie des syndromes myélodysplasiques secondaires	
Chimiothérapie	<ul style="list-style-type: none"> • Agents alkylants : dans les 3 à 7 ans suivant l'exposition • Inhibiteurs de topoisomérase II : dans les 18 à 36 mois suivant l'exposition (rare) • Conditionnement d'autogreffe ➤ Cassures de l'ADN affectant les CSH
Toxiques	<ul style="list-style-type: none"> • Benzène • Tabagisme (hydrocarbures benzéniques) • Radiations ionisantes • Pesticides, herbicides, engrais
Maladies constitutionnelles	<ul style="list-style-type: none"> • Syndrome de Down • Maladie de Fanconi • Agranulocytose congénitale • Neurofibromatose de type 1
Maladies acquises	<ul style="list-style-type: none"> • Hémopathies malignes : Leucémie aiguë lymphoblastique, lymphome malin non hodgkinien, maladie de Hodgkin, myélome multiple, polyglobulie de Vaquez, thrombocytemie essentielle • Tumeurs solides : cancers du sein, du poumon, de l'estomac, de l'ovaire • Maladies non malignes : maladie de Wegener, polyarthrite rhumatoïde • Maladies hématologiques acquises : Hémoglobinurie paroxystique nocturne, aplasie médullaire
Mutations germinales	<ul style="list-style-type: none"> • <i>GATA2</i> • <i>RUNX1</i> • <i>CEBPα</i> • <i>TERC</i> • <i>TERT</i>
➤ Terrain familial de SMD, LAM, aplasie médullaire, thrombopénie inexplicée	

Tableau 1 : Etiologie des syndromes myélodysplasiques secondaires, d'après Fenaux P., et al.

[15]

I.2. CLASSIFICATION DES SMD : HISTORIQUE ET ÉVOLUTION

La classification des SMD a évolué au cours des dernières décennies. Les auteurs de la classification originelle Franco-Américano-Britannique (FAB) de 1982 décrivaient cinq catégories de SMD (Tableau 2) [16]. Cette classification était basée sur des critères cytologiques (pourcentage de blastes, observation de signes de dysmyélopoïèse, sidéroblastes en couronne, présence de corps d'Auer).

Classification FAB (1982)	Abréviation	Blastose périphérique (%)	Blastose médullaire (%)	Transformation LAM	Survie médiane (mois)	% SMD au diag
Anémie réfractaire	AR	≤ 1	< 5	10-20	30-65	10-40
Anémie réfractaire avec sidéroblastes en couronne	ARS	≤ 1	< 5	10-35	34-83	10-35
Anémie réfractaire avec excès de blastes	AREB	< 5	5-20	> 50	8-18	25-30
Anémie réfractaire avec excès de blastes en transformation	AREB-T	≥ 5	21-29	60-100	4-11	10-30
Leucémie myélomonocytaire chronique	LMMC	< 5	≤ 20	> 40	15-32	10-20

Tableau 2 : Classification FAB (1982) des syndromes myélodysplasiques [16]

La première classification OMS des SMD date de 2002 (Tableau 3) [17]. Elle a été suivie de deux actualisations en 2008 (Tableau 4) et 2016 (Tableaux 5 et 6).

Classification OMS (2002)	Abréviation
Anémie réfractaire	AR
Anémie réfractaire avec sidéroblastes en couronne	ARS
Cytopénie réfractaire avec dysplasie multilignée	CRDM
Cytopénie réfractaire avec dysplasie multilignée et sidéroblastes en couronne	CRDM-RS
Anémie réfractaire avec excès de blastes de type 1	AREB-1
Anémie réfractaire avec excès de blastes de type 2	AREB-2
Syndrome myélodysplasique non classifiable	SMD-U
SMD associé à une del(5q) isolée	SMD avec del(5q)

Tableau 3 : Classification OMS 2002 des syndromes myélodysplasiques [17]

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

L'OMS 2002 n'inclut plus dans les syndromes myélodysplasiques les AREB-T (20-30% de blastes dans la moelle) ni les leucémies myélomonocytaires chroniques (LMMC) considérées désormais comme des syndromes mixtes myélodysplasiques /myéloprolifératifs.

La classification OMS 2008, validée de façon prospective sur une cohorte de patients, repose sur la cytologie (évaluation de la dysmyélopoïèse et de la blastose périphérique et médullaire) et la cytogénétique [18] [19].

Pathologie	Sang	Moelle
Cytopénie réfractaire avec dysplasie unilignée (CRDU) • Anémie réfractaire • Neutropénie réfractaire • Thrombopénie réfractaire	• Cytopénie isolée ou bicytopénie • Absence ou rares blastes (< 1 %)	• Dysplasie unilignée ≥ 10% des cellules de la lignée touchée sont dysplasiques • < 5 % de blastes • < 15 % des précurseurs érythroïdes sont des sidéroblastes en couronne
Anémie réfractaire avec sidéroblastes en couronne (ARS)	• Anémie • Pas de blastes	• Dysplasie érythroïde isolée • ≥ 15 % des précurseurs érythroïdes sont des sidéroblastes en couronne • < 5 % de blastes
Cytopénie réfractaire avec dysplasie multilignée (CRDM)	• Cytopénie (s) • Absence ou rares blastes (< 1 %) • Pas de corps d'Auer • < 1 x G/L monocytes	• Dysplasie ≥ 10% des cellules dans 2 ou plus lignées myéloïdes (granuleuse et/ou érythroïde et/ou mégakaryocytaire) • < 5 % blastes • Pas de corps d'Auer • ± 15 % de sidéroblastes en couronne
Anémie réfractaire avec excès de blastes de type 1 (AREB -1)	• Cytopénie (s) • < 5 % blastes • Pas de corps d'Auer • < 1 x G/L monocytes	• Dysplasie uni ou multilignée • < 5-9 % blastes • Pas de corps d'Auer
Anémie réfractaire avec excès de blastes de type 2 (AREB -2)	• Cytopénie (s) • < 5-19 % blastes • Corps d'Auer ± • < 1 x G/L monocytes	• Dysplasie uni ou multilignée • < 10-19 % blastes • Corps d'Auer
Syndrome myélodysplasique inclassable (SMD-I)	• Pancytopénie • ≤ 1 % blastes	• Dysplasie unilignée • < 5 % blastes
	• 1 % blastes	• Dysplasie uni ou multilignée • < 5 % blastes
	• Cytopénie (s) • ≤ 1 % blastes	• Pas de lignée avec dysplasie évidente (< 10 % des cellules dysplasiques dans chaque lignée) • < 5 % blastes • Anomalie(s) cytogénétique(s) évocatrice(s) de SMD

Tableau 4 : Classification OMS 2008 des syndromes myélodysplasiques (www.has-sante.fr)

La catégorie CRDU, introduite dans l'OMS 2008 et caractérisant les patients avec une ou deux cytopénies et une seule lignée dysplasique, comporte trois entités : les anémies réfractaires (AR), les neutropénies réfractaires (NR) et les thrombopénies réfractaires (TR). Or, la majorité des patients avec une cytopénie isolée est classée en CRDM selon l'OMS 2008, surtout pour les neutropénies et les thrombopénies isolées [20].

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

La révision apportée en 2016, où les critères de classification reposent sur le nombre de lignées dysplasiques, le pourcentage de sidéroblastes en couronne ainsi que le pourcentage de blastes, ne comporte plus ces entités d'anémies, de thrombopénies et de neutropénies réfractaires. Ces trois entités sont désormais regroupées au sein d'une seule : les SMD avec dysplasie unilignée (SMD-DUL). Le seuil de significativité des sidéroblastes en couronne est toujours fixé à 15%, mais un taux compris entre 5 et 15% doit faire rechercher une mutation du gène *SF3B1*.

D'autres modifications, concernant notamment les LAM6 variantes (OMS 2008), dont certaines sont désormais reclassées en SMD (avec ou sans excès de blastes), ont été apportées. En effet, la survie de ces patients avec plus de 50% d'érythroblastes et moins de 20% de myéloblastes hors érythroblastes était identique à celle des SMD et non à celle des LAM. Dans les myélodysplasies avec del(5q), la mise en évidence d'une seconde anomalie caryotypique (hormis celle intéressant le chromosome 7) ne modifie plus sa classification dans l'OMS 2016 [1].

Classification OMS 2008	Abréviation	Classification OMS 2016	Abréviation
Cytopénie réfractaire avec dysplasie unilignée ➤ Anémie réfractaire ➤ Neutropénie réfractaire ➤ Thrombopénie réfractaire	CRDU	SMD avec dysplasie unilignée	SMD-DUL
Anémie réfractaire avec sidéroblastes en couronne	ARS	SMD avec sidéroblastes en couronne	SMD-RS
SMD avec del(5q) isolée	SMD del(5q)	SMD avec del(5q)	SMD del(5q)
Cytopénie réfractaire avec dysplasie multilignée	CRDM	SMD avec dysplasie multilignée	SMD-DML
		SMD avec dysplasie multilignée et sidéroblastes en couronne	SMD-RS-DML
Anémie réfractaire avec excès de blastes de type 1	AREB-1	SMD avec excès de blastes de type 1	SMD-EB-1
Anémie réfractaire avec excès de blastes de type 2	AREB-2	SMD avec excès de blastes de type 2	SMD-EB-2
SMD non classifiable	SMD-I	SMD non classifiable	SMD-I
Cytopénie(s) réfractaire(s) de l'enfant	Entité provisoire	Cytopénie(s) réfractaire(s) de l'enfant	Entité provisoire

Tableau 5 : Comparaison des classifications OMS 2008 et OMS 2016 des syndromes myélodysplasiques

I.3. CRITÈRES DIAGNOSTIQUES DES SMD

Les critères diagnostiques des SMD sont définis par l'OMS [1]. C'est sur l'analyse combinée de la NFS et du myélogramme que le diagnostic précis pourra être posé dans la majorité des cas. Deux critères sont prérequis pour le diagnostic des SMD :

- la présence d'au moins une cytopénie marquée et constante (≥ 6 mois),
- l'exclusion d'une autre cause (maladie hématopoïétique ou non) qui pourrait être responsable de la cytopénie et/ou de la dysmyélopoïèse.

Dans 90% des SMD, l'anémie domine le tableau biologique. Elle est le plus fréquemment normo ou macrocytaire et arégénérative. Dans 20 à 30% des cas, une neutropénie modérée est retrouvée, isolée ou associée à l'anémie. Dans 10% des cas, une thrombopénie elle aussi modérée (> 50 G/L) est objectivée.

En plus des deux critères énoncés précédemment, au moins un des critères suivants doit être retrouvé pour affirmer le diagnostic de SMD [21] :

- excès de blastes médullaires (5% - 20%)
- dysplasie significative dans la moelle osseuse, à savoir au moins 10% de cellules dysplasiques sur au moins une lignée myéloïde (mégacaryocytaire, érythrocytaire, granulocytaire)
- $\geq 15\%$ de sidérobastes en couronne dans la moelle, ou $\geq 5\%$ avec mutation du gène *SF3B1*
- mise en évidence d'une clonalité (anomalie cytogénétique récurrente typique des SMD, mutations caractéristiques de SMD en biologie moléculaire)

L'évaluation de la dysplasie est une étape cruciale du diagnostic. Le seuil de significativité pour l'évaluation de la dysplasie est fixé à 10% des éléments d'une lignée dans les SMD. Ce seuil de 10% (non validé prospectivement) est une recommandation fixée pour éviter d'imputer à tort les cytopénies à une myélodysplasie, des éléments dysplasiques pouvant être présents dans la moelle osseuse de sujets sains [22].

Dans une étude portant sur 120 donneurs sains de moelle osseuse, avec relecture du myélogramme par quatre cytologistes, une dysmyélopoïèse $\geq 10\%$ a été détectée chez près de 46% des sujets (avec dysplasie bi-lignée et tri-lignée chez respectivement 26% et 7% des individus). Ce travail suggère que des seuils plus élevés pourraient être utilisés, ou des seuils différents selon les lignées [23]. Les critères diagnostiques des SMD, dans le sang et la moelle, sont résumés dans le Tableau 6.

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

Pathologie	Sang	Moelle
SMD avec dysplasie unilignée (SMD-DUL)	- Cytopénie isolée ou bicytopénie - Blastés < 1%	- Dysplasie unilignée (≥ 10% des cellules de la lignée touchée sont dysplasiques) - Blastés < 5% (et absence de corps d'Auer) - <15% des précurseurs érythroïdes sont des RS
SMD avec sidéroblastes en couronne (SMD-RS-DUL)	- Anémie - Blastés < 1%	- Dysérythropoïèse isolée - ≥ 15% des précurseurs érythroïdes sont des RS - Ou ≥ 5% et mutation SF3B1 présente
SMD avec del(5q)	- Cytopénie isolée ou bicytopénie - Blastés < 1%	- 1 à 3 lignées myéloïdes dysplasiques - Blastés < 5% (et absence de corps d'Auer) - RS : peu importe le nombre - Anomalies cytogénétiques : del(5q) isolée, ou associée à 1 seule anomalie additionnelle (sauf del(7q) ou monosomie 7)
SMD avec dysplasie multilignée (SMD-DML)	- Cytopénie(s) - Blastés < 1%	- Dysplasie ≥ 10% des cellules sur ≥ 2 lignées myéloïdes - Blastés < 5% (et absence de corps d'Auer) - <15% des précurseurs érythroïdes sont des RS
SMD avec dysplasie multilignée et sidéroblastes en couronne (SMD-RS-DML)	- Cytopénie(s) - Blastés < 1%	- Dysplasie ≥ 10% des cellules sur ≥ 2 lignées myéloïdes - Blastés < 5% (et absence de corps d'Auer) - ≥ 15% des précurseurs érythroïdes sont des RS (ou ≥ 5% si mutation SF3B1 présente)
SMD avec excès de blastés de type 1 (SMD-EB-1)	- Cytopénie(s) - Blastés < 5% - Absence de corps d'Auer - Monocytes < 1G/L	- Dysplasie uni ou multilignée - Blastés entre 5 et 9% - Absence de corps d'Auer
SMD avec excès de blastés de type 2 (SMD-EB-2)	- Cytopénie(s) - Blastés de 5 à 19% - ± corps d'Auer - Monocytes < 1G/L	- Dysplasie uni ou multilignée - Blastés entre 10 et 19% - ± corps d'Auer
SMD non classifiable (SMD-I)	- Pancytopénie - Blastés ≤ 1% blastés - 1 à 3 cytopénie(s) - 1% blastés (sur minimum 2 prélèvements distincts) - 1 à 3 cytopénie(s) - ≤ 1% blastés	- Dysplasie unilignée - Blastés < 5% (et absence de corps d'Auer) - RS : absents ou présents (nombre indifférent) - ± anomalies cytogénétiques - Dysplasie uni ou multilignée - Blastés < 5% (et absence de corps d'Auer) - Pas de dysmyélopoïèse significative (< 10%) - Blastés < 5% - Anomalie(s) cytogénétique(s) associées aux SMD

Tableau 6 : Critères diagnostiques des SMD sur le sang et la moelle

I.4. PHYSIOPATHOLOGIE ET ASPECTS MOLÉCULAIRES DES SMD

La physiopathologie des SMD associe une anomalie de croissance de la cellule souche hématopoïétique à une dérégulation des voies d'apoptose, du système immunitaire et du microenvironnement médullaire [24]. Les SMD sont des maladies oligoclonales, avec une médiane de 2,4 clones (contre 3,1 pour les LAM) : dans une moelle osseuse (MO) de SMD ne contenant que 5% de blastes, près de 90% des cellules sont clonales [25].

A) ONCOGÈNE DES SMD

L'analyse des marqueurs cytogénétiques dans les sous-populations médullaires immatures CD34+ CD38- et CD34+ CD38+ a montré que les SMD sont des maladies clonales de la cellule souche hématopoïétique (CSH) [26] : après transplantation de progéniteurs immatures de patients avec SMD informatifs sur le plan cytogénétique, la reconstitution médullaire chez des souris *NOD-SCID* est de mauvaise qualité, suggérant un défaut de prolifération des progéniteurs multipotents des SMD.

Des anomalies chromosomiques et/ou moléculaires confèrent à la CSH un avantage de survie et de croissance conduisant à une hématopoïèse clonale. Les CSH conservent des capacités d'auto-renouvellement. Les progéniteurs n'acquièrent quant à eux pas de propriétés d'auto-renouvellement, mais ont des capacités de différenciation altérées et un excès d'apoptose. Dans les SMD de faible grade, cet excès d'apoptose entraîne un avortement intramédullaire des précurseurs myéloïdes, et donc une hématopoïèse inefficace avec une prolifération d'aspect dysplasique. Cette exacerbation de l'apoptose est donc prédominante dans les SMD de risque faible et intermédiaire-1 (*International Prognostic Scoring System [IPSS]*). Des mutations affectant les gènes impliqués dans l'épissage intronique et dans la régulation épigénétique peuvent s'ajouter à cette hématopoïèse clonale.

Dans les SMD de haut risque (IPSS intermédiaire-2 et élevé), le versant prolifératif prédomine sur l'apoptose : un ou plusieurs événements secondaires accélèrent le cycle cellulaire, diminuent l'apoptose et induisent un blocage de la différenciation cellulaire à un stade précoce de la maturation conduisant à la transformation en LAM. Cette transformation survient dans 30% des cas, provoquée par l'apparition progressive d'une instabilité génomique du système hématopoïétique, avec notamment davantage de méthylation et d'angiogénèse. Les mutations sont plus nombreuses que dans les SMD de faible risque, et

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

concernent davantage les gènes impliqués dans la signalisation (*TP53*, *ASXL1*, *FLT3*, *IDH1* et *IDH2*).

Le microenvironnement médullaire, notamment par l'intermédiaire des cellules stromales, est impliqué dans la prolifération des clones de SMD. L'immunité innée et les protéines de l'inflammation jouent également un rôle dans la physiopathologie des SMD (Figure 2).

Dans la phase précoce, il y a une augmentation des cytokines pro-apoptotiques et des lymphocytes T-helper (Th), associée à une diminution des lymphocytes T régulateurs : ces cellules T ont un rôle d'inhibition de l'hématopoïèse. L'immunité innée fait par ailleurs intervenir les TLR (*Toll-Like Receptors*), qui activent plusieurs voies de signalisation intracellulaire comme les voies NF- κ B, et MAPK (*Mitogen-Activated Protein Kinases*), aboutissant à la production de cytokines inflammatoires. Dans les SMD, les fibroblastes et les macrophages médullaires produisent plus de cytokines apoptogènes telles que l'IL6 et le TNF α (*Tumor Necrosis Factor α*). Les cytokines occupent une place majeure dans l'hématopoïèse, que ce soit en cas de stress (infections, inflammation) ou au cours de la différenciation des progéniteurs myéloïdes en régulant la prolifération et la différenciation CSH. Une dérégulation de ces protéines impliquées dans l'inflammation pourrait leur conférer un avantage de prolifération et une sensibilité accrue à l'acquisition de mutations somatiques [27].

Un autre mécanisme d'apoptose, la « pyroptose », est impliqué : c'est un mécanisme de mort cellulaire pro-inflammatoire dépendant de la caspase-1. L'activation de la caspase-1 entraîne une condensation nucléaire, une conversion des précurseurs des cytokines inflammatoires dans leurs formes actives (IL-1 β , IL-18) et une formation de pores membranaires (lyse osmotique de la cellule) [28].

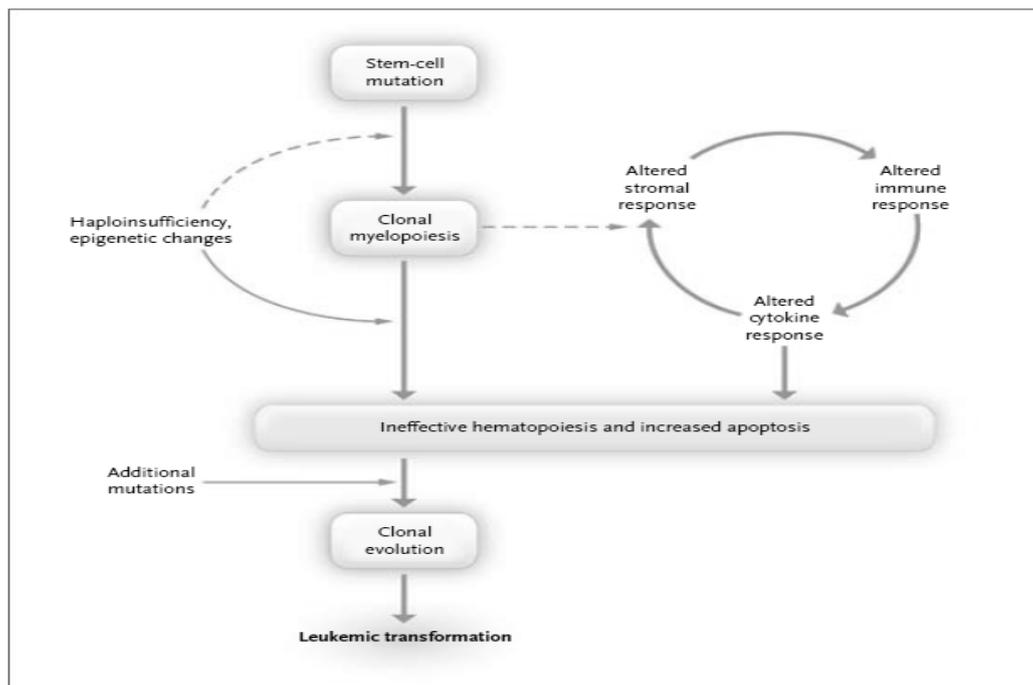


Figure 2 : Physiopathologie des syndromes myélodysplasiques, Tefferi A., et al. [2]

B) PHÉNOTYPE BIOLOGIQUE

Au stade précoce de SMD, les précurseurs hématopoïétiques sont caractérisés par une dysplasie et un excès d'apoptose. Cette apoptose accrue touche notamment les progéniteurs érythroïdes, surtout au stade d'érythroblastes acidophiles, et est dépendante d'une surexpression du système Fas/FasL [29]. Les mitochondries des érythroblastes relarguent des molécules pro-apoptotiques comme le cytochrome *c* conduisant à l'activation de la caspase-9, nécessaire à la différenciation érythroïde normale. La voie mitochondriale de l'apoptose est sous contrôle des protéines de la famille Bcl-2. Au cours de la transformation leucémique, l'apoptose diminue (perte d'expression de Fas), avec une augmentation d'expression de Bcl-2 et une activation constitutive de la voie NF- κ B dans les progéniteurs CD34+.

La perte de *GATA-1* contribue également à la dysérythropoïèse des SMD [30]. L'érythropoïèse normale requiert *GATA-1* (facteur de transcription qui a un rôle dans la différenciation érythrocytaire mais pas dans l'apoptose) et une activation transitoire des caspases, protéases à cystéine impliquées dans l'apoptose et dont l'activation est sous le contrôle des Hsp (*Heat shock proteins*). L'expression du gène codant pour la protéine Hsp 70 est augmentée dans les érythroblastes des SMD, entraînant une apoptose excessive : la dysplasie érythroïde est donc liée au clivage inapproprié de *GATA-1* par les caspases.

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

Le mécanisme physiopathologique des SMD avec del(5q) a été étudié et fait l'objet de plusieurs travaux, notamment ceux de Benjamin Ebert dans *Nature*. Les délétions du bras long du chromosome 5 sont retrouvées, isolément, chez 14% des patients avec SMD de novo [31]. Le syndrome 5q- constitue une entité particulière dans ces del(5q), caractérisée par une anémie macrocytaire, et une thrombocytose (dans 50 à 70% des cas) associée à des anomalies morphologiques mégacaryocytaires typiques (mégacaryocytes de taille normale ou discrètement diminuée, avec un noyau de petite taille et monlobé). Ebert et al. ont montré qu'une haploinsuffisance de *RPS14*, gène codant pour un composant de la sous-unité 40S du ribosome, induit dans ce cas un blocage de la différenciation érythrocytaire [32]. Cette altération de la biogénèse des ribosomes est responsable de la dysérythropoïèse des syndromes 5q- [24].

C) HÉMATOPOÏÈSE CLONALE (CHIP)

Une étude publiée dans le *New England Journal of Medicine* en 2014 a montré qu'une hématopoïèse clonale apparaît et augmente avec l'âge chez des patients sains, relativisant l'impact des mutations retrouvées en NGS, notamment dans les SMD (Tableau 7 et Figure 3) [33].

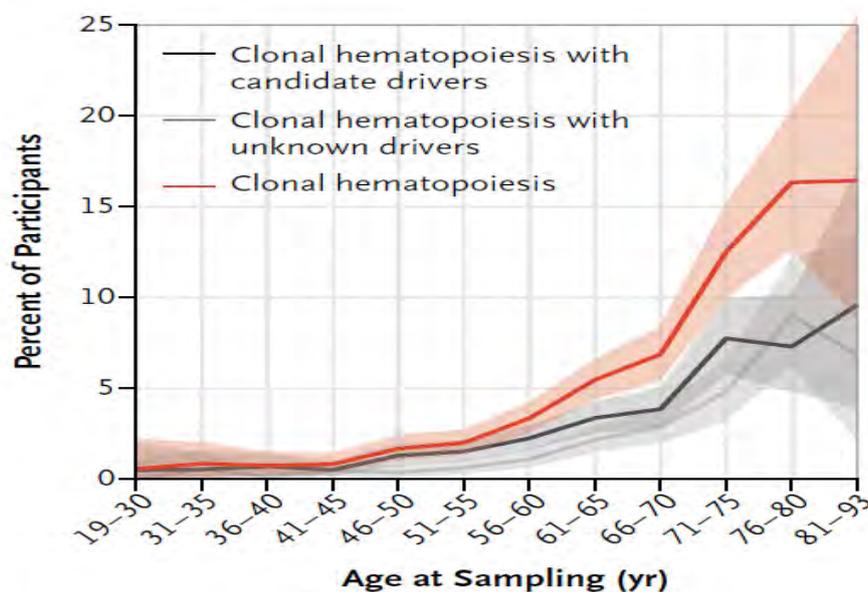


Figure 3 : Fréquence des mutations somatiques affectant les gènes myéloïdes dans une cohorte de 12 380 patients sains en fonction de l'âge, Genovese G., et al. [33]

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

Âge (années)	Fréquence des mutations (%)
60 à 69	5,6
70 à 79	9,5
80 à 89	11,7
> 90	18,4

Tableau 7 : Fréquence des mutations somatiques affectant les gènes myéloïdes chez des patients sains en fonction de l'âge, d'après Genovese G., et al. [33]

Les hématoïèses clonales de potentiel indéterminé (*CHIP*) se caractérisent par la présence de mutations somatiques typiquement retrouvées dans les hémopathies (dans le sang ou la moelle), mais sans autre argument diagnostique pour une pathologie hématologique.

Steensma et al. ont proposé des critères pour définir plus précisément ces *CHIP* (Tableau 8) [34].

Proposition de définition des <i>CHIP</i> (<i>Clonal Hematopoiesis of Indeterminate Potential</i>)
• Absence de signes morphologiques évidents d'hémopathie
• Pas de critères pour un MGUS, MBL ou HPN
• Mise en évidence de mutation(s) somatique(s) associée(s) aux hémopathies, avec une charge allélique $\geq 2\%$ (sang) (<i>DNMT3A, TET2, JAK2, SF3B1, ASXL1, TP53, CBL, BCOR, GNB1, U2AF1, CREBBP, CUX1, SRSF2, MLL2, SETD2, SETDB1, GNAS, PPM1D, BCORL1</i>)

Tableau 8 : Critères définissant les *CHIP*, d'après Steensma D.P., et al. [34]

En moyenne, $1,3 \pm 0,2$ mutations somatiques sont acquises par les cellules souches hématoïétiques par décennie [35]. La caractérisation de ces *CHIP* montre que des mutations peuvent être détectées chez des patients avec une NFS normale et sans maladie apparente. La majorité de ces patients ne développeront pas de SMD [34]. Le risque de conversion de ces *CHIP* en hémopathie est estimé à 0,5% à 1% par an et semble comparable à celui des *MGUS* en myélome multiple et des *MBL* en LLC (ou autres lymphomes non hodgkiniens).

Les *CHIP* peuvent progresser directement en LAM (sans passer par le stade de SMD), mais peuvent également donner d'autres types d'hémopathies (syndromes myéloprolifératifs et lymphoprolifératifs). Les *CHIP* correspondent à une expansion de la CSH ou d'un progéniteur encore plus immature, tandis que les *MBL* et *MGUS* constituent des expansions

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

de cellules déjà engagées dans une lignée (cellules B post-centre germinatif, lymphocytes B mémoire et plasmocyte respectivement) [34].

Les mutations retrouvées dans les CHIP sont le plus souvent uniques et avec un ratio allélique faible. Les plus fréquentes ont un rôle dans la régulation épigénétique de la transcription (*TET2*, *DNMT3A*, *ASXL1*). Le type de gène muté, le nombre de mutations et la charge allélique pourraient influencer sur le risque de progression.

Sperling et al. dans *Nature Reviews Cancer* en 2016 ont comparé le type de mutation et leur fréquence dans les *CHIP*, les SMD, les LAM de novo et les LAM secondaires (à une myélodysplasie ou à une chimiothérapie) (Figure 4) [36]. Dans les SMD, ce sont des mutations affectant les gènes de l'épissage (*SF3B1*, *SRSF2*) qui sont les plus fréquentes, tandis que dans les LAM de novo et les LAM secondaires, des mutations de gènes impliqués dans la transcription (*RUNX1*) et dans la signalisation (*NRAS*, *FLT3*) sont retrouvées en plus. Ces mutations supplémentaires confèrent au clone un pouvoir de prolifération accru par rapport aux SMD.

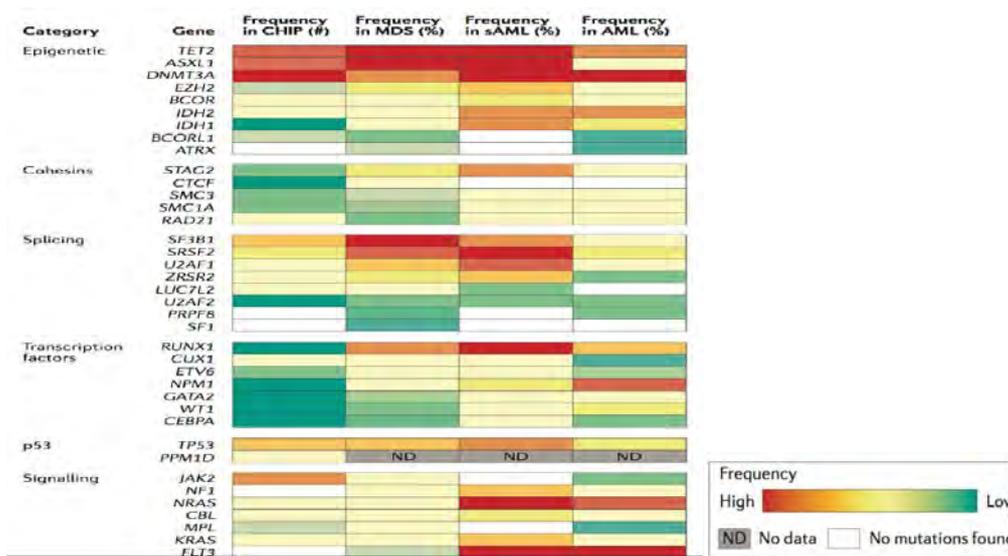


Figure 4 : Mutations somatiques retrouvées dans les *CHIP*, SMD, LAM secondaires et LAM de novo, et leurs fréquences, Sperling A.S., et al. [36]

Dans les SMD, plus de 80% des patients ont au moins une mutation (médiane : 2 mutations ; range : 0 - 6 mutations), et plus de 10% présentent au moins 6 mutations.

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

D) CARACTÉRISTIQUES DES *CHIP*, *ICUS*, *CCUS* ET DISTINCTION AVEC LES SMD

Il est primordial de savoir distinguer ces différentes entités apparentées aux SMD. Plusieurs équipes se sont intéressées à ces formes frontières des SMD, dont la distinction est parfois difficile [37].

- *CHIP* : hématoïèse clonale de potentiel indéterminé (*Clonal Hematopoiesis of Indeterminate Potential*)
- *ICUS* : cytopénie idiopathique de signification indéterminée (*Idiopathic Cytopenia of Undetermined Significance*)
- *CCUS* : cytopénie clonale de signification indéterminée (*Clonal Cytopenia of Undetermined Significance*)

Dans ces trois entités, les patients présentent moins de 5% de blastes. Les *CHIP* se définissent par la présence d'anomalie(s) moléculaire(s), mais les cytopénies et la dysplasie sont absentes. Contrairement aux *CHIP*, *ICUS* et *CCUS* sont caractérisées par l'existence d'une cytopénie inexplicée persistante. Les signes de dysplasie et les sidéroblastes en couronne sont absents ou en nombre insuffisant et ne permettent pas de les classer formellement en SMD (Tableau 9).

Distinction <i>CHIP</i>, <i>ICUS</i>, <i>CCUS</i> et SMD					
Entités	Cytopénie	Anomalie moléculaire	Dysplasie	Blastes médullaires	Risque
<i>CHIP</i>	-	+	-	<5%	Très faible
<i>ICUS</i>	+	-	-	<5%	Très faible
<i>CCUS</i>	+	+	-	<5%	Faible
SMD faible risque	+	+	+	<5%	Faible
SMD haut risque	+	+	+	<19%	Elevé

Tableau 9 : Principales caractéristiques des *CHIP*, *ICUS*, *CCUS* et SMD, d'après Steensma D.P., et al. [34]

Les *ICUS* se définissent donc par des cytopénies persistantes et inexplicées, sans dysmyéloïèse significative et sans mutation somatique ni anomalie cytogénétique

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

suffisantes pour affirmer le SMD. Des mutations somatiques sont détectées chez environ 30% des *ICUS*, contre 80% des SMD de faible risque [38].

Plus récemment, le concept de *CCUS* a été développé [39]. Cette entité, à mi-chemin entre les *ICUS* et les SMD, décrit des situations cliniques où les patients présentent des cytopénies sans critères diagnostics suffisants pour affirmer un SMD. Le profil mutationnel des SMD et des *CCUS* est proche (Figure 5). Les mutations les plus fréquentes dans les SMD de faible risque sont celles affectant les gènes *SF3B1* et *TET2*, tandis que dans les *CCUS* les mutations concernent plus fréquemment *TET2* et *DNMT3A* mais pas *SF3B1*. Des mutations associées à un pronostic péjoratif (*TP53*, *ASXL1*, *RUNX1*) sont retrouvées également dans les *CCUS*.

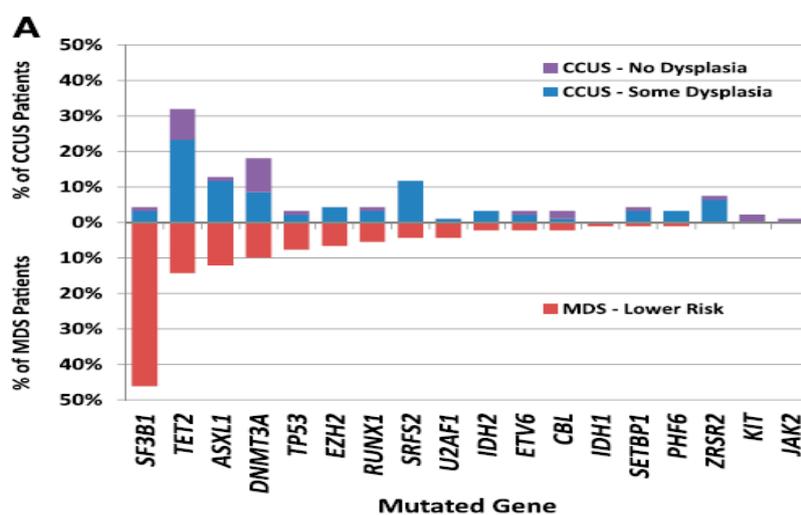


Figure 5 : Fréquence des principaux gènes mutés dans les SMD et dans les *CCUS*, Kwok B., et al. [39]

Les auteurs proposent des critères pour le diagnostic de ces *CCUS* : au moins une cytopénie (Hb < 11g/dL, PNN < 1,5G/L, Plaq < 100G/L), pas de critères « médullaires » pour un SMD (dysmyélopoïèse non significative, blastose < 5%, pas d'anomalies chromosomiques spécifiques), et au moins un critère moléculaire (mutation somatique d'hémopathie avec charge allélique $\geq 2\%$ dans le sang ou la moelle).

Il n'y a pas de différence d'âge entre les patients avec SMD et ceux avec *CCUS* (74,3 et 75,1 ans respectivement, $p=0,87$), mais il existe une différence significative avec les *ICUS* (66,6 ans, $p<0,001$). Il n'y a pas de différence entre les SMD et les *CCUS* en termes de taux d'hémoglobine, de plaquettes et de PNN.

Une autre entité, les *IDUS* (*Idiopathic Dysplasia of Undetermined Significance*, dysplasie idiopathique de signification indéterminée), a été décrite pour caractériser les patients âgés de plus de 50 ans présentant des signes de dysmyélopoïèse sans cytopénies (et sans causes évidentes de dysplasie) [40].

L'hématopoïèse clonale est donc fréquente et dépendante de l'âge. Les *ICUS*, *CCUS* et *IDUS* représentent un stade précoce du processus néoplasique et peuvent évoluer en un authentique SMD. La clonalité, une charge allélique élevée et le nombre de mutations pourraient être des facteurs de risque de progression chez les patients cytopéniques.

Le diagnostic d'une de ces entités pourrait conduire à un suivi hématologique similaire à celui des SMD de faible risque [41].

E) SMD ET MUTATIONS SOMATIQUES

Les cellules douées d'autorenouvellement sont sensibles à l'évolution somatique. Les mutations somatiques retrouvées dans les SMD affectent les gènes codant pour des protéines impliquées dans la signalisation intracellulaire et la transcription, la régulation épigénétique, dans l'épissage et dans la ségrégation des chromosomes au cours de la mitose. Plus de 40 gènes sont significativement mutés chez les patients avec SMD [42].

Les cellules souches et les précurseurs hématopoïétiques acquièrent des mutations au cours du temps : la plupart n'auront pas de conséquences sur l'hématopoïèse. Toutefois, certaines mutations survenant précocement peuvent conférer un avantage en termes de survie à la cellule mutée, initiant ainsi une expansion clonale (mutation de *TET2*, *DNMT3A*, *ASXL1*, *SF3B1*, *JAK2*). L'acquisition de mutations additionnelles par ce clone peut amener au phénotype de la maladie (*RUNX1*, *IDH1*, *IDH2*, *U2AF1*, *KRAS*, *NRAS*, *STAG2*, *CEBP α* , *NPM1*, *FLT3*). Au diagnostic, la majorité des patients présentent au moins deux mutations oncogéniques [42][43]. Certaines mutations sont associées à la transformation leucémique (*TP53*, *RUNX1*, *EZH2*, *ASXL1*).

Certaines mutations acquises sont associées à des présentations clinico-biologiques particulières : *SF3B1* et sidéroblastes en couronne [44], *ATRX* et α -thalassémie acquise [45], *RUNX1* et thrombopénie.

L'étude de ces mutations a permis une meilleure compréhension des mécanismes physiopathologiques impliqués dans les myéلودysplasies.

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

(1) GÈNES IMPLIQUÉS DANS LA RÉGULATION ÉPIGÉNÉTIQUE

Les gènes impliqués dans la régulation épigénétique ont un rôle dans la méthylation de l'ADN et dans la modification des histones (Tableaux 10, 11).

Régulation épigénétique	
Méthylation de l'ADN	Action
<i>TET2</i>	<i>TET2</i> , <i>DNMT3A</i> , <i>IDH1</i> et <i>IDH2</i> ont un rôle dans la méthylation des cytosines de l'ADN. Mutations perte de fonction (<i>TET2</i> , <i>DNMT3A</i>) ou gain de fonctions (<i>IDH1/IDH2</i>) provoquant une hyperméthylation de l'ADN, avec pour conséquence une répression transcriptionnelle
<i>IDH1/IDH2</i>	
<i>DNMT3A</i>	
Modification des histones	Action : Compaction de la chromatine
<i>ASXL1</i>	<i>Additional sex combs like-1</i> : protéine de la famille des polycombs Mutations gain de fonction, retrouvées dans 10% des SMD (et 43% des LMMC) [46]
<i>EZH2</i>	<i>Enhancer of Zeste drosophila Homolog 2</i> : gène situé sur le bras long du chromosome 7 Histone méthyltransférase de la famille des polycombs Mutation gain de fonction (retrouvée également dans les SMP, et surtout dans les myélofibroses (primitives et post-PV) Muté ou délété dans 10% des SMD [47]

Tableau 10 : Principaux gènes de la régulation épigénétique impliqués dans les SMD, d'après Cluzeau T., et al. [28]

Le rôle de la méthylation de l'ADN dans la physiopathologie des SMD a été démontré : il y a une hyperméthylation globale des lignées cellulaires dans les SMD comparées aux cellules CD34+ normales. L'hyperméthylation est particulièrement associée aux SMD de haut risque et à caryotype complexe. Cette méthylation aberrante de l'ADN augmente avec la progression

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

de la maladie et constitue un des mécanismes expliquant leur évolution en LAM [46] [47]. L'hyperméthylation des gènes induit leur répression. Voici des exemples de gènes hyperméthylés dans les SMD :

- *P15INK4a* (régulation du cycle cellulaire)
- DAPkinase (apoptose), *SOCS1* (régulation cytokinique)
- E-cadherine (adhésion cellulaire)
- Calcitonine (métabolisme phosphocalcique)
- Alpha catenine (codée par le gène *CTNNA1*, retrouvée dans les del(5q) : perte d'expression liée à une hyperméthylation de l'ADN du promoteur).

Les mutations affectant les gènes impliqués dans la régulation épigénétique (Figure 6) sont des évènements survenant précocement et persistent lors de la rémission prolongée.

Les mutations du gène *ten-eleven translocation 2 (TET2)* sont fréquemment observées dans les SMD. Des délétions touchant le bras long du chromosome 4 (en 4q24) mises en évidence dans 4 SMD et LAM ont permis la découverte de ce gène *TET2* [50]. Des altérations de *TET2* au niveau de la cellule souche ont été décrites dans différentes hémopathies myéloïdes, dont les SMD où la prévalence est estimée à 20-30% selon les études. Cette mutation de *TET2* est aussi retrouvée dans les LMMC (40-50%), les SMP (12%) et les LAM de novo (10%). Elle est présente dans les cellules souches auxquelles elle confère un avantage de croissance par rapport aux cellules non mutées [51] [52] [53] [54] [55].

Gènes impliqués dans la méthylation de l'ADN	
Gènes	Description
<i>TET2</i> (<i>ten-eleven translocation 2</i>)	<p>→ Dioxygénases hydroxylant la 5-méthylcytosine (5mC) en 5-hydroxyméthylcytosine (5hmC), puis en 5-formylcytosines et en 5-carboxylcytosines</p> <p>→ Les enzymes de la famille <i>TET</i> fonctionnent en présence de fer et de cétooglutarate (CG) (dont la production implique les enzymes de la famille <i>IDH</i>)</p> <p>→ Rôle de <i>TET2</i> dans la déméthylation de l'ADN des cellules hématopoïétiques humaines : régulation épigénétique de l'expression des gènes</p> <p>→ <i>TET2</i> : la mutation entraîne une diminution de l'activité méthyltransférase (mutation hotspot R882, mutations faux sens et tronquantes)</p>

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

	→ Rôle de <i>TET</i> dans le recrutement des complexes <i>polycomb</i> (modification de la chromatine).
<i>DNMT3A</i> (<i>DNA méthyltransférase 3A</i>)	Méthyltransférase de l'ADN Les mutations entraînent une perte de fonction
<i>IDH1 et IDH2</i> (<i>Isocitrate déshydrogénase</i>)	→ Catalysent la décarboxylation oxydative de l'isocitrate en cétooglutarate (CG). → <i>IDH1</i> : cytosolique et peroxysomale → <i>IDH2</i> et <i>IDH3</i> : mitochondriales → Protéines <i>IDH</i> mutées : enzymes néomorphiques catalysant la réduction du CG en 2-hydroxyglutarate (2-HG) → Conséquence d'une mutation : inhibition de nombreuses enzymes dépendantes du CG (compétition avec le 2-HG formé en excès par homologie structurale) → Mutations aboutissent à une inactivation fonctionnelle de <i>TET2</i> , entraînant une augmentation de la méthylation

Tableau 11 : Description des gènes impliqués dans la méthylation de l'ADN

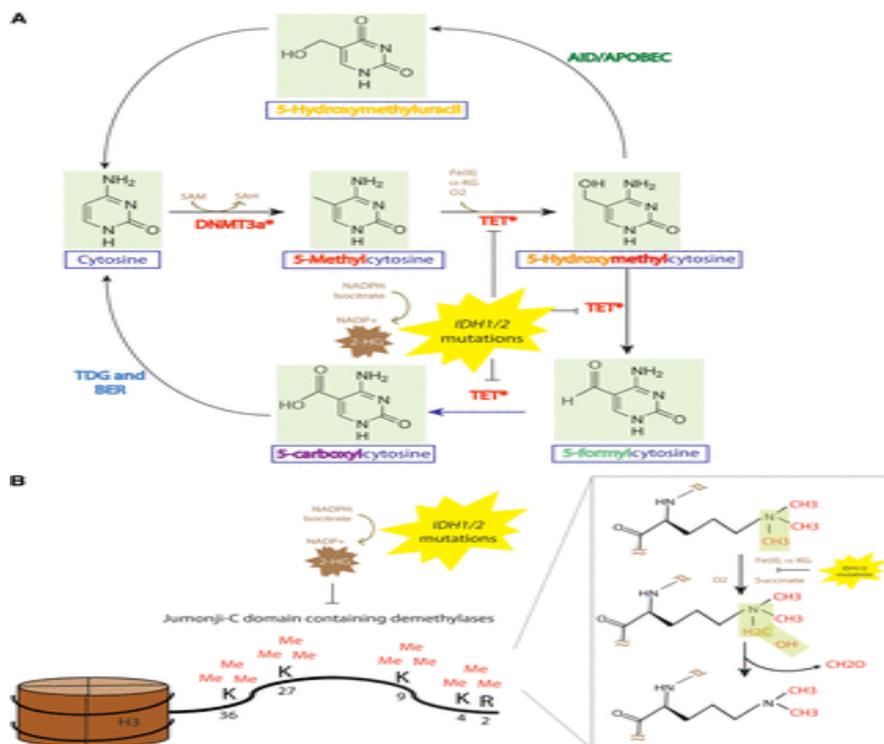


Figure 6 : Mécanisme de méthylation et de déméthylation de l'ADN, et effets des mutations de *TET2* et *IDH1/IDH2* sur la régulation épigénétique [56]

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

(2) GÈNES IMPLIQUÉS DANS L'ÉPISSAGE

Les mutations affectant les gènes impliqués dans l'épissage (*splicing*) sont observées chez environ 50% des patients présentant un SMD. Le *splicing* des ARN pré-messagers est le processus biologique le plus fréquemment altéré dans les SMD. Ces mutations des gènes du spliceosome interviennent précocement (Tableau 12) [57] [58].

Composant du spliceosome	
Gène	Action
<i>SF3B1</i>	Rôle dans l'épissage intronique : maturation du pré-ARNm en ARNm mature
<i>SRSF2</i>	
<i>U2AF1</i>	Rôle marqué au niveau des EB : entraîne un excès d'apoptose (stress mitochondrial, RE)
<i>ZRSR2</i>	
<i>PRPF8</i>	<i>SF3B1</i> : la mutation entraîne un gain de fonction au niveau des CSH, mais un excès d'apoptose des progéniteurs érythroïdes.

Tableau 12 : Principaux gènes de l'épissage impliqués dans les SMD, d'après Cluzeau T., et al. [28]

Les mutations impliquées dans le processus d'épissage sont présentes à l'état hétérozygote et ne sont pas spécifiques des SMD. La préservation d'un allèle sauvage est une condition indispensable pour la survie de la cellule leucémique. Ces mutations impliquées dans la régulation épigénétique pourraient constituer une cible thérapeutique (spliceostatine A).

(3) GÈNES IMPLIQUÉS DANS LA TRANSCRIPTION ET LA SIGNALISATION INTRACELLULAIRE

Les gènes impliqués dans la transcription et la signalisation intracellulaire (Tableau 13) sont assez fréquemment mutés dans les SMD.

Gènes impliqués dans la transcription et la signalisation intracellulaire
<i>RUNX1</i>
<i>TP53</i>
<i>ETV6</i>
<i>EVII</i>
<i>JAK2</i>
<i>NRAS</i>
<i>KRAS</i>

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

<i>FLT3</i>
<i>CBL</i>

Tableau 13 : Principaux gènes de la transcription et de la régulation épigénétique impliqués dans les SMD, d'après Cluzeau T., et al. [28]

Les réarrangements chromosomiques impliquant un facteur de transcription sont rares dans les SMD de novo, et concernent notamment l'inv(3) (q21 ; q26) et la translocation t(3;3) (q21;q26), menant à l'activation du gène *EVI-1* (*MECOM*) qui est un répresseur transcriptionnel.

Le gène *RUNX1*, codant pour un facteur de transcription essentiel dans l'hématopoïèse normale, est fréquemment muté dans les SMD.

Des mutations ponctuelles des gènes *N-RAS* ou *K-RAS* sont retrouvées chez 10-15% des patients présentant un SMD en transformation.

(4) GÈNES IMPLIQUÉS DANS LA SÉGRÉGATION CHROMOSOMIQUE

Les mutations affectant les gènes impliqués dans la ségrégation des chromosomes sont plus rares et sont cités dans le tableau ci-dessous (Tableau 14).

Ségrégation des chromosomes : cohésines
<i>STAG2</i>
<i>RAD21</i>
<i>SMC3</i>

Tableau 14 : Principaux gènes de la ségrégation des chromosomes impliqués dans les SMD, d'après Cluzeau T., et al. [28]

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

(5) PRINCIPAUX GÈNES D'INTÉRÊT DANS LES SMD ET FRÉQUENCE DE LEURS MUTATIONS

Des mutations somatiques sont retrouvées chez environ 75% des patients (71-79%) avec SMD, dans 45% à 62% des *ICUS* avec des signes de dysplasie, et dans 20% des *ICUS* sans dysmyélopoïèse. Les principaux gènes mutés dans les SMD sont résumés dans le Tableau 15.

Gène (localisation chromosomique)	Fréquence	Gène (localisation chromosomique)	Fréquence
<i>SF3B1</i> (2q33.1)	15-30%	<i>TET2</i> (4q24)	22%
<i>ASXL1</i> (20q11.2)	10-20%	<i>RUNX1</i> (21q22)	5-15%
<i>TP53</i> (17p13)	5-10%	<i>DNMT3A</i> (2p23.3)	5-10%
<i>N-RAS/K-RAS</i> (1p13.2/12p12.1)	5-10%	<i>SRSF2</i> (17q25.1)	5-10%
<i>U2AF1</i> (21q22.3)	5-10%	<i>BCOR/L1</i> (Xp11.4)	5-6%
<i>ZRSR2</i> (Xp22.1)	5%	<i>EZH2</i> (7q36.1)	3-7%
<i>JAK2</i> (9p24.1)	3-4%	<i>SETBP1</i> (18q21.1)	2-3%
<i>ETV6</i> (12p13.2)	2-3%	<i>IDH2</i> (15q26.1)	2-3%
<i>IDH-1</i> (2q33.3)	1-2%	<i>C-CBL</i> (11q23.3)	1-2%
<i>NPM1</i> (2q33.1)	1-2%	<i>STAG2</i> (Xq25)	7-10%
<i>PRPF8</i> (17p13.3)	1-4%	<i>CSNK1A1</i> (5q32)	<71%

Tableau 15 : Principales mutations retrouvées dans les SMD et leurs fréquences, d'après Cluzeau T., et al. [28]

I.5. DIAGNOSTIC DES SMD

A) ASPECTS CLINIQUES

L'examen clinique et l'interrogatoire du patient évaluent en premier lieu le retentissement des cytopénies, la majorité des manifestations cliniques des SMD étant en effet en rapport avec ces dernières [15].

Le retentissement de l'anémie chez un patient est évalué en fonction du taux d'hémoglobine, de son âge et des comorbidités (insuffisances cardiaque et respiratoire principalement). Les conséquences cliniques de l'anémie (fatigue, dyspnée) sont souvent celles qui altèrent le plus la qualité de vie des patients surtout lorsqu'elles sont sous-estimées et rapportées à l'âge. Du fait de l'âge souvent élevé, l'anémie peut s'accompagner de manifestations de mauvaise tolérance notamment cardiaque (angor, troubles du rythme) et vasculaire.

L'interrogatoire doit rechercher les antécédents hémorragiques et infectieux, conséquences des déficits quantitatifs et/ou qualitatifs éventuels en plaquettes et en polynucléaires neutrophiles.

Moins fréquente que l'anémie, la neutropénie doit être prise en compte car elle expose à des complications infectieuses lorsque la valeur absolue des polynucléaires neutrophiles est inférieure à 0,5 G/L.

La thrombopénie expose aux complications hémorragiques, spontanées ou provoquées. Ces manifestations hémorragiques peuvent survenir pour des valeurs de plaquettes > 50 G/L, liées à un déficit fonctionnel (thrombopathie). Elles sont généralement cutanéomuqueuses, mais peuvent être plus profondes (viscérales, oculaires).

Des manifestations extra-hématologiques sont associées aux SMD, en particulier autoimmunes. Selon les séries, jusqu'à 30% des patients avec SMD présentent des manifestations auto-immunes : vascularite, polyarthrite rhumatoïde, lupus érythémateux systémique, neuropathie, syndrome de Sweet [59] [60]. Hamidou et al. ont montré que les manifestations systémiques étaient plus fréquentes dans les SMD que dans les hémopathies lymphoïdes (18% contre 5% respectivement) [61]. Les SMD associés à des manifestations systémiques sont surtout les SMD avec excès de blastes, et concernent majoritairement les

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

hommes. Il existe également une forte association entre SMD et polychondrite atrophiante : 40% des patients de plus de 60 ans avec une polychondrite ont un SMD [62].

La splénomégalie intéresse surtout les LMMC, mais peut apparaître au cours de l'évolution d'un SMD (associée à la fibrose médullaire).

Le clinicien doit également estimer l'ancienneté des cytopénies (numérations antérieures) pour apprécier l'évolutivité du SMD, rechercher de potentiels agents étiologiques (Tableau 1) ainsi qu'un terrain familial. Dans la mesure où certains médicaments peuvent perturber l'interprétation des résultats (en altérant notamment la morphologie des cellules hématopoïétiques), il est important d'interroger le patient sur ses traitements.

B) HÉMOGRAMME

La réalisation d'une NFS est indispensable devant toute suspicion de SMD. Elle s'accompagne d'une numération des réticulocytes et de l'analyse microscopique du frottis sanguin qui devra étudier la morphologie des trois lignées myéloïdes et rechercher d'éventuels blastes circulants [15].

(1) CARACTÉRISTIQUES DE L'HÉMOGRAMME

La présentation la plus fréquente est une anémie isolée, arégénérative, normo ou macrocytaire. Des données recueillies au sein du laboratoire d'hématologie du CHU de Nantes (800 SMD au diagnostic, LMMC exclues, de janvier 1987 à octobre 2009) montrent que 61% des patients avaient une Hb < 10g/dL (seuil de l'*IPSS*). Cette anémie était macrocytaire dans 60% des cas (dont 16% avec un VGM > 110fL) et arégénérative dans 93% des cas (réticulocytes < 100 G/L).

Une étude américaine publiée dans *Blood* a montré que 11% des hommes et 10% des femmes de 65 ans et plus (ne vivant pas en institution) étaient anémiques selon les critères définis par l'OMS (à savoir Hb < 13 g/dL pour les hommes, Hb < 12 g/dL pour les femmes). L'anémie peut être imputée à une myélodysplasie chez 5,8% des patients anémiques, et chez 17% des patients avec une anémie inexpliquée [5].

Une neutropénie modérée est retrouvée chez 20% à 30% des patients, une thrombopénie modérée chez environ 10% des patients.

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

Une bicytopenie voir une pancytopenie sont possibles au diagnostic, mais sont des présentations plus rares. La présence d'une neutropénie ou d'une thrombopénie isolée constitue un mode de révélation peu fréquent.

(2) ASPECTS MORPHOLOGIQUES

Les termes "dysplasie médullaire" ou "dysmyéloïpoïèse" (dérivés du grec et signifiant "malformation") correspondent à une combinaison d'anomalies cytologiques qualitatives d'une ou plusieurs lignées myéloïdes [63] :

- érythroïde : dysérythropoïèse
- granuleuse : dysgranulopoïèse
- mégacaryocytaire : dysmégacaryopoïèse

L'évaluation de cette dysmyélopoïèse est un critère essentiel dans le diagnostic des syndromes myélodysplasiques [1] [18]. Cependant, elle n'est pas spécifique et peut s'observer dans d'autres pathologies et situations cliniques, où elle est le plus souvent réversible ; la dysmyélopoïèse des SMD est quant à elle irréversible et permanente sans traitement.

La dysmyélopoïèse correspond donc à une définition purement cytologique, et n'est pas synonyme de myélodysplasie. Une suspicion de SMD à l'hémogramme doit faire réaliser une lecture attentive du frottis sanguin afin de rechercher des arguments en faveur de cette hypothèse et d'orienter le diagnostic. Pour chaque lignée, on observera des anomalies cytoplasmiques et/ou nucléaires : l'OMS définit un seuil de 10% pour qu'une lignée soit considérée comme significativement dysplasique. Les SMD secondaires n'ont pas de caractéristiques morphologiques spécifiques par rapport aux SMD primitifs.

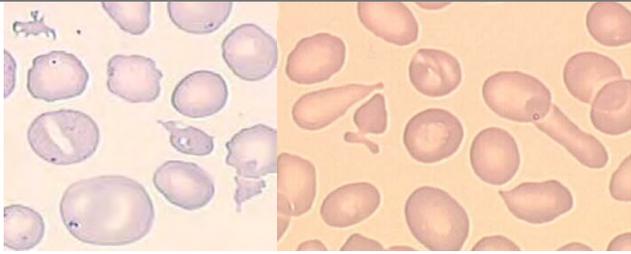
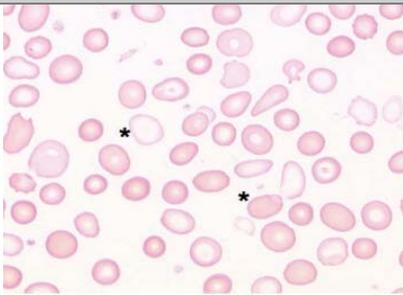
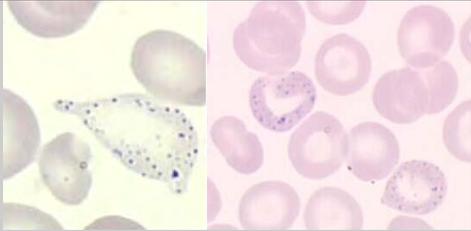
(A) LIGNÉE ÉRYTHROCYTAIRE

Les anomalies morphologiques des érythrocytes sont inconstantes, et aucune n'est spécifique des SMD.

L'anisocytose et la poïkilocytose sont variables et ne s'interprètent qu'avec les autres signes de dysplasie. La présence d'ovalocytes, de dacryocytes, d'hématies ponctuées et d'hématies contenant des corps de Pappenheimer peut traduire une dysérythropoïèse. Une tendance macrocytaire ou une macrocytose franche (VGM > 100 fL) est plus fréquemment observée. La coexistence d'hématies normochromes et hypochromes (anisochromie) est un signe de dysérythropoïèse de plus grande valeur diagnostique en l'absence de transfusion ou de

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

traitement d'une carence martiale [64]. On peut dans certains cas de SMD observer la présence d'érythroblastes circulants, qui présentent les mêmes anomalies morphologiques que les érythroblastes médullaires (Tableau 16).

Dysérythropoïèse sur le frottis sanguin (coloration au MGG, ×100)	
Poïkylocytose	 <ul style="list-style-type: none"> ➤ hématies de formes diverses
Anisocytose	<ul style="list-style-type: none"> ➤ hématies de tailles diverses
Anisochromie	 <ul style="list-style-type: none"> ➤ hématies de coloration variable (coexistence d'hématies normochromes et hypochromes (*))
Hématies à ponctuations basophiles	 <ul style="list-style-type: none"> ➤ inclusions bleutées, nombreuses, dispersées dans l'ensemble du cytoplasme et correspondant à des agrégats de ribosomes et d'ARN

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

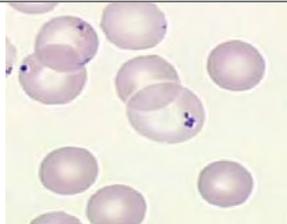
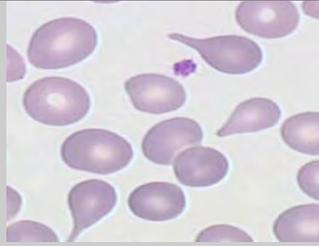
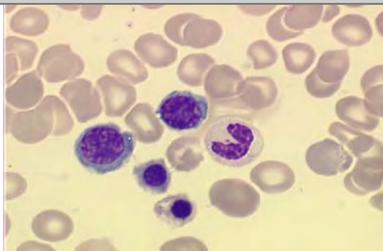
<p>Hématies avec corps de Pappenheimer</p>	 <p>➤ résidu de Fer</p>
<p>Dacryocytes</p>	 <p>➤ hématies en larme</p>
<p>Erythroblastes circulants</p>	

Tableau 16 : Anomalies morphologiques de la lignée érythrocytaire retrouvées sur le frottis sanguin

Dans les SMD avec del(20q), des elliptocytoses acquises ont été décrites [65]. Cette délétion entraîne la perte du gène codant pour la protéine de membrane érythrocytaire 4.1 like 1 dans la région 20q11.2-q12, perte qui pourrait être responsable de l'hémoglobinopathie acquise. Les signes de myélodysplasie ne sont observés que dans environ un tiers des cas de SMD associés à une del(20q). L'anémie est fréquente et modérée (normocytaire normochrome, médiane : 10,3 g/dL), les thrombopénies sont fréquentes (45 % des patients avec plaquettes < 100 G/L, 21 % avec plaquettes < 50 G/L). Près de 20% des patients présentent une thrombopénie isolée. En plus de l'elliptocytose, une dysgranulopoïèse particulière peut être objectivée dans les SMD associés à cette délétion, avec des images d'hémophagocytose (flèches) (Figure 7) [ANNEXE I] [66] [67].

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

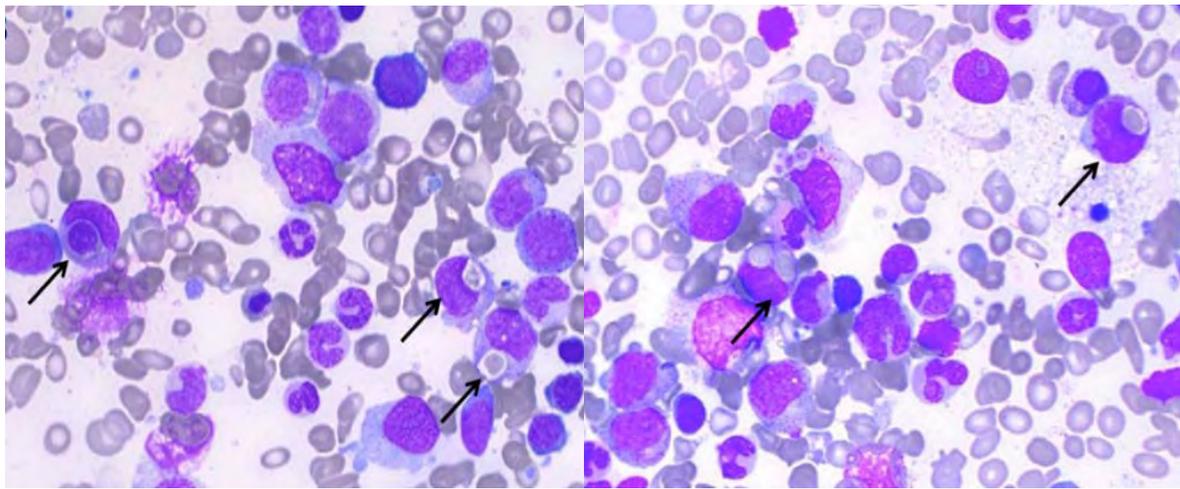
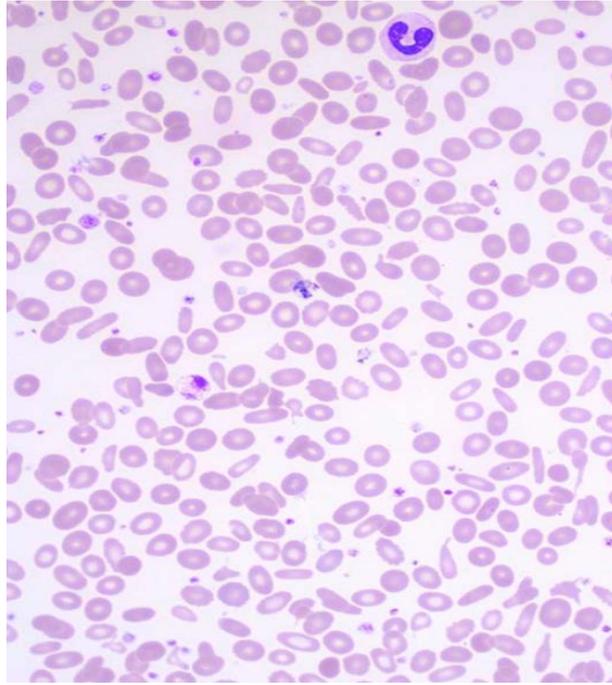


Figure 7 : Elliptocytose acquise et image d'hémophagocytose dans le cadre d'un SMD avec del(20q), d'après Boutault R., et al. [66]

(B) LIGNÉE PLAQUETTAIRE

Une thrombopénie avec des plaquettes < 100 G/L est observée chez 30% des patients (données du laboratoire d'hématologie du CHU de Nantes, sur 800 SMD au diagnostic, LMMC exclues, de janvier 1987 à octobre 2009). Les thrombocytoses sont plus rares, représentant environ 5% des cas et associées notamment aux SMD avec del(5q) et plus rarement aux SMD avec réarrangement du chromosome 3 impliquant *EVI-1* (*MECOM*).

D'un point de vue morphologique, la dysmégacaryopoïèse peut se traduire dans le sang par une anisocytose plaquettaire (plaquettes de taille augmentée, voire géantes), ainsi que par la présence de micromégacaryocytes. Les micromégacaryocytes sont des mégacaryocytes de petite taille (proche de celle d'un lymphocyte), au noyau régulier et arrondi, à la chromatine dense, au cytoplasme très limité voire absent et parfois entouré de plaquettes (Tableau 17).

Dysmégacaryopoïèse sur le frottis sanguin (coloration au MGG, ×100)

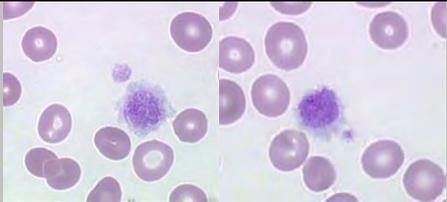
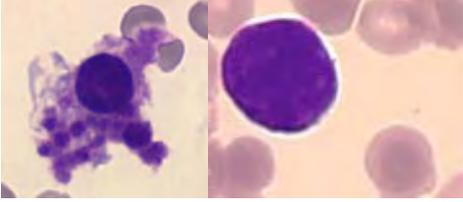
Plaquettes géantes	
	➤ taille supérieure à celle d'une hématie
Micromégacaryocyte circulant	
Plaquettes pauvres en granulations (flèche) [64]	

Tableau 17 : Anomalies morphologiques de la lignée mégacaryocytaire retrouvées sur le frottis sanguin

Ces anomalies morphologiques peuvent s'accompagner d'anomalies fonctionnelles des plaquettes, avec possiblement des thrombopathies acquises.

(C) LIGNÉE GRANULEUSE

Les leucopénies sont assez fréquentes dans les SMD (43% selon les données nantaises), les hyperleucocytoses étant quant à elles plus rares et davantage le reflet d'un syndrome mixte SMP/SMD. Disposer de frottis de bonne qualité colorés au MGG est indispensable pour l'évaluation de la morphologie leucocytaire.

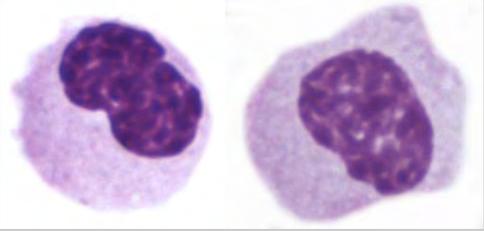
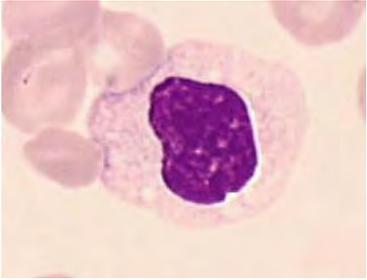
Les signes de dysgranulopoïèse sont les anomalies qualitatives ayant la plus grande valeur diagnostique et doivent donc être recherchés attentivement sur le frottis sanguin (Tableau 18) [64]. La morphologie granulocytaire est normale dans plus de la moitié des cas : l'absence de dysplasie n'exclut pas le diagnostic de SMD, et n'exclut pas la présence d'anomalies morphologiques au niveau médullaire (passage dans la circulation des éléments non dystrophiques). La dysgranulopoïèse comprend des anomalies nucléaires et des anomalies cytoplasmiques (Tableau 18).

La dystrophie la plus fréquemment retrouvée est la réduction (hypogranulation) ou la disparition complète des granulations neutrophiles cytoplasmiques des PNN, correspondant à un déficit en granules secondaires. Ce déficit en granulations neutrophiles peut donner un aspect de cytoplasme clair, voire vide (Tableau 19). Afin de s'affranchir des possibles artefacts de coloration, l'hypogranulation doit être confirmée sur au moins un autre prélèvement.

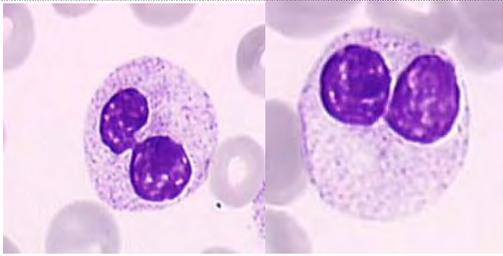
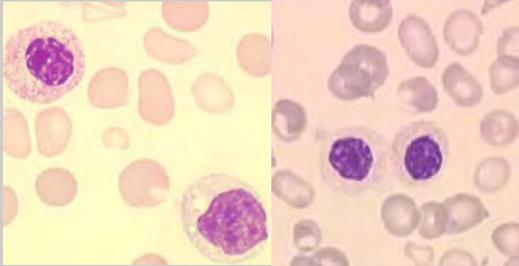
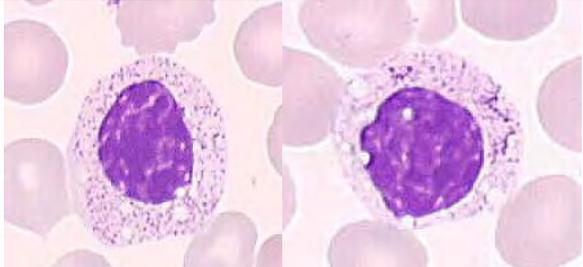
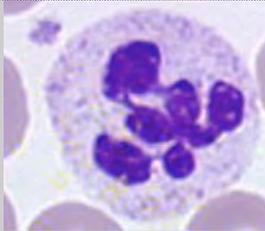
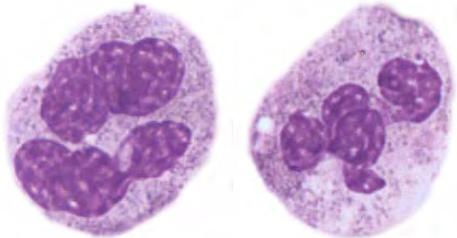
L'anomalie acquise de Pelger-Huet ou « pseudo-Pelger » (par analogie avec l'anomalie constitutionnelle de Pelger-Huet) est assez fréquente, correspondant à des PNN à noyaux ovalaires ou en bissac (Tableau 19). Un aspect particulier des PNN permet d'évoquer une anomalie du gène *TP53* : l'association de neutrophiles « pseudo-Pelger » avec un cytoplasme vacuolisé (Tableau 19). Les anomalies de segmentation des noyaux peuvent aussi donner des aspects en anneau (« *Ring-Shaped Nuclei* », décrits par Langenhuijsen), tandis que dans certains cas le noyau des PNN est au contraire hypersegmenté (Tableau 19). En plus de ces anomalies nucléaires de segmentation, la chromatine nucléaire peut subir des modifications et apparaître hypercondensée, conférant au noyau un aspect motté (« *Clumping chromatin* »). Les projections nucléaires sont plus rares et non spécifiques des SMD (Figure 8).

Principales anomalies morphologiques de la lignée granuleuse observées sur le frottis sanguin	
Anomalies nucléaires	<ul style="list-style-type: none"> • Hyposegmentation nucléaire • Anomalie Pelger-Huet acquise (noyau ovalaire ou en bissac) • Noyau hypersegmenté (5-10 lobes) • Hypercondensation chromatinienne : chromatine assemblée en mottes (“<i>Clumping chromatin</i>”) • Projections nucléaires ou appendices (caryoschizes)
Anomalies cytoplasmiques	<ul style="list-style-type: none"> • Hypogranulation / Dégranulation à tous les stades de maturation • Granulations anormales (Pseudo Chediak, Auer) • Vacuolisation • Persistance basophilie (corps de Döhle)

Tableau 18 : Anomalies morphologiques de la lignée granulocytaire sur frottis sanguin

Dysgranulopoïèse observée sur frottis sanguin (coloration au MGG, ×100)	
Anomalies cytoplasmiques	
PNN hypogranulaire ou agranulaire	
PNN avec vacuoles cytoplasmiques	

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

Anomalies nucléaires	
Hyposegmentation : PNN mature avec noyau "en bissac" (anomalie Pelger-Huet acquise)	
Hyposegmentation : PNN mature avec noyau arrondi et chromatine mature	
PNN mature avec noyau arrondi et chromatine mature, présence de quelques vacuoles cytoplasmiques	 <p>➤ Cet aspect morphologique (PNN de petite taille, noyau ovalaire associé à des vacuoles cytoplasmiques) correspond à l'aspect "pseudo-Pelger", associé à la perte d'expression du gène TP53 [68] [69].</p>
PNN mature au noyau hypersegmenté	
Gigantisme cellulaire (macropolycyte)	

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

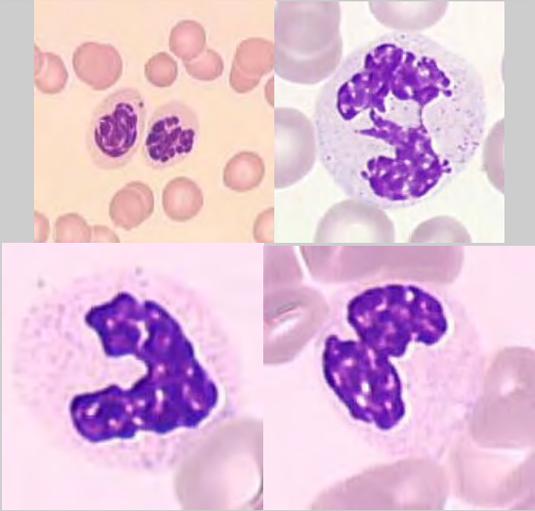
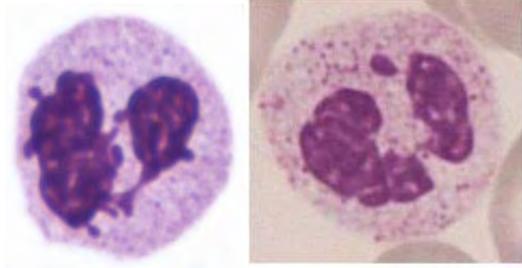
<p>PNN mature avec chromatine hypercondensée (<i>Clumping chromatin</i>)</p>	 <p>➤ Cet aspect de la chromatine n'est pas spécifique des myélodysplasies et peut être retrouvé avec certains médicaments comme la ciclosporine ou le chloraminophène.</p>
<p>PNN avec projections nucléaires (caryoschizes)</p>	

Tableau 19 : Anomalies morphologiques des granuleux observées sur frottis sanguin

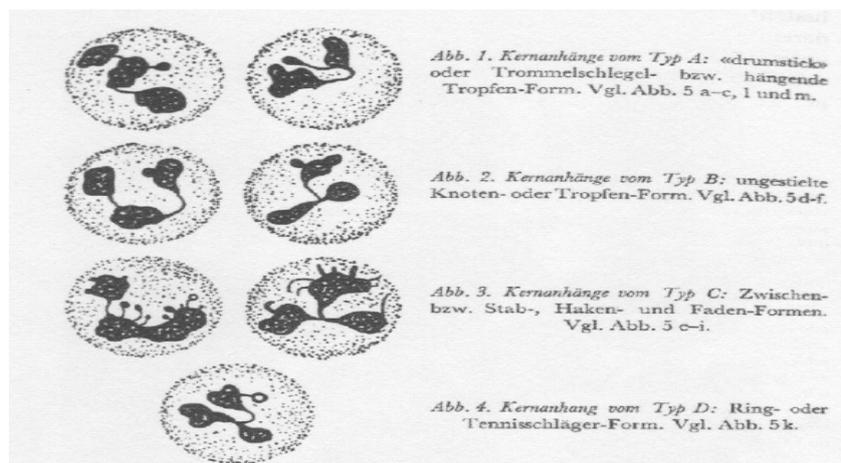


Figure 8 : Description des 4 catégories de projections nucléaires ou extensions chromatiniennes (caryoschizes) [70]

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

Les PNN avec anomalie de Pelger (52/62 patients, 84%) sont significativement plus fréquentes ($p < 0,001$) dans les SMD (11,6% +/- 7,8) que chez des témoins sains (1,9% +/- 1,5), dans les SMP (1,1% +/- 1,0) ou les anémies (3,1% +/- 2,0) [71]. L'association des anomalies pseudo-Pelger et de *Chromatin clumping* est très évocateur de SMD ($p = 0,002$), tout comme la présence de PNN avec plus de 4 projections nucléaires (les PNN avec plus de 4 projections nucléaires ne sont pas observés chez les sujets sains).

Les anomalies morphologiques des PNE sont plus rares (hypo ou hypersegmentation nucléaire, hypogranulation cytoplasmique) et non spécifiques.

La numération des blastes sur le frottis sanguin doit se faire sur au moins 500 cellules et par 2 cytologistes différents [1] [18]. La présence de blastes circulants, sans hiatus de maturation, classe la myélodysplasie en SMD-EB-1 (< 5% de blastes circulants) ou en SMD-EB-2 (5-19%). D'après les données nantaises déjà citées précédemment, 15% des patients présentent une blastose circulante $\geq 1\%$, 6% une blastose comprise entre 5 et 19%. Une myélémie $\geq 1\%$ est retrouvée chez 17% des patients. Il faut être également attentif à la monocytose ($> 1\text{G/L}$ et 10% des leucocytes, persistante), le diagnostic différentiel avec les LMMC s'avérant peu aisé. Les anomalies qualitatives des PNN ne sont pas spécifiques des SMD et il est donc nécessaire d'en connaître les diagnostics différentiels (Tableau 20).

Type de dysplasie	Diagnostic différentiel
Hyposegmentation	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Infections (Band cells) ➤ Confusion avec métamyélocyte
Dégranulation	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Artéfact de coloration ➤ Confusion avec cellules monocytaires
Hypersegmentation	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Carence vitaminique (B9, B12)
Gigantisme	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Carence vitaminique (B9, B12)
Corps de Döhle	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Infections ➤ Syndrome inflammatoire ➤ Traitement par facteur de croissance (G-CSF) ➤ Grossesse
Hypercondensation chromatiniennne	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Traitement immunosupresseur (Ciclosporine)

Tableau 20 : Principaux diagnostics différentiels des dysgranulopoïèses observées sur le frottis sanguin

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

La dysgranulopoïèse s'accompagne d'anomalies fonctionnelles, avec déficit de phagocytose et de bactéricidie des PNN. Ce déficit fonctionnel aggrave le risque infectieux chez les patients neutropéniques.

C) MYÉLOGRAMME

La réalisation d'un myélogramme est indispensable devant toute suspicion de SMD. Cet examen permet de poser le diagnostic et de classer la pathologie [1]. Une dissociation entre les données de l'hémogramme et du myélogramme est possible, les lignées quantitativement atteintes dans le sang n'étant pas toujours les plus touchées qualitativement dans la moelle osseuse [63] [64].

Pour évaluer la dysmyélopoïèse, des groupes de travail ont proposé des critères et un système de score simplifié pour quantifier la dysplasie de chacune des lignées :

- Absence de dysplasie ou dysplasie < 10% des éléments : 0
- Dysplasie > 10% des éléments d'une lignée : 1
- Dysplasie > 50% des éléments d'une lignée : 2

Le Groupe Francophone des Myélodysplasies (GFM) recommande que cette évaluation porte sur au minimum 30 mégacaryocytes, 200 leucocytes et 200 érythroblastes.

(1) EVALUATION DE LA CELLULARITÉ MÉDULLAIRE

L'évaluation de la cellularité médullaire est indispensable lors de la lecture d'un myélogramme. La ponction/aspiration médullaire avec myélogramme est un examen peu fiable pour l'appréciation de la cellularité et de la richesse en mégacaryocytes, car ces deux paramètres sont influencés par le volume de moelle osseuse aspiré et donc par le degré de dilution sanguine du prélèvement. C'est la biopsie ostéomédullaire (BOM) qui constitue l'examen de référence pour estimer la richesse médullaire. On apprécie donc davantage une « cellularité » qu'une réelle richesse.

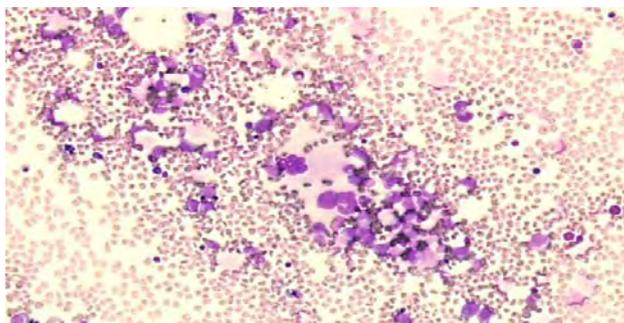
Dans les SMD, la richesse est habituellement normale ou augmentée. Il existe toutefois des myélodysplasies à moelle pauvre, voire désertique, qui constituent des formes frontières avec les aplasies médullaires. La BOM est alors indispensable.

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

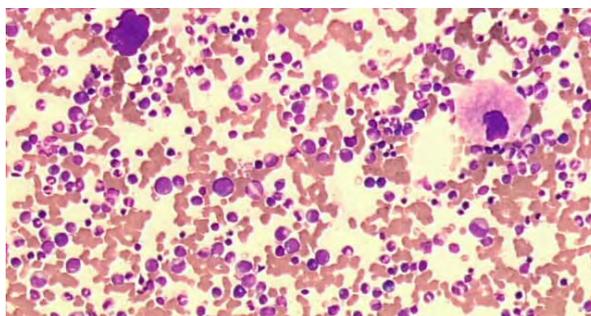
Le myélogramme permet une analyse qualitative et quantitative des divers stades de différenciation des lignées hématopoïétiques, particulièrement érythroblastique, granuleuse et lymphoïde.

Dans une moelle de cellularité normale, les cellules hématopoïétiques sont régulièrement réparties, ne se chevauchent pas en dehors des grumeaux souvent visibles au niveau des franges du frottis. La cellularité est plus importante chez les enfants et plus faible chez les sujets âgés (involution adipeuse dès l'âge de quatre ans).

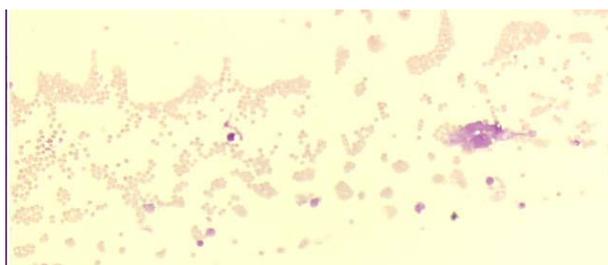
- Moelle de cellularité normale (adulte) :



- Dans une moelle de cellularité augmentée ("riche"), la densité cellulaire est forte, avec des cellules se chevauchant souvent.



- Dans une moelle dite désertique, seules quelques cellules de l'environnement médullaire sont visibles. Le comptage différentiel est impossible à établir. Dans les moelles pauvres, les cellules hématopoïétiques sont également rares mais le myélogramme est possible à établir.



(2) LIGNÉE ÉRYTHROBLASTIQUE

Les érythroblastes (EB) représentent 10 à 25% des cellules nucléées médullaires totales à partir de l'âge de 10 ans. Ils présentent certaines caractéristiques communes : le noyau est rond, parfaitement régulier, la taille diminue tout au long de la différenciation ; le cytoplasme est surtout constitué de mitochondries (l'appareil de Golgi est minime, et il y a peu de réticulum endoplasmique). On trouve fréquemment ces précurseurs érythrocytaires en îlots, autour d'un macrophage (source de fer et de phagocytose des noyaux expulsés).

Lors d'un SMD, la lignée érythroblastique est volontiers augmentée : l'étude nantaise portant sur 947 SMD au diagnostic (de janvier 1987 à décembre 2010) retrouve près de 50% de myélodysplasies avec une érythroblastose sur le myélogramme (EB médullaire > 25% des cellules totales). Cette érythroblastose peut s'accompagner de signes de myélodysplasies : 83% des patients au diagnostic de SMD ont une dysérythroïèse > 20%. Plus rarement, certains patients (9%) se présentent avec une érythroblastopénie (EB<10%).

La dysérythroïèse (Tableau 21) n'est pas spécifique des SMD : modérée, elle est fréquente dans de très nombreuses maladies non malignes, et est aussi retrouvée avec l'utilisation de certaines drogues.

Des anomalies de taille sont possibles, avec des macrocytoses érythroblastiques modérées (EB de taille augmentée) : on parle de « mégalo blastes intermédiaires » ou « macro blastes » (Tableau 22). Cette anomalie est caractérisée par une dissociation entre la maturation normale du cytoplasme et la persistance d'un noyau d'aspect plus ou moins immature (asynchronisme de maturation nucléo-cytoplasmique) : elle prédomine sur les stades de maturation les plus avancés (EB polychromatophile et acidophile) [62]. La mégalo blastose érythroblastique franche est rare et plutôt évocatrice d'une carence vitaminique (B12 ou B9).

Les anomalies nucléaires consistent en une multi-nucléarité, des irrégularités ou encore des fragmentations, conséquences d'un excès de mitoses (Tableau 22).

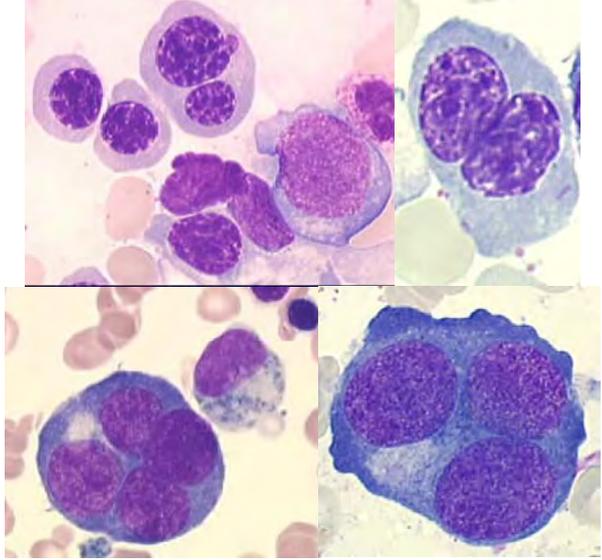
Les anomalies cytoplasmiques sont surtout marquées par un aspect feuilleté ou lacunaire, correspondant à un défaut d'hémoglobination (distribution hétérogène de l'hémoglobine dans le cytoplasme des EB polychromatophiles et acidophiles). Des ponctuations basophiles et des vacuoles peuvent aussi être observées (Tableau 22).

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

Principales anomalies morphologiques de la lignée érythroblastique observées sur le myélogramme

Anomalies nucléaires	<ul style="list-style-type: none"> • Noyaux multiples, fragmentés, bourgeonnants • Chromatine perlée • Macrocytose, mégaloblastose • Asynchronisme de maturation nucléo-cytoplasmique
Anomalies cytoplasmiques	<ul style="list-style-type: none"> • Hypochromie • Aspect feuilleté, vacuolisé • Ponctuations basophiles

Tableau 21 : Anomalies morphologiques de la lignée érythrocytaire sur le myélogramme

Dysérythropoièse observée sur frottis de moelle osseuse (MGG, × 100)	
Erythroblastes multi-nucléés	
Déformation nucléaire	

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

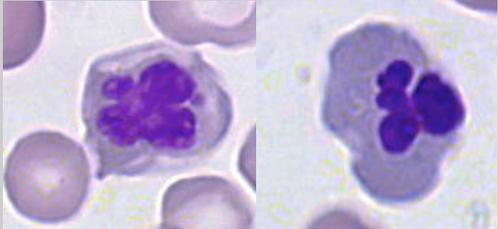
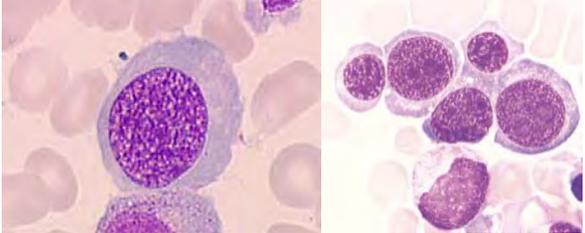
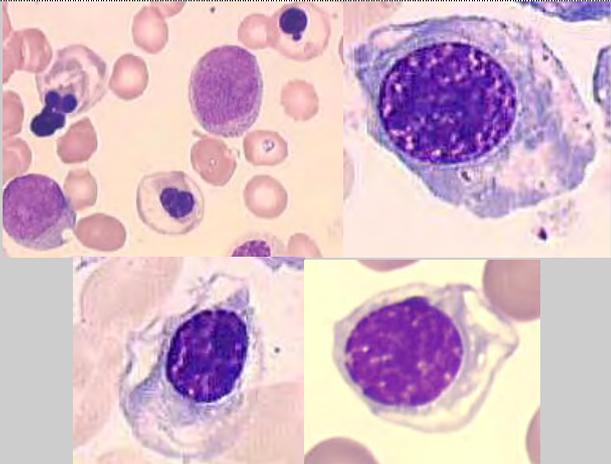
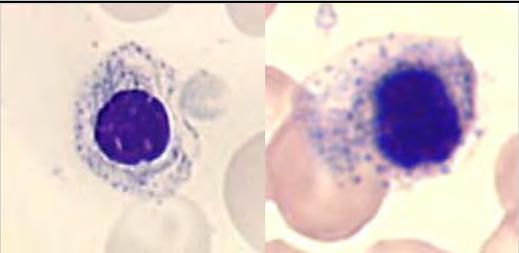
<p>Bourgeonnement nucléaire</p>	
<p>Cariorhexis (fragmentation du noyau)</p>	
<p>Macroblastes et mégalo blasts</p>	
<p>EB avec plage d'hypochromie et EB avec aspect feuilleté du cytoplasme</p>	
<p>EB avec ponctuations cytoplasmiques basophiles</p>	

Tableau 22 : Principaux signes de dysérythropoïèse observés dans les SMD sur le myélogramme

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

La recherche de sidéroblastes en couronne sur le frottis médullaire nécessite une coloration particulière : la coloration de Perls (coloration du fer par le ferrocyanure de potassium). Cette coloration est un complément indispensable à l'analyse cytologique effectuée sur le frottis médullaire coloré au MGG. Elle permet la mise en évidence des complexes insolubles contenant du fer, et notamment l'hémosidérine. Le fer insoluble apparaît alors en bleu-vert en microscopie.

On appelle « sidéroblaste » un érythroblaste dont le cytoplasme contient un ou plusieurs grains bleu-vert. Les sidéroblastes en couronne (*ring sideroblast*) représentent une forme particulière de sidéroblastes, non spécifiques des myélodysplasies. Le terme « couronne » renvoie à une localisation particulière des dépôts de fer, dans les mitochondries des érythroblastes médullaires : les granules de fer sont collées autour du noyau, sur au moins un tiers du pourtour nucléaire (Tableau 23). Un pourcentage de sidéroblastes en couronne supérieur à 15% définit une anémie sidéroblastique, et la révision 2016 de l'OMS définit un seuil de 5% si une mutation du gène *SF3B1* est également présente (Tableau 6) [1].

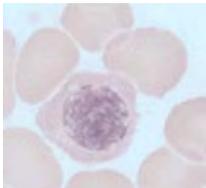
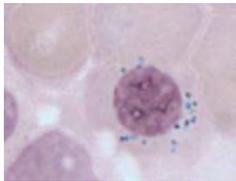
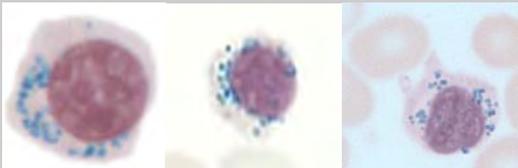
Sidéroblastes	Caractéristiques
Erythroblaste sans grain 	<ul style="list-style-type: none"> • Valeurs normales : 60-90%
<ul style="list-style-type: none"> ● Type 1 	<ul style="list-style-type: none"> ● Valeurs normales : 10-40% ● De 1 à 5 grains
<ul style="list-style-type: none"> ● Type 2 	<ul style="list-style-type: none"> ● Valeurs normales : 0 ● De 5 à 15 grains ● Répartition dans le cytoplasme
<ul style="list-style-type: none"> ● Type 3 = Sidéroblastes en couronne 	<ul style="list-style-type: none"> ● Valeurs normales : 0 ● ≥ 5 grains de répartition périnucléaire, représentant au moins 1/3 de la circonférence nucléaire [72]

Tableau 23 : Caractéristiques morphologiques des sidéroblastes

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

Toutes les dysérythropoïèses (sauf la carence martiale) peuvent s'accompagner d'une petite augmentation du nombre de sidéroblastes avec plus de trois grains, mais sans couronnes (Tableau 24).

Etiologie des anémies sidéroblastiques	
Syndromes myélodysplasiques	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Pourcentage généralement élevé de sidéroblastes en couronne ➤ +/- anomalies qualitatives des autres lignées myéloïdes ➤ +/- excès de blastes
Autres hémopathies	<ul style="list-style-type: none"> ● Leucémies aiguës ● Myélofibrose primitive
Secondaires	<ul style="list-style-type: none"> ● Carence en vitamines B6, B9, B12 ● Carence en cuivre ● Surcharge en zinc
Iatrogène	<ul style="list-style-type: none"> ● Médicaments interférant avec le métabolisme de la vitamine B6 : isoniazide, chloramphénicol
Toxiques	<ul style="list-style-type: none"> ● Alcool ● Saturnisme ● Arsenic ● Benzène
Constitutionnelles	<ul style="list-style-type: none"> ● Anémies sidéroblastiques liées au sexe ● Anomalies mitochondriales ● Anomalies du métabolisme de la vitamine B1 ● Syndromes thalassémiques

Tableau 24 : Principales causes d'anémies avec sidéroblastose en couronne significative

Un score simplifié, adapté par le GFM, permet de quantifier cette dysérythropoïèse, en tenant compte des anomalies morphologiques retrouvées dans les SMD les plus représentatives (Tableau 25).

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

Lignée érythrocytaire : Dysérythroïèse	Score		
	Absente ou < 10%	> 10%	> 50%
Anomalies nucléaires : irrégularité, bi- ou multi-nucléarité, gigantisme cellulaire	0	1	2
Anomalies cytoplasmiques : défaut d'hémoglobinisation	0	1	2
Macroérythroblastés / Mégaloblastés	0	1	2
Sidéroblastés en couronne > 15%	0	1	2
Dysérythroïèse > 10% des EB totaux (si aucune anomalie décrite n'est > 10%)	0	1	2

Tableau 25 : Quantification de la dysérythroïèse médullaire

(3) LIGNÉES GRANULEUSES

(A) EVALUATION DE LA DYSPLASIE

Les trois lignées granuleuses (neutrophile, éosinophile, basophile) sont quantitativement les plus importantes dans une moelle normale : elles représentent de 55 à 70% des cellules nucléées totales (taux variant en fonction de l'âge). Le rapport granuleux/EB est d'environ 3 chez les adultes. On retrouve une pyramide de maturation, des précurseurs aux stades les plus matures.

Comme dans le sang, des anomalies cytoplasmiques et nucléaires peuvent être observées. Dans la plupart des cas, ces signes de dysgranulopoïèse sont visibles sur le sang mais seront mieux évalués dans la moelle.

L'hypogranulation (voir l'agranulation) concerne les PNN et, de façon variable, les précurseurs granuleux : myélocytes et métamyélocytes neutrophiles. La persistance de granulations azurophiles dans les myélocytes traduit un asynchronisme de maturation de la lignée. Les promyélocytes dysplasiques ont une distribution irrégulière des grains, ainsi qu'un nombre réduit de granules (primaires et secondaires). Ces granulations peuvent être plus volumineuses que celles retrouvées dans les promyélocytes normaux (Tableau 26).

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

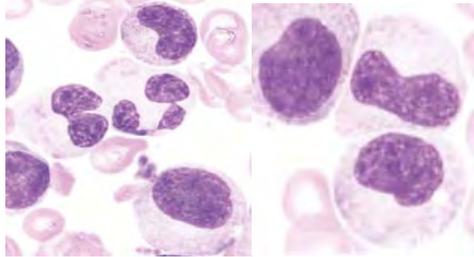
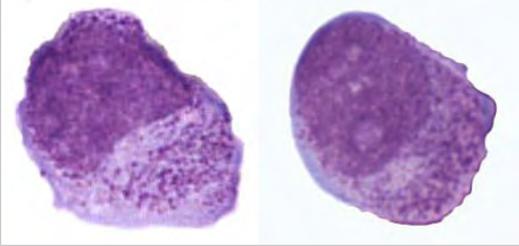
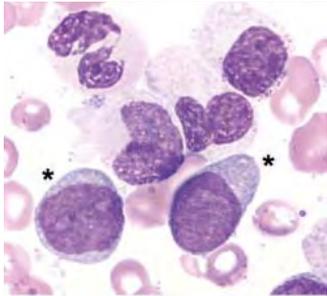
Dysgranulopoïèse observée sur frottis de moelle osseuse (MGG, × 100)	
Hypogranulation, segmentation anormale	
Promyélocytes anormaux	
Excès de blastes (*)	

Tableau 26 : Principaux signes de dysgranulopoïèse sur frottis de moelle osseuse

Un système de score simplifié peut apporter une aide pour quantifier la dysgranulopoïèse (Tableau 27).

Lignée granuleuse : Dysgranulopoïèse	Score		
	Absente ou < 10%	> 10%	> 50%
Anomalies nucléaires			
Défaut de segmentation (noyaux pseudo-Pelger, en bissac, autre hyposegmentation)	0	1	2
Condensation anormale de la chromatine	0	1	2
Autres anomalies nucléaires	0	1	2
Anomalies cytoplasmiques			
Hypogranularité	0	1	2

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

Hypergranularité (grains azurophiles)	0	1	2
Persistance de la basophilie	0	1	2
Corps d'Auer	0	1	2
Autres anomalies cytoplasmiques	0	1	2
Dysgranulopoïèse des éosinophiles, basophiles, dysplasie monocyttaire	0	1	2
Dysgranulopoïèse > 10% (si aucune anomalie > 10%)	0	1	2

Tableau 27 : Quantification de la dysgranulopoïèse médullaire

(B) EVALUATION ET CARACTÉRISATION DE LA BLASTOSE MÉDULLAIRE

Le décompte des blastes est un élément clé du diagnostic et du pronostic des SMD. La blastose constitue en effet un critère important dans les classifications et il est donc nécessaire de l'évaluer avec précision (Tableau 28). Son évaluation doit se faire sur 500 éléments, et par deux cytologistes différents [1].

Le terme de "blastés" regroupe les hémoblastes (blastés de type I, sans grains) et les myéloblastes (blastés de type II, granuleux), la principale difficulté résidant dans le fait de ne pas inclure les promyélocytes dans le décompte des blastés. L'observation de corps d'Auer dans les blastés est associée à un mauvais pronostic et classe le SMD en SMD-EB-2, quel que soit le pourcentage de blastés.

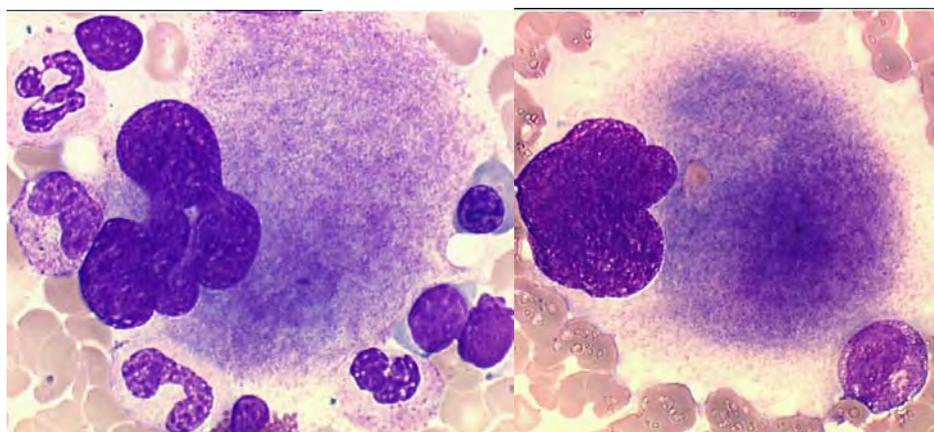
Blastose sanguine (%)	Blastose médullaire (%)	Diagnostic
< 5	5-9	➤ SMD-EB-1
5-19	10-19	➤ SMD-EB-2
/	> 20	➤ LAM

Tableau 28 : Classification des SMD en fonction du pourcentage de blastés sanguins et médullaires, d'après l'OMS 2016 [1]

(4) LIGNÉE MÉGACARYOCYTAIRE

Une moelle de richesse normale compte au minimum 20 mégacaryocytes par frottis. Le myélogramme est toutefois peu fiable pour l'évaluation quantitative de la lignée mégacaryocytaire et la BOM est clairement plus adaptée pour l'appréciation de la richesse en mégacaryocytes.

Les mégacaryocytes matures (mégacaryocytes de stade IV ou thrombocytogènes) sont des cellules de grande taille (50-120 μ m de diamètre), avec un noyau multilobé voire avec plusieurs noyaux, et à chromatine dense. Le cytoplasme est d'abondance variable, contenant des granulations se regroupant et constituant ainsi une ébauche des futures plaquettes.



Mégacaryocytes normaux (mégacaryocytes granulaires)

La dysmégacaryopoïèse est évaluée en fonction de la taille, de l'aspect du noyau, et de l'aspect du cytoplasme (Tableau 29). Elle n'est pas l'anomalie morphologique la plus fréquemment retrouvée, mais présente une grande valeur diagnostique [64].

Les mégacaryocytes au noyau hypolobé ont un noyau ayant perdu sa polylobulation caractéristique. Les syndromes 5q- présentent une hypolobulation spécifique, avec un seul noyau de petite taille, arrondi et un cytoplasme abondant.

La présence de mégacaryocytes géants aux noyaux hyperlobés peut faire évoquer une anémie réfractaire sidéroblastique avec thrombocytose (ARSI-T), s'accompagnant d'une thrombocytose et d'une anémie à l'hémogramme.

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

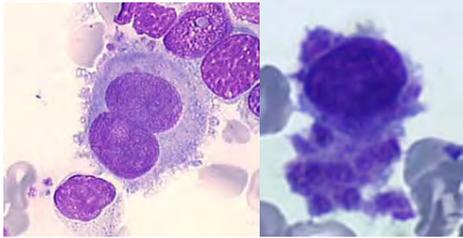
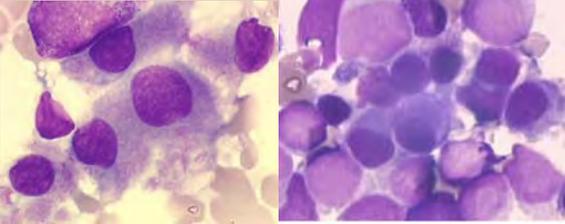
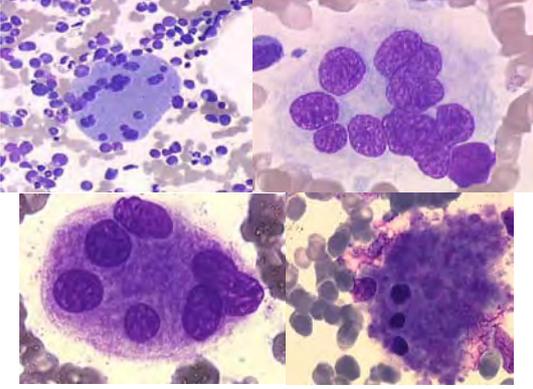
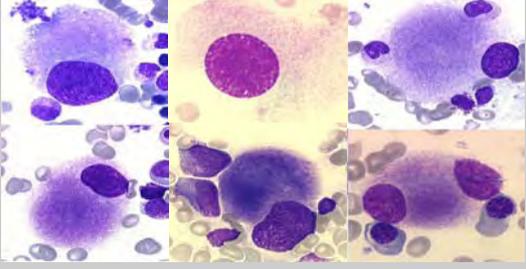
Dysmégacaryopoïèse observée sur frottis de moelle osseuse (MGG, × 100)	
<p>Micromégacaryocytes</p>	
<p>Micromégacaryocytes en amas</p> <p>➤ retrouvés dans les SMD avec réarrangement d'<i>EVI-1</i> (<i>MECOM</i>), par anomalie chromosomique en 3q</p>	
<p>Mégacaryocyte au noyau fragmenté</p>	
<p>Mégacaryocyte au noyau de taille diminuée et monolobé</p> <p>➤ évocateur d'un SMD avec del(5q)</p>	

Tableau 29 : Principaux signes de dysmégacaryopoïèse sur frottis de moelle osseuse

Sources photographiques : Drs R. Garand et M. Eveillard (Laboratoire d'hématologie, CHU NANTES), Pr M. Zandecki et Dr F. Geneviève (Laboratoire d'hématologie, CHU d'Angers)

La mise en évidence de micromégacaryocytes ou de mégacaryocytes multinucléés (petits noyaux ronds multiples et séparés) sont les deux signes de dysplasie les plus marquants.

Les mégacaryocytes hypolobés ont un noyau ayant perdu sa polylobulation caractéristique.

Les syndromes 5q- présentent une hypolobulation caractéristique, avec un noyau unique, de petite taille, arrondi et à la chromatine peu mottée, le plus souvent excentré dans un

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

cytoplasme abondant. La présence de mégacaryocytes binucléés avec noyaux séparés aux deux « pôles » de la cellule est aussi un signe de dysplasie très évocateur d'un SMD.

Un score permettant une quantification de la dysmégacaryopoïèse a été établie en comptabilisant les anomalies décrites ci-dessus (Tableau 30).

Lignée mégacaryocytaire : Dysmégacaryopoïèse	Score		
	Absente ou < 10%	> 10%	> 50%
Micromégacaryocytes	0	1	2
Mégacaryocytes bi- trinucléés à noyaux séparés	0	1	2
Mégacaryocytes à noyaux hypolobés (type 5q- et autres hypolobulation)	0	1	2
Anomalies cytoplasmiques (vacuoles, grains, ...)	0	1	2
Dysmégacaryopoïèse > 10% (si aucune anomalie ci-dessus > 10%)	0	1	2

Tableau 30 : Quantification de la dysmégacaryopoïèse

Dans plus de 80% des cas, le diagnostic de SMD est posé avec l'analyse combinée de l'hémogramme et du myélogramme. Cependant, dans certains cas, les données cytologiques sont insuffisantes pour affirmer avec certitude le diagnostic de myélodysplasie. L'immunophénotypage, la recherche d'anomalies clonales en cytogénétique et de mutations somatiques en biologie moléculaire s'avère dès lors encore plus déterminante.

D) CYTOGÉNÉTIQUE

L'étude cytogénétique doit être systématique devant une suspicion de SMD [15]. La cytogénétique occupe une place centrale dans le diagnostic, la classification et le pronostic, et peut également influencer sur la prise en charge thérapeutique des patients.

Les SMD primaires et secondaires se distinguent par le degré de complexité du caryotype au moment du diagnostic : des anomalies chromosomiques sont détectées chez environ 50% des patients présentant un SMD de novo, et chez plus de 80% des patients avec un SMD secondaire à une chimiothérapie ou un autre agent toxique. On parle de caryotype complexe lorsqu'au moins trois anomalies cytogénétiques clonales et indépendantes sont retrouvées [31]. La complexité du caryotype est également plus importante dans les SMD de haut risque, reflétant une instabilité génétique croissante.

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

Les anomalies caryotypiques sont dites fréquentes lorsqu'elles sont retrouvées chez, au minimum, 3% des patients [73] [74] [75] [76]. Dans les SMD, les anomalies chromosomiques consistent le plus fréquemment en des gains ou pertes de chromosomes, contrairement aux autres hémopathies myéloïdes (LAM, LMC) où les anomalies sont majoritairement des translocations réciproques et des inversions (Tableau 31).

Les anomalies les plus fréquemment mises en évidence dans les SMD sont ainsi les del(5q), les anomalies du chromosome 7 (-7/del(7q)), les trisomies du 8, les del(20q), et les pertes du Y (Tableau 30). Ces anomalies sont le plus souvent isolées (Figure 9).

Les délétions du bras long du chromosome 5 (del(5q)), seules ou associées à une autre anomalie, sont les anomalies les plus fréquemment rencontrées. L'OMS classe les SMD avec del(5q) comme une entité à part entière, à condition que cette délétion soit isolée ou associée à une seule autre anomalie cytogénétique (en excluant les anomalies du chromosome 7) (Tableaux 3, 4, 5).

SMD	Nb	Caryotype, Nb (%)					
		Normal	Del(5q)	-7/del(7q)	+8	-20/del(20q)	Complexe
del(5q)	61	0 (0,0)	61 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
AR	56	38 (67,9)	3 (6,5)	5 (10,9)	1 (2,2)	1 (2,2)	6 (13,0)
ARS	26	23 (88,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (3,8)	0 (0,0)	0 (0,0)
CRDM	164	88 (53,7)	11 (6,7)	20 (12,2)	12 (7,3)	8 (4,8)	18 (11,0)
CRDM- RS	77	34 (44,2)	8 (10,4)	8 (10,4)	8 (10,4)	3 (3,9)	12 (15,6)
AREB-1	90	42 (45,7)	16 (17,8)	10 (11,1)	5 (5,6)	4 (4,4)	15 (16,7)
AREB-2	121	60 (49,6)	11 (9,1)	8 (6,6)	13 (10,7)	5 (4,1)	19 (15,7)

Tableau 31 : Fréquence des principales anomalies caryotypiques des SMD (OMS 2008),
d'après Haase D., et al. [31]

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

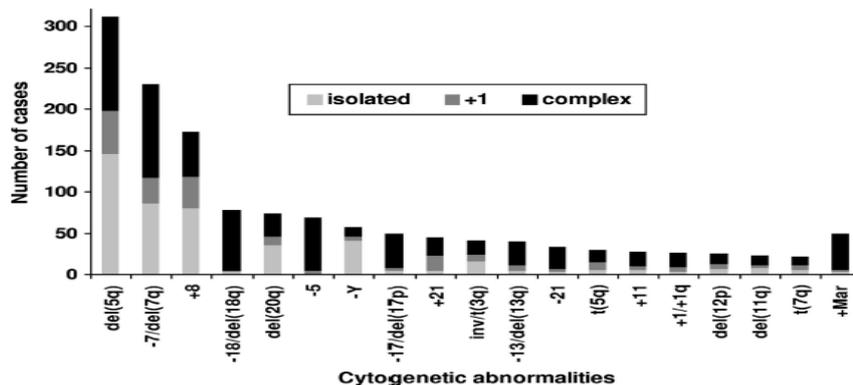


Figure 9 : Fréquences des principales anomalies caryotypiques rencontrées dans les SMD, qu'elles soient isolées, associées ou multiples, Haase D., et al. [31]

Les anémies réfractaires avec sidéroblastes en couronne (SMD-RS-SLD, OMS 2016) sont associées uniquement à des anomalies cytogénétiques de bon pronostic ou de pronostic intermédiaire.

Les anomalies de haut risque sont observées dans tous les autres groupes de SMD, avec une prédominance pour les myélodysplasies avec excès de blastes.

La présence au caryotype d'anomalies de type trisomie 8, perte isolée du chromosome Y ou délétion (20q) ne permettent pas d'affirmer à elles seules le diagnostic de SMD en raison de leur caractère non spécifique (Tableau 32).

Anomalies cytogénétiques classantes des SMD

Équilibrées	Non équilibrées
• t(11 ;16)(q23 ;p13.3)	• monosomie 7
• t(3 ;21)(q26.2 ;q22.1)	• del(7q)
• t(1 ;3)(p36.3 ;q21.2)	• monosomie 5
• t(2 ;11)(p21 ;q23)	• del(5q)
• t(6 ;9)(p23 ;q34)	• i(17q) ou t(17p)
• inv(3)(q21 ;q26.2)	• monosomie 13
	• del(13q)
	• del(11q)
	• del(12p) ou t(12p)
	• del(9q)

Tableau 32 : Anomalies cytogénétiques classantes en SMD, d'après Haase D., et al. [31]

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

L'étude de Detlef Haase et al. parue dans *Blood* en 2007 et étudiant une cohorte de 2124 patients (1981 SMD primaires, 143 SMD secondaires) dans quatre hôpitaux autrichiens et quatre allemands [31], a servi de base pour définir l'impact pronostic du caryotype dans le nouveau score pronostic : l'IPSS-R (*Revised-International Prognostic Scoring System*).

Dans l'IPSS (*International Prognostic Scoring System*), la stratification du risque cytogénétique concernait les anomalies caryotypiques les plus fréquentes, les données sur les anomalies plus rares et combinées n'étant pas encore disponibles (Tableau 33) [77]. Cette étude a permis d'affiner cette stratification du risque cytogénétique, avec une grande cohorte de patients permettant un recueil de données exhaustif, y compris sur des anomalies cytogénétiques rares.

Risque cytogénétique selon l'IPSS	
Pronostic	Caryotype
Bon	<ul style="list-style-type: none"> • Normal • Perte isolée du Y • del(5q) • del(20q)
Intermédiaire	<ul style="list-style-type: none"> • anomalies caryotypiques autres
Mauvais	<ul style="list-style-type: none"> • Complexe (> 3 anomalies) • Anomalie du chromosome 7

Tableau 33 : Groupes de risque cytogénétique définie par l'IPSS dans les SMD [77]

Cette étude retrouve la del(5q) comme étant l'anomalie la plus fréquente. Elle est présente chez 30% des patients avec anomalies cytogénétiques clonales (15% des SMD au total en incluant les patients avec caryotype normal). La del(5q) est isolée chez 14% des patients avec anomalies cytogénétiques clonales, chez 5% avec une anomalie associée, et au sein d'un caryotype complexe chez 11% des patients. La médiane de survie des patients avec une del(5q) isolée est de 80 mois, de 47 mois lorsqu'une autre anomalie est associée, et elle chute à 7 mois si le caryotype est complexe (Figure 10).

Les SMD avec anomalies du chromosome 7 (del(7q) et monosomie 7) sont retrouvés isolément chez 8% des patients, chez 3% associées à une autre anomalie et chez 10% des patients avec un caryotype complexe. Pour la monosomie 7, le pronostic est plus sombre : isolée, la médiane de survie est de 14 mois, alors qu'elle tombe à 8 mois lorsqu'une seconde

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

anomalie clonale est présente, ou lorsque cette anomalie est retrouvée dans un caryotype complexe). Les patients avec del(7q) semblent avoir une médiane de survie supérieure, sans toutefois qu'une différence significative ait pu être mise en évidence : les monosomies 7 et les del(7q) sont donc toutes deux considérées comme de mauvais pronostic (Figure 11).

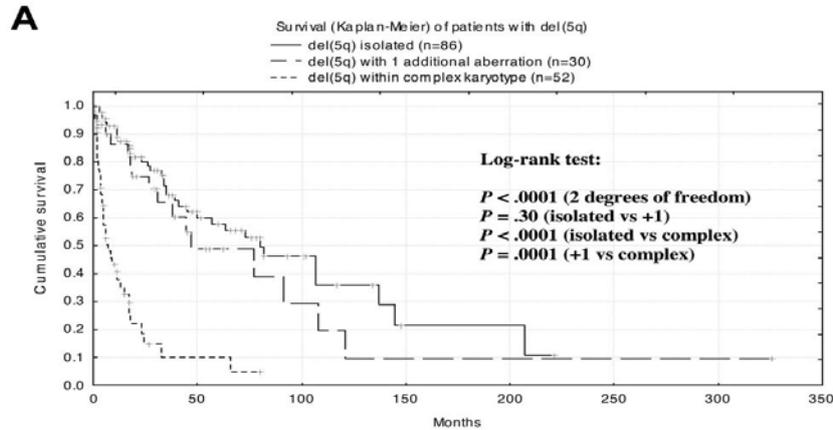


Figure 10 : Courbes de survie des patients avec del(5q) isolée, associée à une seconde anomalie clonale cytogénétique, ou retrouvée au sein d'un caryotype complexe, Haase D., et al. [31]

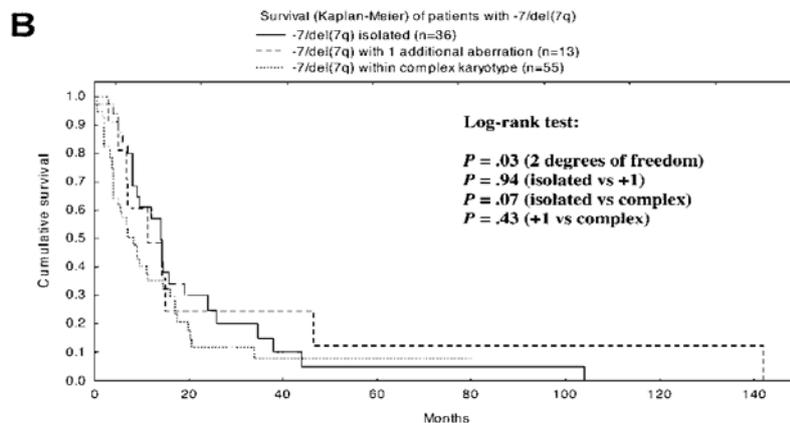


Figure 11 : Courbes de survie des patients avec anomalie cytogénétique intéressant le chromosome 7 : isolée, associée à une seconde anomalie clonale cytogénétique, ou au sein d'un caryotype complexe, Haase D., et al. [31]

Les trisomies 8 sont retrouvées isolément chez 8% des patients, et chez 5% de ceux avec un caryotype complexe.

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

Les del(20q) et la perte du Y, isolées, sont quant à elles retrouvées chez respectivement 3% et 4% des patients avec SMD.

Le chromosome 3 est impliqué dans différents réarrangements dans les SMD : t(3 ;3)(q21 ;q26), inv(3)(q21 ;q26), t(3 ;21)(q26 ;q22) (Tableau 31). La région 3q26 contient le gène *EVI-1* (*MECOM*), qui code pour un répresseur transcriptionnel. Une surexpression du gène *EVI-1* inhibe l'érythropoïèse par blocage de l'activation transcriptionnelle de *GATA-1*. Du point de vu du phénotype, une surexpression du transcrit *EVI-1* est associée à un excès de blastes et à un pronostic péjoratif [78].

D) CYTOMÉTRIE EN FLUX (CMF)

L'immunophénotypage des cellules myéloïdes médullaires contribue au diagnostic des myélodysplasies lorsque la morphologie n'est pas contributive et que l'étude cytogénétique ne retrouve pas d'anomalie clonale [79] [80].

Diverses anomalies immunophénotypiques ont été décrites dans les SMD, sur les précurseurs granuleux, les érythroblastes et les monocytes [81]. L'étude des SMD en CMF nécessite le ciblage de plusieurs expressions aberrantes sur les lignées myéloïdes. On note par exemple une augmentation des progéniteurs myéloïdes CD34+ associée à une expression aberrante de marqueurs lymphoïdes (CD2, CD5, CD5, CD19, CD56), une diminution des progéniteurs lymphoïdes B. L'hypogranulation des granuleux matures est également étudiée en CMF via le *Side Scatter* (SSC).

L'immunophénotypage des SMD repose sur l'utilisation de deux scores : le score d'*Ogata* [82] et le RED-score [83].

Ogata et al. ont montré, par l'analyse de quatre paramètres à partir d'un prélèvement médullaire, que la CMF pouvait permettre de discriminer les SMD de faible grade des *ICUS*.

Les quatre paramètres étudiés sont :

- granularité des granuleux matures via les SSC (rapport SSC granuleux / lymphocytes > 6)
- pourcentage des progéniteurs myéloïdes CD34+ parmi les cellules nucléées totales (N < 2,4%)
- pourcentage des progéniteurs lymphoïdes B parmi les cellules CD34+ (N > 5%)

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

- Rapport des moyennes d'intensité de fluorescence de CD45 sur les lymphocytes sur par rapport aux progéniteurs myéloïdes (N = 4-7,8)

Le score d'Ogata va de 0 à 4, un point étant attribué à chaque paramètre anormal. Dans les SMD, une diminution des progéniteurs B (CD34+ CD19+) est retrouvée, associée à une augmentation des progéniteurs myéloïdes CD34+. L'intensité d'expression de CD45 sur les lymphocytes comparée à celle des progéniteurs myéloïdes CD34+, peut être augmentée ou diminuée. Une diminution de la granularité (SSC) est l'élément le plus fréquemment constaté dans les SMD.

Mathis et al. ont démontré l'intérêt des marqueurs érythrocytaires CD36 et CD71. Il y a une augmentation significative du coefficient de variation (CV) de l'intensité de fluorescence de CD36 et CD71 sur les érythroblastes médullaires des patients avec SMD par comparaison avec les témoins. Combiné au score d'Ogata, l'utilisation de ce RED-score permet d'avoir une sensibilité de 88% pour le diagnostic des SMD.

E) BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

(1) FRÉQUENCE DES MUTATIONS DANS LES SMD

De nombreuses études récentes se sont intéressées aux mutations retrouvées dans les SMD [84]. Des mutations oncogéniques récurrentes sont retrouvées chez près de 80% des patients, voir 90% en utilisant des panels de gènes élargis (Figure 12). La recherche de mutations somatiques a donc une forte valeur prédictive négative : la grande majorité des patients myéloydysplasiques ont en effet au moins une mutation somatique. L'absence de mutation doit donc faire compléter le bilan étiologique.

Les gènes mutés dans les SMD ont été décrits précédemment (Tableau 15), les 4 plus fréquents étant *SF3B1*, *TET2*, *SRSF2* et *ASXL1*.

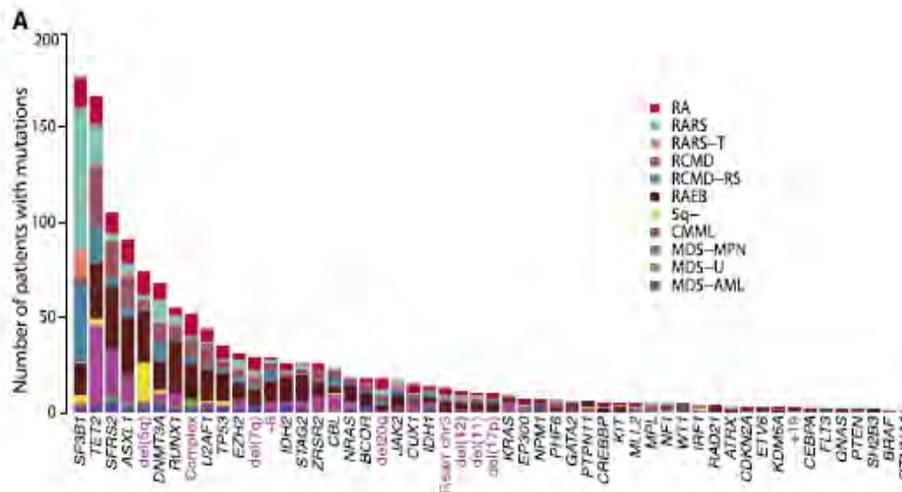


Figure 12 : Mutations oncogéniques retrouvées dans les SMD : séquençage de 111 gènes chez 738 patients, Papaemmanuil E., et al. [84]

(2) RÔLE DANS LE DIAGNOSTIC DES SMD

Le recours à la biologie moléculaire dans les myélodysplasies permet d’apporter une aide dans les cas douteux où la cytologie, la cytométrie en flux et la cytogénétique s’avèrent insuffisantes pour affirmer le diagnostic avec certitude.

Dans un contexte familial de myélodysplasie (et/ou de LAM et/ou d’aplasie médullaire) et en l’absence de maladie génétique connue, la recherche de mutations germinales des gènes *GATA2*, *RUNX1*, *CEPB α* , *TERC*, *TERT*, *ANKDR26* est indispensable [15].

L’incorporation des données de génotypage dans la nouvelle classification OMS (intégration des mutations du gène *SF3B1* dans la définition des SMD avec sidéroblastes en couronne) démontre l’intérêt grandissant de la biologie moléculaire dans le diagnostic.

(3) INTÉRÊT DANS L’ÉVALUATION PRONOSTIQUE DES SMD

De nombreux travaux ont étudié l’impact pronostique des mutations dans les SMD.

Certaines mutations somatiques ont une valeur pronostique favorable, comme les mutations de *SF3B1* (Figure 13) [85], et de *TET2* [86].

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

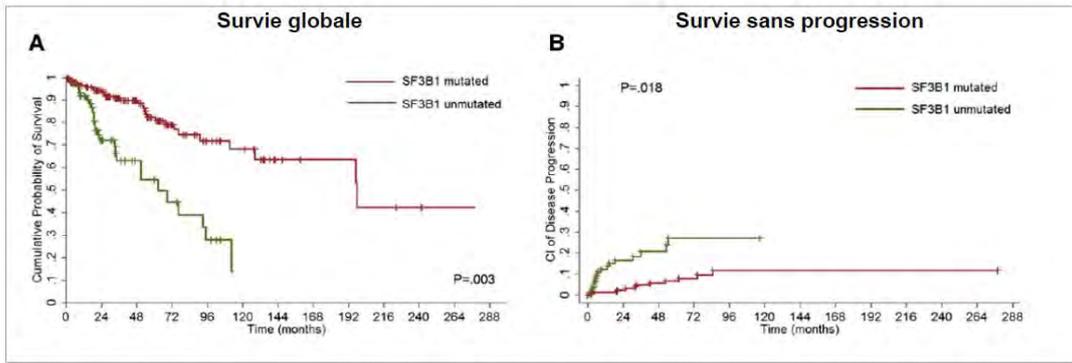


Figure 13 : Impact de la mutation *SF3B1* dans les SMD de faible risque (n = 243 patients), Malcovati L., et al. [85]

D'autres mutations oncogéniques ont une valeur pronostique défavorable et sont associées à une survie médiane réduite indépendamment des autres facteurs de risque : mutations d'*ASXL1* [87], d'*EZH2*, d'*ETV6* (Figure 14) [88], de *RUNX1*, ou encore de *TP53* (Figure 15).

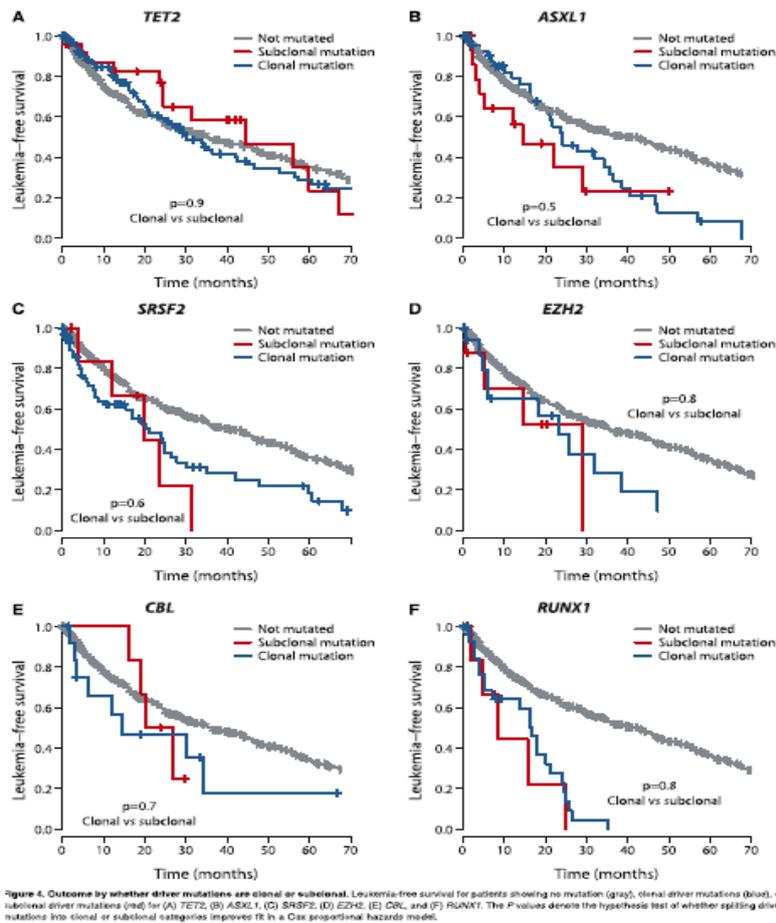


Figure 14. Outcome by whether driver mutations are clonal or subclonal. Leukemia-free survival for patients showing no mutation (gray), clonal driver mutations (blue), or subclonal driver mutations (red) for (A) *TET2*, (B) *ASXL1*, (C) *SRSF2*, (D) *EZH2*, (E) *CBL*, and (F) *RUNX1*. The P values denote the hypothesis test of whether splitting driver mutations into clonal or subclonal categories improves fit in a Cox proportional hazards model.

Figure 14 : Impact pronostique des mutations somatiques, Papaemmanuil E., et al. [84]

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

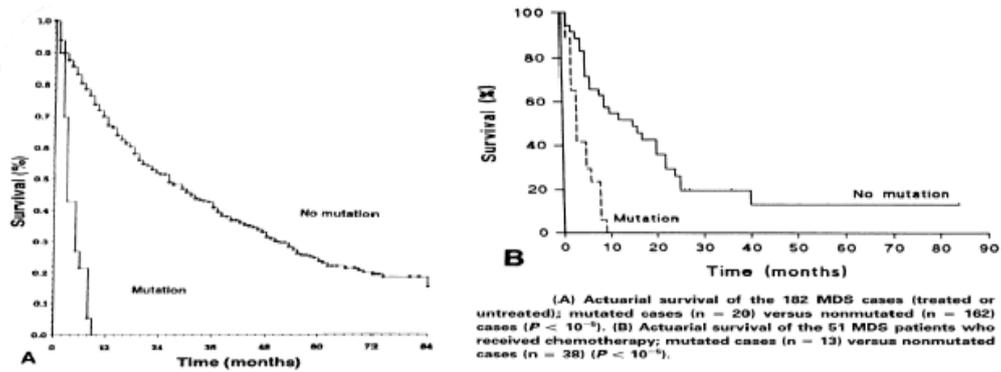


Figure 15 : Survie des patients avec SMD avec ou sans mutation *TP53*, Wattel E., et al. [89]

Des patients présentant une myélodysplasie de faible risque mais des mutations somatiques touchant ces gènes ont donc en réalité une maladie de pronostic plus péjoratif que ce que prédit l'IPSS (Figure 16) [90].

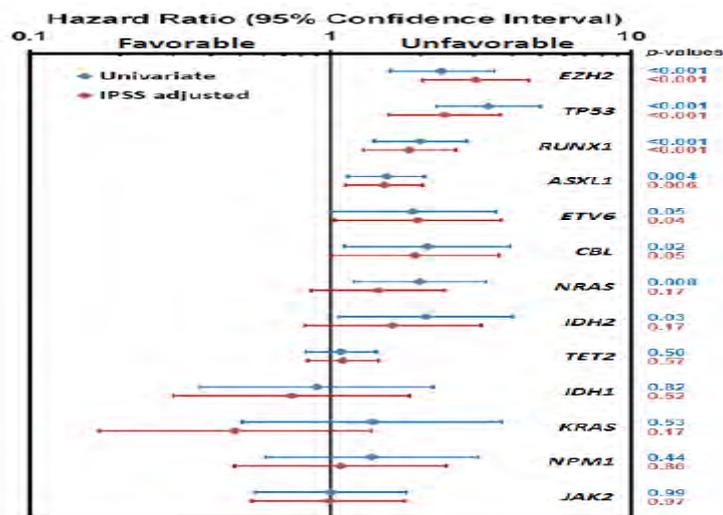


Figure 16 : Ajustement de l'IPSS en fonction du type de mutation somatique, Bejar R., et al.

[90]

Les patients classés en faible risque (IPSS) et présentant une mutation ont la même courbe de survie que ceux classés en IPSS intermédiaire-2, suggérant l'influence du statut mutationnel sur la prise en charge des SMD (Figure 17) [90].

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

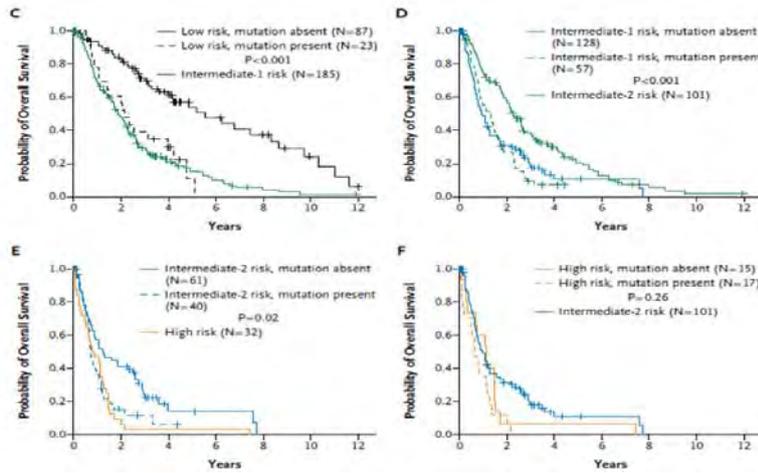


Figure 17 : Survie médiane en fonction du score IPSS et de la présence ou non de mutation oncogénique myéloïde, Bejar R., et al. [90]

Le nombre total de mutations a un impact pronostique (Figure 18), alors que la taille du clone muté a peu d'influence [84].

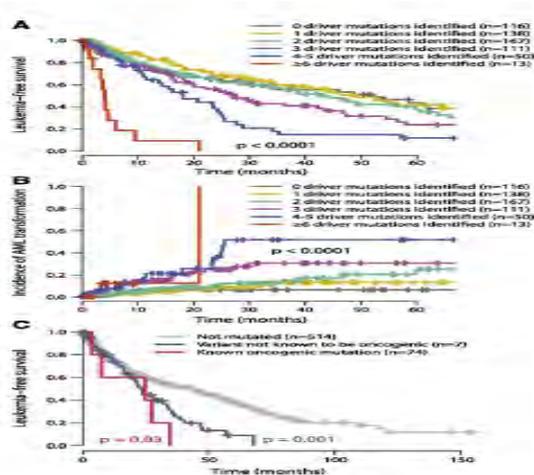


Figure 18 : Impact pronostic du nombre de mutation dans les SMD, Papaemmanuil E., et al. [84]

Au contraire, les SMD avec mutation de *SF3B1* sont associés à une médiane de survie plus importante que celle estimée par l'IPSS-R [91].

Ces travaux montrent donc que des patients partageant le même score IPSS-R mais avec des mutations différentes pourraient nécessiter des approches thérapeutiques différentes [92]. Dans les SMD de faible risque, Kosmider et al. ont montré que les patients avec plus de 2 mutations somatiques (vs ceux avec ≤ 2 mutations) avaient une médiane de survie inférieure

(32 mois vs 92 mois, $p=0,04$) : en analyse multivariée, la présence de plus de 2 mutations étant corrélée à une diminution de la survie, indépendamment de l'IPSS-R [93].

La mise en évidence de mutations peut aussi présenter un intérêt théranostique (*TET2*, *ASXL1*, *SF3B1*, *TP53*). Les mutations de *TET2* sont associées à un meilleur taux de réponse à l'azacitidine [94]. Les mutations de *TP53*, d'*ASXL1* et de *RUNX1* sont associées à une survie inférieure après allogreffe, par rapport aux SMD non mutés [95].

La mise en évidence de mutations somatiques a déjà un impact sur la décision thérapeutique dans certaines situations. Par exemple, dans les SMD de faible risque avec del(5q), la présence concomitante d'une mutation du gène *TP53* pourrait conférer une résistance au lénalidomide et donc un risque accru de transformation en LAM, ce qui peut amener à envisager une intensification thérapeutique [15].

La biologie moléculaire devrait donc prendre de l'importance dans l'évaluation du risque évolutif de la maladie, et l'intégration des données moléculaires dans les classifications pronostiques actuelles est un enjeu majeur des prochaines années. L'avènement des thérapeutiques ciblées est également une piste de développement de la biologie moléculaire.

F) EXAMENS COMPLÉMENTAIRES

(1) BIOCHIMIE

Certains examens biochimiques sont recommandés, notamment pour éliminer une autre cause d'anémie [15].

- Dosages des vitamines B9 (folates sérique et érythrocytaire) et B12 (sérique), créatininémie, bilan biologique hépatique, bilirubinémie, TSH, recherche d'un syndrome inflammatoire biologique (CRP) et dosage de l'haptoglobine (présence possible de stigmates d'hémolyse, dus à une hémolyse intramédullaire voire à une hémolyse périphérique soit corpusculaire soit d'origine auto-immune avec un test de Coombs positif).
- Sérologies virales : virus de l'immunodéficience humaine (VIH), hépatites B et C
- Dosage de la ferritine sérique : avant la mise en place éventuelle d'un support transfusionnel, pour l'évaluation et le suivi de l'hémosidérose transfusionnelle. La

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

ferritine peut être augmentée au moment du diagnostic, notamment en cas d'hémolyse.

(2) AUTRES EXAMENS

- Phénotypage érythrocytaire (Rhésus complet et Kell), voire phénotypage étendu pour les patients régulièrement transfusés (FY1, JK1, MNS3, MNS4)
- Typage HLA (*Human Leukocyte Antigen*) du patient et de sa fratrie s'il est âgé de moins de 70 ans, et sans contre-indication manifeste à une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques.

D'autres examens sont recommandés dans certaines situations [15] :

- Dosage sérique de l'érythropoïétine : dans les SMD de risque faible ou intermédiaire-1 (IPSS). Ce dosage constitue un facteur prédictif de réponse aux traitements par agents stimulant l'érythropoïèse (ASE).
- Recherche de clone d'hémoglobinurie paroxystique nocturne (HPN) en cytométrie en flux : recherche d'une perte d'expression de protéines à ancrage glycosyl phosphatidylinositol (GPI). Cette recherche est recommandée dans les formes hypoplasiques sur les populations granulocytaires (diminution expression du CD16, perte d'expression du CD24 et du CD66b) et érythrocytaires (étude DAF et MIRL : doubles négatifs CD55/CD59).

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

G) RÉCAPITULATIF DES EXAMENS BIOLOGIQUES DANS LES SMD

La Figure 19 récapitule les examens de biologie recommandés par le Groupe Francophone des Myélodysplasies (GFM).

Analyses biologiques Diagnostic/Pronostic	Indispensable / obligatoire	Recommandé utile au diagnostic et/ou à la stratification thérapeutique individuelle	
			En cours de validation
Cytomorphologie			
Myélogramme	X		
Biopsie ostéomédullaire		X ¹	
Quantification des dysplasies	X		
Classification OMS 2008	X		
Caryotype médullaire			
Caryotype médullaire	X ²		
FISH CEP 7	X ²		
FISH 5q	X ^{3,4}		
FISH CEP8	X ^{3,4}		
Index de pronostic			
IPSS et IPSS-R	X		
Biochimie, cytométrie, culture, biologie moléculaire			
Folates, vitamines B12, créatininémie	X ⁵		
Erythropoïétine sérique		X ⁶	
Ferritinémie, coef. de saturation transferrine	X ⁷		
Typage HLA	X ⁸		
Typage HLA DR		X ⁹	
Mutations somatiques			
JAK2, CAL-R, MPL	X ¹⁰		
FLT3-ITD, NMP1	X ¹¹		
TP53		X ¹²	
ASXL1		X ¹²	
Panel "myéloïde"		X ¹⁴	X ¹⁴
GATA 2, RUNX1, TERC, TERT		X ¹⁴	
Immunophénotypage			X

¹ Si moelle pauvre à l'aspiration médullaire (évoquant un SMD hypocellulaire ou la présence d'une myélofibrose) ou en cas de doute diagnostique.
² A renouveler en cas d'échec.
³ en cas de (i) 2 échecs de caryotype, ou (ii) pancytopenie à caryotype normal (iii) sujet jeune à caryotype normal, (iv) suspicion de syndrome myélodysplasique avec del(5q) sur la morphologie (v) caryotype complexe.
⁴ Un résultat de FISH normal n'exclut pas une délétion.
⁵ Diagnostic différentiel dans les formes sans excès de blastes.
⁶ si risque faible ou intermédiaire-1.
⁷ En cas de support transfusionnel.
⁸ Si allogreffe envisagée.
⁹ Si traitement immunosuppresseur envisagé.
¹⁰ Si suspicion de SMP/SMD en cas de thrombocytose, splénomégalie, myélofibrose ou thromboses.
¹¹ Si leucémie aigüe myéloïde (LAM) secondaire.
¹² Si délétion 5q isolée.
¹³ Si LMMC.
¹⁴ Si sujet jeune, IPSS int 1 ou R-IPSS int.
¹⁵ Si suspicion de forme familiale avec SMD, LAM ou aplasie dans
¹⁶ Utilisation plus large.

Figure 19 : Examens biologiques recommandés par le GFM, Fenaux P., et al. [15]

I.6. SMD ATYPIQUES ET DIAGNOSTIC DIFFÉRENTIEL

Le diagnostic des SMD peut s'avérer difficile dans certaines situations, et il est nécessaire de ne pas les confondre avec d'autres hémopathies ou anomalies hématologiques non clonales. Le risque d'évoquer à tort une myélodysplasie est possible si les diagnostics différentiels sont méconnus (Tableau 34) [63].

La lecture et l'interprétation du myélogramme, avec le décompte des blastes et l'étude morphologique, sont des étapes fondamentales et de sources potentielles d'erreurs. Une étude américaine publiée dans *Blood* en 2011 a comparé les conclusions de l'analyse de myélogrammes dans différents centres : 905 myélogrammes de patients diagnostiqués avec un SMD ont été réanalysés dans un centre de référence (M. D. Anderson Cancer Center, Houston, Texas) entre 2005 et 2009. Le diagnostic a été révisé dans 12% des cas, pour un SMD de plus haut risque dans la majorité des cas, avec pour conséquence un changement de thérapeutique [96]. Ces travaux soulignent la difficulté du diagnostic des SMD et la nécessité de le confirmer en cas de doute (nouveau prélèvement médullaire, relecture par plusieurs cytologistes). Des groupes de travail internationaux se sont donc penchés sur cette problématique afin d'établir des critères minimaux de diagnostic et de standardiser les pratiques (Tableau 6).

Distinguer d'authentiques SMD des "imitateurs et imposteurs" est donc fondamental dans la prise en charge des patients pour lesquels ce diagnostic est suspecté [63].

Les SMD ne doivent pas être confondus avec les *ICUS* et *CCUS* (Tableau 9), qui constituent des formes frontières. Le facteur temps et le suivi de ces patients sont importants, et certains développeront un authentique SMD. En plus du suivi et tant que le diagnostic demeure hésitant, il convient d'éliminer les autres causes pouvant donner des cytopénies plus ou moins associées à des anomalies morphologiques évocatrices d'un SMD.

A) SYNDROMES MIXTES MYÉLOYDYSPLASIQUES / MYÉLOPROLIFÉRATIFS

Les SMD peuvent s'accompagner d'une thrombocytose, pouvant faire suspecter un SMP (ou une néoplasie myéloproliférative [NMP]). Le syndrome 5q- et les SMD avec certaines anomalies chromosomiques impliquant le chromosome 3 (t(3 ;3), anomalies de la région 3q26

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

ou 3q27) sont fréquemment associés à une thrombocytose pouvant dépasser les 1000 G/L de plaquettes.

Le diagnostic différentiel s'avère plus complexe avec les syndromes mixtes myéloprolifératif/myéلودysplasique comme les Leucémies Myélomonocytaires Chroniques (LMMC). L'OMS définit des critères spécifiques pour le diagnostic de la LMMC, notamment une monocytose sanguine persistante (> 1G/L et 10% des leucocytes). Les ARSI-T (Anémie Réfractaire Sidéroblastique avec Thrombocytose) associent signes de dysmyélopoïèse (notamment une dysmégacaryopoïèse évoquant celle retrouvée dans les thrombocytémies essentielles) à une thrombocytose. Des mutations de *JAK2* (V617F) sont fréquemment retrouvées [1].

Les expansions clonales de LGL (*Large Granular Lymphocyte*) peuvent se présenter avec une neutropénie et/ou une anémie, et montrer des signes de dysplasie. La coexistence d'un SMD et d'une leucémie à LGL est possible [97] [98].

B) SMD PANCYTOPÉNIQUES

Les SMD hypocellulaires représentent de 5% à 20% des SMD au diagnostic. Les SMD peuvent être primitifs ou secondaires (traitement par agents alkylants), l'hémogramme n'étant pas différent des myéلودysplasies à moelle riche. L'hypoplasie médullaire rend l'évaluation de la dysmyélopoïèse compliquée, et la BOM est indiquée. Elle retrouve l'aspect habituel avec présence de dystrophies cellulaires et peut mettre en évidence des foyers de cellules immatures de type ALIP (localisation anormale de précurseurs immatures) [99].

Le SMD peut être associé à une myélofibrose dans environ 10% des cas, avec des taux d'hémoglobine et de plaquettes significativement diminués par rapport aux formes non fibrosantes. La dystrophie prédomine sur la lignée mégacaryocytaire et ces formes fibrosantes sont plus volontiers associées à des anomalies chromosomiques. Un score pronostic des SMD prend en compte cette myélofibrose dans l'évaluation du risque évolutif (Figure 29) [100].

Dans ces formes hypocellulaires de SMD, il convient d'éliminer les aplasies médullaires et l'hémoglobinurie paroxystique nocturne (HPN), voir une LAM7 (FAB) où les mégacaryoblastes seront > 20%.

C) SMD ET ATTEINTE UNILIGNÉE

Des érythroblastopénies d'origine myélodysplasique ont été décrites, se traduisant par une anémie normochrome normocytaire arégénérative et par l'absence de précurseurs érythroïdes dans la moelle. Le diagnostic est évoqué de par l'âge élevé des patients et l'absence d'autres causes (pathologie auto-immune, hémopathie lymphoïde, infection virale) [101].

Dans les thrombopénies réfractaires, le tableau est celui d'une thrombopénie isolée, le plus souvent de découverte fortuite. Le frottis médullaire ne retrouve pas obligatoirement de dysmégaryopoïèse. La recherche d'anticorps antiplaquettes peut être positive et le diagnostic est posé par la détermination de la durée de vie des plaquettes qui est normale. En dehors des formes de thrombopénies familiales, les thrombopénies isolées d'origine centrale correspondent à des SMD. Elles représenteraient environ 1% des thrombopénies idiopathiques, et 3% de l'ensemble des SMD. Il convient donc de ne pas considérer à tort ces thrombopénies réfractaires comme des PTI [102].

Les cas de neutropénies isolées correspondant à des neutropénies réfractaires sont rares. Le diagnostic est porté sur le myélogramme, qui retrouve une dysgranulopoïèse isolée sans excès de blastes. Le diagnostic différentiel peut se poser avec les expansions clonales de LGL, qui se présentent habituellement avec une neutropénie (et/ou une anémie) et qui peuvent montrer des signes de dysplasie. La coexistence d'un SMD et d'une leucémie à LGL est possible [97] [98].

D) ANÉMIES SIDÉROBLASTIQUES CONGÉNITALES

Les anémies sidéroblastiques congénitales se présentent avec une dysplasie isolée de la lignée érythrocytaire, sans excès de blastes et avec un caryotype normal. Les mutations germinales du gène *ALAS2* (lié à l'X) sont retrouvées. Ces anémies congénitales sont souvent microcytaires (VGM < 85fL). La présence d'une microcytose dans un contexte d'histoire familiale d'anémie inexplicée doit faire évoquer cette possibilité diagnostique et réaliser la coloration de Perls [103]. L'administration de pyridoxine (vitamine B6) peut améliorer l'érythropoïèse dans les formes sévères d'anémies sidéroblastiques congénitales.

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

E) CAUSES NON NÉOPLASIQUES

Les carences en vitamine B12 (cobalamine) et en vitamine B9 (folates) devront être éliminées face à une macrocytose car elles peuvent être aisément traitées.

Les carences en B12 se présentent le plus fréquemment par une pancytopénie (pouvant être sévère), et la cytologie est très évocatrice : hématies de grande taille (mégalo blastes), polynucléaires de taille augmentée et hypersegmentés. Les signes d'insuffisance médullaire peuvent être accompagnés de signes neurologiques. La présentation des carences en vitamine B9 est proche de celle des carences en B12. Les dosages sériques vitaminiques (B12 et B9) et le dosage des folates érythrocytaires permettent d'affirmer avec certitude le diagnostic de carence vitaminique.

Divers toxiques peuvent être responsables de cytopénies et de dysplasies et ainsi mimerés un SMD. L'alcool est le plus fréquent d'entre eux, et les anomalies qualitatives et quantitatives de l'hémogramme sont réversibles à l'arrêt (environ un mois) [104] [105].

Principaux diagnostics différentiels des syndromes myélodysplasiques	
Hémopathies	<ul style="list-style-type: none"> ● Syndromes mixtes SMD/SMP (LMMC) ● LAM (Blastes médullaires > 20%)
Pathologies congénitales	<ul style="list-style-type: none"> ● Maladie de Fanconi ● Dyskératose congénitale ● Anémie sidéroblastique congénitale (<i>ALAS2</i>) ● Neutropénies congénitale et cyclique (<i>ELANE</i>, <i>CSF3R</i>) ● Thrombopénies congénitales (<i>GATA1</i>, <i>MYH9</i>)
Désordres immunitaires	<ul style="list-style-type: none"> ● Aplasie médullaire ● Hémoglobinurie paroxystique nocturne ● Expansion clonale de LGL (cellules T ou NK) ● Polyarthrite rhumatoïde ● Lupus érythémateux systémique
Déficits nutritionnels	<ul style="list-style-type: none"> ● Vitamines : B12, B9 ● Cuivre ● Multiples (anorexie mentale)
Infections	<ul style="list-style-type: none"> ● VIH (réversible sous trithérapies) ● Parvovirus B19
Toxiques et médicaments	<ul style="list-style-type: none"> ● Alcool ● Cotrimoxazole, methotrexate, azathioprine, etanercept, infliximab, cisplatine

Tableau 34 : Principaux diagnostics différentiels des syndromes myélodysplasiques, d'après Steensma D.P., et al. [63]

I.7. DÉTERMINATION DU RISQUE ÉVOLUTIF DES SMD

Evaluer le risque évolutif des syndromes myélodysplasiques est un préalable indispensable à toute proposition thérapeutique. Plusieurs scores évaluant ce risque ont été développés, notamment l'*International Prognostic Scoring System* (IPSS).

A) SCORE IPSS : *INTERNATIONAL PROGNOSTIC SCORING SYSTEM*

Le score IPSS a été établi en 1997 et sert de référentiel dans l'évaluation pronostique des SMD [77].

Il définit quatre groupes pronostiques : risques faible, intermédiaire-1, intermédiaire-2 et élevé, plus couramment regroupés en deux grands groupes : SMD de faible risque (IPSS de risque faible et intermédiaire-1) et SMD de haut risque (IPSS intermédiaire-2 et élevé) (Tableaux 35, 37). Cette étape de détermination du score IPSS pour chaque myélodysplasie nouvellement diagnostiquée est fondamentale dans la réflexion menant le clinicien à choisir la thérapeutique adaptée. L'IPSS ne s'applique que pour les SMD de novo.

L'IPSS prend en compte trois critères liés à la sévérité de la myélodysplasie : le pourcentage de blastes médullaires, le nombre de cytopénies (Figure 20) et la cytogénétique (Tableau 36).

Score	0	0,5	1	1,5	2
% blastes médullaires	< 5	5 - 10	-	11 - 20	21 - 30
Nombre de cytopénies	0 ou 1	2 ou 3			
Cytogénétique	Favorable	Intermédiaire	Défavorable		

Tableau 35 : Score IPSS, d'après Greenberg P., et al. [77]

Les cytopénies sont définies respectivement par une hémoglobine < 10g/dL, des plaquettes < 100G/L et des polynucléaires neutrophiles < 1,8G/L.

Cytogénétique		
Favorable	Intermédiaire	Défavorable
➤ Caryotype normal	➤ Autre	➤ Anomalies du 7
➤ Perte isolée du Y		➤ Complexe ≥ 3
➤ del(5q)		
➤ del(20q)		

Tableau 36 : Pronostic des anomalies cytogénétiques selon l'IPSS, d'après Greenberg P., et al. [77]

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

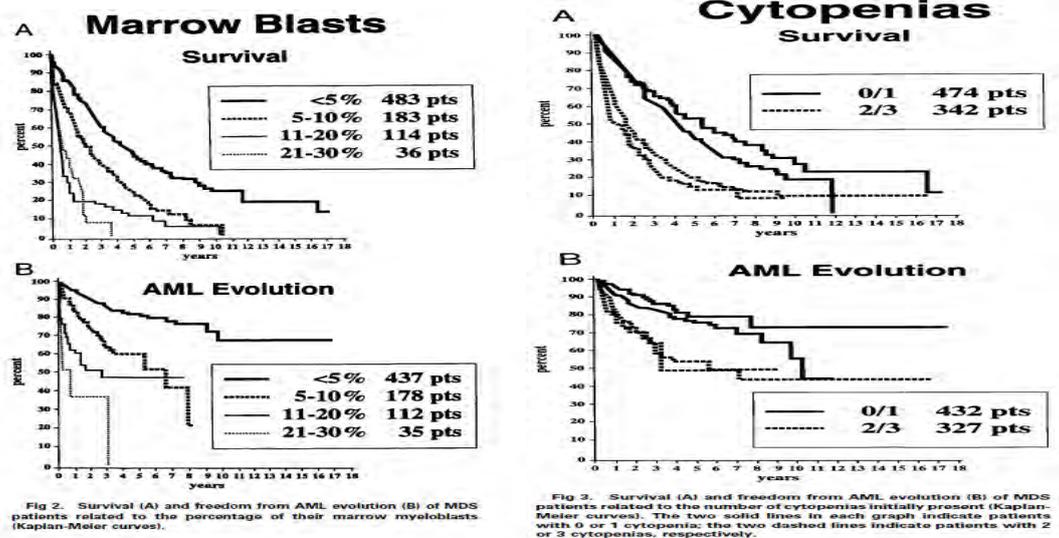


Figure 20 : Evolution en LAM et survie des SMD en fonction du nombre de blastes et du nombre de cytopénies [77]

L'IPSS permet d'évaluer la survie et le risque de transformation en LAM (Tableau 36, Figure 21).

Groupe IPSS	Score IPSS	Survie globale médiane (mois)	Délai médian avant 25% de transformation en LAM (années)
Faible	0	60	9,4
Intermédiaire-1	0,5 - 1	36	3,3
Intermédiaire-2	1,5-2	18	1,1
Elevé	>2	4	0,2

Tableau 37 : Survie médiane et risque de transformation leucémique en fonction du score IPSS, d'après Greenberg P., et al. [77]

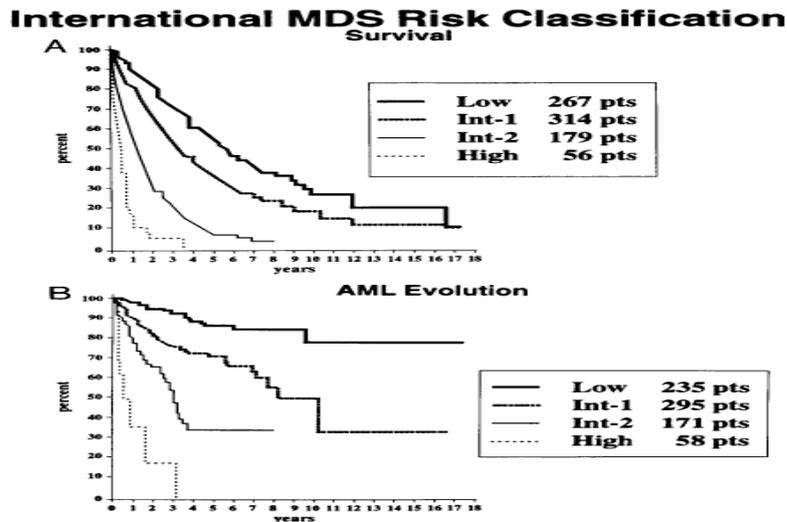


Figure 21 : Courbes de survie et de transformation leucémique des SMD en fonction du score IPSS, Greenberg P., et al. [77]

B) RÉVISION DU SCORE IPSS : L'IPSS-R

(1) DONNÉES CYTOGÉNÉTIQUES

Le score IPSS-R donne davantage de poids à la diversité cytogénétique des SMD, en se basant sur de nouvelles données issues de grandes études de cohorte. Dans l'étude de Haase et al., une analyse statistique de la distribution des anomalies cytogénétiques selon l'IPSS et selon la classification OMS (2008) a été réalisée (Figure 22).

Elle ne retrouve pas de différence significative entre respectivement : CRDM et CRDM-RS, AREB-1 et AREB-2, ni entre CRDM+CRDM-RS et AREB-1+AREB-2

Une différence significative ($p=0,03$) est constatée entre AR+ARS d'une part et CRDM+CRDM-RS d'autre part, démontrant une association entre la dysplasie multilignée et un risque cytogénétique plus élevé dans les SMD avec blastose médullaire $< 5\%$ [31].

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

Table 3. Frequency of poor risk cytogenetics (according to IPSS) in morphologically defined MDS subgroups (FAB and WHO)

Groups compared	No.	Cases with unfavorable karyotype according to IPSS, no. (%)	P (χ^2 value)
WHO			
RA vs	56	9 (16)	.03 (4.69)
RARS	26	0 (0)	
RCMD vs	164	33 (20)	.15 (2.12)
RSCMD	77	22 (29)	
RAEB-I vs	90	28 (31)	.19 (1.68)
RAEB-II	121	28 (23)	
RA + RARS vs	82	9 (11)	.03 (4.68)
RCMD + RSCMD	241	55 (23)	
RA + RARS vs	82	9 (11)	.006 (7.41)
RAEB-I + RAEB-II	211	56 (27)	
RCMD + RSCMD vs	241	55 (23)	.36 (0.84)
RAEB-I + RAEB-II	211	56 (27)	

Figure 22 : Fréquences des anomalies cytogénétiques associées à un mauvais pronostic selon l'IPSS en fonction du type de SMD [31]

Afin d'étudier l'impact de la cytogénétique sur l'évolution de la myélodysplasie, seuls les patients recevant un traitement symptomatique ont été suivis (n = 1237). La fréquence de chaque anomalie et la survie médiane associée sont étudiées (Tableau 38).

- La del(20q), isolée ou retrouvée au sein d'un caryotype non complexe, est associée à un très bon pronostic.
- Les pertes isolées du Y (3,5%), ou anomalies du Y retrouvées au sein d'un caryotype non complexe (2,7%), sont associées à une médiane de survie respectivement de 39,0 et 36,0 mois.
- La trisomie 8 isolée est associée à une médiane de survie de 22,0 mois, cette survie étant de 23,0 mois lorsque cette trisomie est retrouvée au sein d'un caryotype non complexe.

La présence d'une seconde anomalie cytogénétique n'aggrave donc pas obligatoirement le pronostic, comme dans le cas de la trisomie du 8 et de la perte du Y. Les translocations impliquant le bras long du chromosome 5 sont associées à une médiane de survie très faible (4,4 mois). Certaines anomalies cytogénétiques rares sont associées à un bon pronostic si elles sont isolées. Citons les del(12p), les anomalies du chromosomes 15, les del(9q), les t(17q), ou encore les anomalies du chromosome 1 (Figure 23) [31].

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

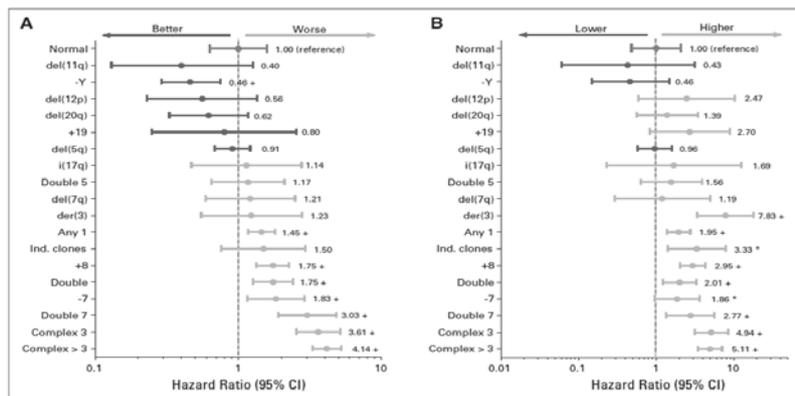


Figure 23 : Impact des anomalies caryotypiques sur le pronostic des SMD, Schanz J., et al [106]

Caryotype	Fréquence (%)	Médiane de survie (mois)
Normal	49,5	53,4
Une anomalie caryotypique	29	24
Métaphases normales + anormales		27
Métaphases anormales uniquement		18
Bon pronostic cytogénétique		
del(5q) isolée	8,2	80,0
del(5q), caryotype non complexe	10,7	77,2
del(12p), caryotype non complexe	0,8	108,0
del(20q) isolée	1,9	71,0
del(20q), caryotype non complexe	2,2	71,0
Pronostic cytogénétique intermédiaire		
Caryotypes avec 3 anomalies	2,8	17,1
Trisomie 8 isolée	3,8	22,0
Trisomie 8, caryotype non complexe	5,0	23,0
Monosomie 7 isolée	2,3	14,0
del(7q) isolée	0,6	19,0
Mauvais pronostic cytogénétique		
Complexe (tous)	13,4	8,7
4-6 anomalies caryotypiques	5,3	9,0
> 6 anomalies caryotypiques	3,9	5,0
del(20q), caryotype complexe		15,0

Tableau 38 : Médiane de survie selon le caryotype, d'après Haase D., et al. [31]

Les médianes de survie observées en fonction du risque cytogénétique définie par l'IPSS sont semblables entre la cohorte de Haase et al. et celle ayant servi de base à l'IPSS. Elles sont

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

respectivement de 54 mois (bon pronostic), 31 mois (intermédiaire), et 11 mois (risque élevé), contre 29 mois (intermédiaire) et 10 mois (risque élevé) pour Greenberg et al. [77].

Il n'existe pas de différences significatives en termes de survie médiane lorsqu'une ou deux anomalies cytogénétiques sont mises en évidence (respectivement 35 et 38 mois). La présence d'une troisième anomalie aggrave significativement le pronostic en termes de survie (17,1 mois). Cette survie médiane est encore davantage diminuée lorsque 4 à 6 anomalies (médiane de survie : 9 mois) ou plus de 6 anomalies (médiane de survie : 5 mois) sont constatées.

Les caryotypes dits complexes sont donc séparés en deux groupes distincts en termes de pronostic : ceux avec trois anomalies clonales sont considérées comme étant de mauvais pronostic, et ceux avec plus de trois anomalies comme de très mauvais pronostic (Figure 24).

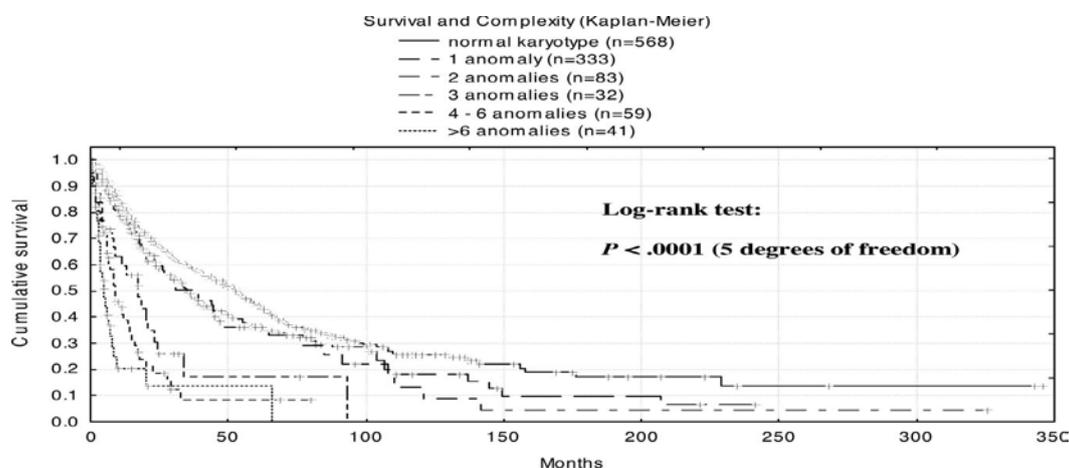


Figure 24 : Impact du nombre d'anomalies caryotypiques sur la survie, Haase D., et al. [31]

Les SMD avec une blastose médullaire inférieure à 5% et une dysmyélopoïèse unique (SMD-DUL et SMD-RS-DUL, OMS 2016) sont de bon pronostic et l'influence de la cytogénétique est modérée.

A contrario, la cytogénétique influence le pronostic des autres syndromes myélodysplasiques. Les SMD avec dysplasie multilignée et blastose médullaire inférieure à 5% sont associés à une cytogénétique de plus mauvais pronostic. Il n'y a de plus pas de différence significative en termes de distribution des caryotypes de mauvais pronostic entre ces myélodysplasies avec dysplasie multilignée et les myélodysplasies avec excès de blastes [31].

Ces nouvelles données cytogénétiques ont permis d'affiner la stratification du risque cytogénétique du score IPSS et ont servi de base à l'élaboration de l'IPSS-R [31] [106]. Cette nouvelle stratification du risque cytogénétique permet de « classer » 91% des patients. Ces

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

anomalies sont réparties en cinq sous-groupes (Figure 25), présentant chacun des survies et un risque de transformation leucémique distincts (Figure 26) [106].

Très bon n = 81 (2,9%)	Bon n = 1809 (65,7%)	Intermédiaire n = 529 (19,2%)	Mauvais n = 148 (5,4%)	Très mauvais n = 187 (6,8%)
<ul style="list-style-type: none"> • Simple • <u>del</u>(11q) • Perte du Y 	<ul style="list-style-type: none"> • Simple • Normal • <u>del</u>(5q) • <u>del</u>(12p) • <u>del</u>(20q) 	<ul style="list-style-type: none"> • Simple • Trisomie 8 • Monosomie 7 • <u>del</u>(7q) • <u>i</u>(17q) • Trisomie 19 • Autres anomalies isolées • Double 	<ul style="list-style-type: none"> • Simple • <u>inv</u>(3) • <u>t</u>(3q) • <u>del</u>(3q) • Double • Double incluant anomalies du 7 • Complexe • 3 anomalies 	<ul style="list-style-type: none"> • Complexe • > 3 anomalies
Survie médiane (mois)	Survie médiane (mois)	Survie médiane (mois)	Survie médiane (mois)	Survie médiane (mois)
<ul style="list-style-type: none"> • 60,8 • HR 0,5 (0,3-0,7) • (p<0,01) 	<ul style="list-style-type: none"> • 48,6 • HR 1,0 (0,9-1,1) 	<ul style="list-style-type: none"> • 26,0 • HR 1,6 (1,4-1,8) • (p<0,01) 	<ul style="list-style-type: none"> • 15,8 • HR 2,6 (2,1-3,6) • (p<0,01) 	<ul style="list-style-type: none"> • 5,9 • HR 4,2 (3,4-5,2) • (p<0,01)
Transformation LAM (mois)	Transformation LAM (mois)	Transformation LAM (mois)	Transformation LAM (mois)	Transformation LAM (mois)
<ul style="list-style-type: none"> • HR 0,5 (0,2-1,2) 	<ul style="list-style-type: none"> • HR 1,0 (0,9-1,2) 	<ul style="list-style-type: none"> • 78,0 • HR 2,2 (1,8-2,7) • (p<0,01) 	<ul style="list-style-type: none"> • 21,0 • HR 3,4 (2,5-4,6) • (p<0,01) 	<ul style="list-style-type: none"> • 8,2 • HR 4,2 (3,6-6,7) • (p<0,01)

Figure 25 : Stratification du risque cytogénétique des SMD primaires et des LAM secondaires à une myélodysplasie, d'après Schanz J., et al. [106]

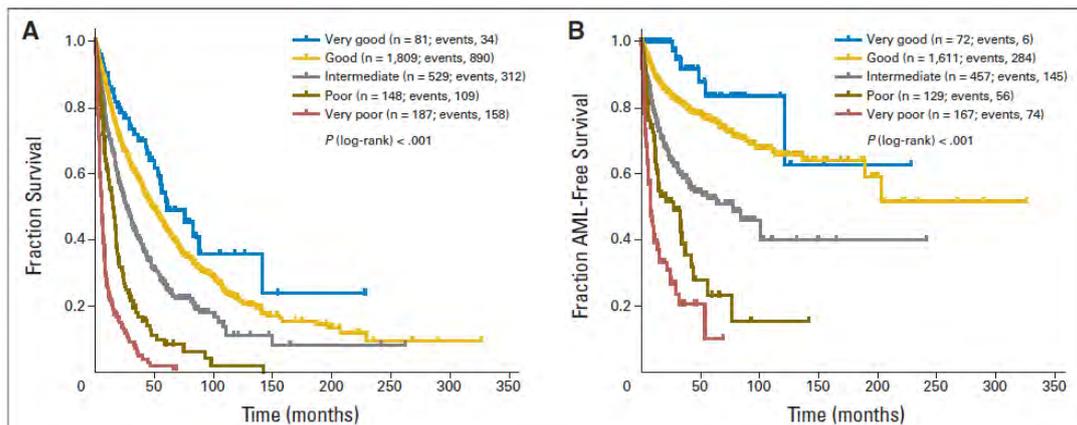


Figure 26 : Stratification du risque cytogénétique des SMD primaires et LAM secondaires à une myélodysplasie chez patients avec traitement symptomatique exclusivement, Schanz J., et al. [106]

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

(2) SCORE IPSS-R : *REVISED INTERNATIONAL PROGNOSTIC SCORING SYSTEM*

Le score IPSS-R (IPSS-révisé) a été établi en 2012 sur une cohorte de plus de 7000 patients et vient affiner la classification pronostique des SMD (Figure 27). Ce nouveau score apporte des modifications notables dans la classification cytogénétique, en se basant sur les travaux énoncés précédemment. Les sous-classes cytogénétiques de l'IPSS n'étaient en effet pas assez détaillées, rendant plus de 50% des caryotypes non informatifs [107], et l'IPSS surestimait l'impact pronostic de la blastose médullaire par rapport à la cytogénétique.

L'IPSS-R s'intéresse également à la profondeur des cytopénies et considère plus finement la blastose médullaire. Ce score trouve particulièrement un intérêt dans les SMD de plus faible risque, dont environ un quart sont classés en IPSS-R plus grave (intermédiaire, voir élevé), ce qui peut avoir pour conséquence une approche thérapeutique plus intensive [15]. A contrario, 20% des SMD de haut risque (IPSS) sont reclassés en moindre risque par l'IPSS-R [108].

Variable pronostique	0	0.5	1	1.5	2	3	4
Cytogénétique	Très favorable		Favorable		Intermédiaire	Défavorable	Très défavorable
Blastes médullaires	≤ 2 %		> 2 < 5 %	5-10 %	5-10%	> 10 %	
Hémoglobine (g/dL)	≥ 10		8 < 10	< 8			
Plaquettes (G/L)	≥ 100	50 < 100	< 50				
Neutrophiles (G/L)	≥ 0,8	< 0.8					

Figure 27 : Score IPSS-R, d'après Greenberg P., et al.

L'IPSS-R distingue cinq groupes pronostic : très faible, faible, intermédiaire, élevé et très élevé (Tableau 39, Figure 28).

Groupe IPSS-R	Score	Survie globale médiane (ans)	Médiane de temps jusqu'à 25% de transformation en LAM (ans)
Très faible	≤ 1,5	8,8	Non atteint
Faible	> 1,5-3	5,3	10,8
Intermédiaire	> 3-4,5	3,0	3,2
Elevé	> 4,5-6	1,6	1,4
Très élevé	> 6	0,8	0,7

Tableau 39 : Scores globaux dans l'IPSS-R, d'après Greenberg P., et al. [108]

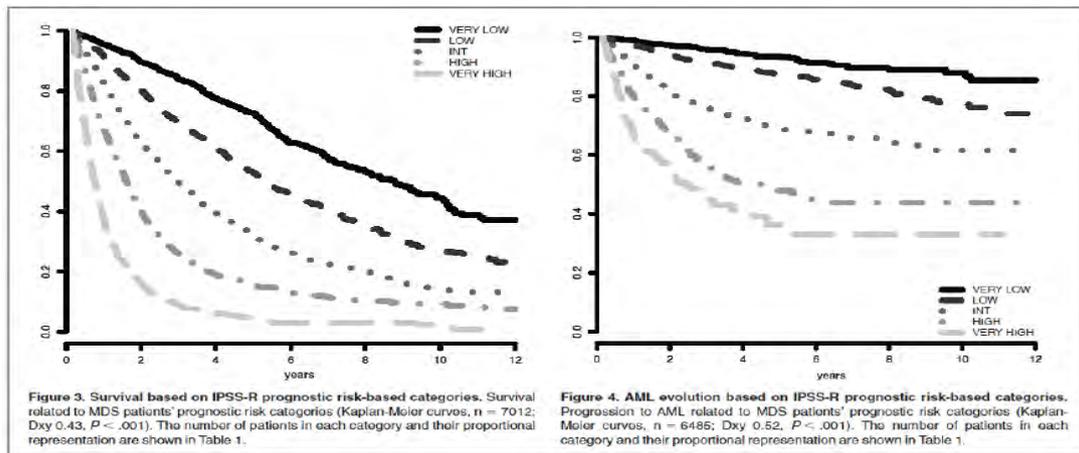


Figure 28 : Survie et évolution en LAM des SMD selon l'IPSS-R, Greenberg P., et al. [108]

Le score IPSS-R, comme l'IPSS, ne tient pas compte du degré de dysplasie (uni ou multilignée), ni de la myélofibrose ou des mutations somatiques éventuellement retrouvées en biologie moléculaire. Il a été validé sur des cohortes indépendantes [109].

L'IPSS demeure à ce jour le score le plus utilisé dans la détermination du choix thérapeutique, le recul sur son utilisation étant bien plus important et les AMM de molécules comme l'azacitidine ayant été obtenu en l'utilisant.

C) AUTRES SCORES ÉVALUANT LE RISQUE ÉVOLUTIF

D'autres scores pronostics ont été développés, comme le WPSS, qui prend en compte la classification morphologique de l'OMS 2008, le caryotype et la dépendance transfusionnelle. Les groupes de risque sont classés en : très faible (score = 0), faible (score = 1), intermédiaire (score = 2), élevé (score = 3-4) et très élevé (score = 5-6) [111]. Les besoins transfusionnels « réguliers » sont définis par des transfusions d'au moins 1 culot globulaire toutes les 12 semaines sur une période de 4 mois. Les catégories de caryotype sont les mêmes que celles retrouvées dans l'IPSS. Ce score a été établi après une analyse rétrospective de patients non traités (Tableaux 40 et 41).

WPSS : WHO classification-based prognostic scoring system for SMD				
	0	1	2	3
Classification OMS 2008	AR, ARSI, 5q-	CRDM, CRDM-RS	AREB-1	AREB-2
Caryotype	Favorable	Intermédiaire	Défavorable	-
Besoins transfusionnels	Aucun	Réguliers	-	-

Tableau 40 : Score WPSS, d'après Malcovati L., et al. [111]

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

Groupe de risque	Score WPSS	Médiane de survie (ans)
Très faible	0	> 10
Faible	1	8-9
Intermédiaire	2	4,5-5,5
Elevé	3-4	1,8-2,5
Très élevé	5-6	0,5-1

Tableau 41 : Risque et médiane de survie définis par le WPSS, d'après Malcovati L., et al.

[111]

D'autres paramètres pronostics ont été étudiés pour estimer la survie et le risque de transformation en LAM dans les myélodysplasies : la présence d'une blastose circulante [112], ou des LDH sériques élevées [113].

M. Della porta et al. ont étudié l'effet de la fibrose médullaire dans l'évolution des SMD [114]. Bien que rare et le plus souvent modérée, une myélofibrose de grade ≥ 2 est péjorative, soit parce qu'elle reflète une maladie agressive, soit parce qu'elle majore la toxicité des traitements (hypométhylants notamment) (Figure 29). Toutefois, la biopsie ostéo-médullaire n'est pas utilisée en routine en France dans l'évaluation morphologique des myélodysplasies. Elle est importante dans les cas de moelles pauvres à la ponction-aspiration médullaire, qui doivent faire évoquer un SMD hypocellulaire ou avec myélofibrose associée.

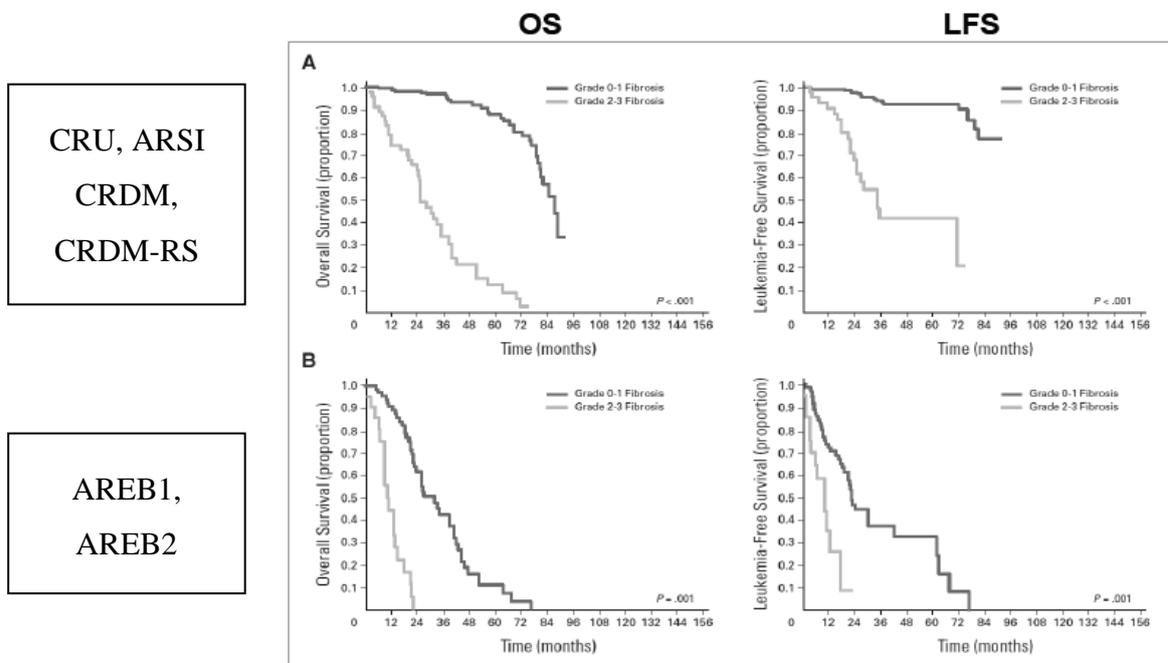


Figure 29 : Impact de la fibrose médullaire dans les SMD, Della Porta M.G., et al. [114]

Le score SMD-CI prend en compte les comorbidités et leur impact dans le pronostic des myélodysplasies : maladies cardiaque ($p < 0,001$), hépatique ($p = 0,01$), pulmonaire ($p = 0,005$), rénale ($p = 0,04$) et tumeurs solides ($p < 0,001$) [115]. Chacune de ces comorbidités est rattachée à une valeur (2, 1 ou 0) permettant de calculer un score et de stratifier les patients en fonction du risque (faible, intermédiaire ou élevé).

D) LIMITES DES SCORES ÉVALUANT LE RISQUE ÉVOLUTIF DES SMD

Toutefois, ces scores pronostics s'avèrent plus performants au moment du diagnostic qu'aux stades plus tardifs de la maladie. Dans une étude rétrospective multicentrique portant sur 7212 patients (*International Working Group for Prognosis in SMD database*) [110], Pfeilstöcker et al. montrent une diminution du risque de transformation leucémique et de la mortalité au cours du suivi chez les patients avec un SMD de haut risque, en comparaison de ce qui était prédit par les scores. Les auteurs classent les patients en deux catégories distinctes : ceux « initialement à haut risque » et ceux de « faible risque stable dans le temps », en utilisant le cut-off de 3,5 de l'IPSS-R. Un IPSS-R de faible risque au diagnostic protège à long terme du risque de décès ou de transformation leucémique. Les patients initialement considérés comme étant à « haut risque » au moment du diagnostic peuvent être séparés en « véritable haut risque » (patients qui développeront une LAM en un à deux ans) et en « haut risque relatif » (évolution leucémique incertaine). Cette étude suggère l'altération du « pouvoir pronostic » des différents scores (IPSS, IPSS-R, WPSS) et la nécessité d'optimiser ces algorithmes (notamment pour le suivi).

Tous ces scores développés ont donc pour but d'évaluer le risque évolutif des SMD, étape indispensable en vue de proposer aux patients un suivi ou un traitement. Les SMD sont en effet un groupe d'hémopathies hétérogènes, avec des pathologies de haut grade et d'autres de faible grade où le risque d'évolution en LAM est nettement plus faible. Les prises en charge seront donc différentes et adaptées à chaque situation en tenant compte, entre autres, de ces scores pronostics.

**I.8. PRISE EN CHARGE THÉRAPEUTIQUE
DES SMD**

Le choix d'un traitement est basé sur le contexte épidémiologique (âge des patients, performance status) et sur le risque définie, notamment, par l'IPSS. L'objectif des traitements des myélodysplasies, résumé dans le Tableau 42, dépend du potentiel évolutif évalué par les scores décrits précédemment.

Objectif des traitements des myélodysplasies	
Améliorer la qualité de vie des patients	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Prise en charge des cytopénies, et notamment de l'anémie ➤ Réduire les besoins transfusionnels
Améliorer l'espérance de vie	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Diminuer les risques liés aux cytopénies (hémorragique, infectieux) ➤ Diminuer le risque de transformation leucémique
La guérison : allogreffe de moelle osseuse	

Tableau 42 : Objectifs des traitements des SMD

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

A) PRISE EN CHARGE DES SMD DE BAS RISQUE

IPSS faible et intermédiaire-1

Médiane de survie : entre 4 et 6 ans

Objectif du traitement : améliorer la qualité de vie des patients en corrigeant les cytopénies

- Cytopénies modérées et/ou asymptomatiques : abstention thérapeutique
- Prise en charge de l'anémie : transfusions, agents stimulant l'érythropoïèse, chélation du fer
- Prise en charge de la thrombopénie
- Prise en charge de la neutropénie

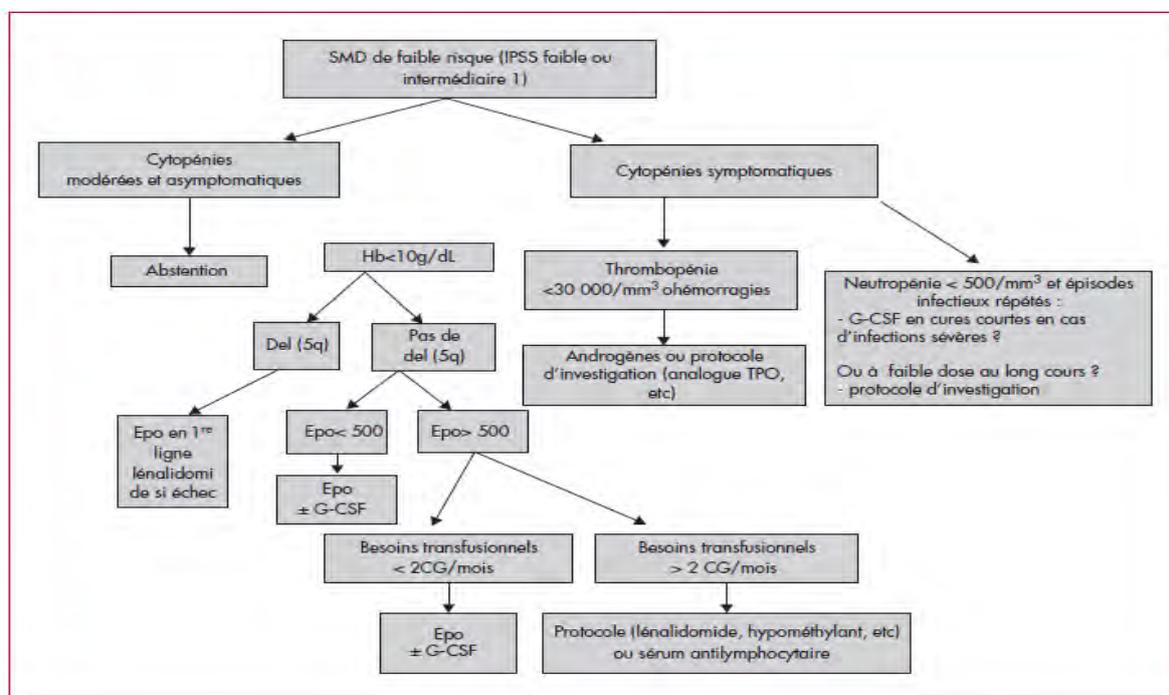


Figure 30 : Traitement des syndromes myélodysplasiques de faible risque (IPSS faible ou intermédiaire-1), Fenaux P., et al. [15]

Les SMD de faible grade sont caractérisés selon l'IPSS par un scoreLe risque de transformation en LAM est faible (moins de 20%). La majorité des patients appartient à cette catégorie des SMD de faible risque (trois quarts des patients, registre du GFM). Le traitement de ces SMD de faible risque vise à corriger les cytopénies, et en premier lieu l'anémie.

(1) TRAITEMENT DE L'ANÉMIE

(A) AGENTS STIMULANTS L'ÉRYTHROPOÏÈSE

Erythropoïétine recombinante (alpha ou bêta) : *Eprex*[®] *Neorecormon*[®]

- Posologie : de 30 000 à 60 000 UI/semaine (EPO β), 40 000 à 80 000 (EPO α)
- Pas d'AMM en Europe pour le traitement des SMD

Darbopoïétine : *Aranesp*[®]

- Posologie : 150 à 300 μ g/semaine
- Pas d'AMM en Europe pour le traitement des SMD

Recommandation temporaire d'utilisation par la HAS :

- Hb < 10 g/dL ou besoins transfusionnels
- IPSS faible ou intermédiaire-1
- % blastes < 10% si caryotype non réalisé

L'anémie est la cytopénie la plus critique dans les myélodysplasies, aussi bien en termes de fréquence (près de 90% des patients) que de symptomatologie clinique. L'anémie constitue la complication majeure des SMD de faible risque.

Les patients présentant une anémie non symptomatique sont habituellement surveillés (surveillance clinique et biologique), et un traitement est instauré à l'apparition de signes cliniques de mauvaise tolérance. Lorsqu'elle est symptomatique, il est préférable d'éviter les transfusions de culots globulaires. L'anémie et la dépendance transfusionnelle sont associées à une altération de la qualité de vie des patients, particulièrement chez les sujets âgés. L'hémoglobinémie est corrélée positivement avec cette qualité de vie. L'anémie a également un rôle dans la survie, notamment en majorant la morbi-mortalité cardiovasculaire et le risque de chutes [116] [117].

Les agents stimulant l'érythropoïèse (ASE) constituent le traitement de première ligne de l'anémie dans les SMD de risque faible ou intermédiaire-1. Toutefois, aucun ASE ne dispose à ce jour d'une AMM dans cette indication.

L'idée d'introduire les ASE dans le traitement des SMD était de dépasser le défaut de prolifération et de maturation des précurseurs érythrocytaires, en stimulant les progéniteurs résiduels normaux ou en induisant la prolifération et la différenciation du clone myélodysplasique [118]. Les ASE agissent en bloquant l'apoptose des progéniteurs érythroïdes et en augmentant les taux d'EPO anormalement bas chez certains patients.

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

L'introduction du traitement par EPO est recommandée chez les patients ayant moins de 9 à 10 g/dL d'hémoglobine, avec une mauvaise tolérance de cette anémie. Le dosage de l'érythropoïétine sérique permet de prédire la réponse à l'EPO : une valeur > à 500 UI/L (soit 10 fois la valeur sérique normale) est prédictive d'une « mauvaise » réponse (Figure 31).

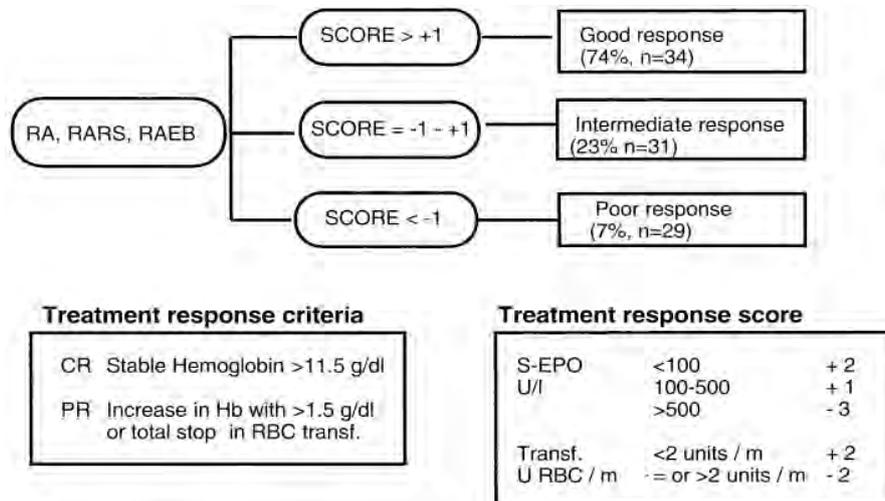


Figure 31 : Facteurs prédictifs de la réponse à un traitement par ASE, Hellström-Lindberg E., et al. [117]

Chez les patients avec SMD de faible risque et des taux d'érythropoïétine endogène inférieures à ce seuil de 500 UI/L, les ASE induisent 50 à 70% de réponses (Hb > 11,5 g/dL de façon durable, indépendance transfusionnelle).

Un meilleur taux de réponse aux ASE (70%) est obtenu dans les situations suivantes [119] [120] :

- EPO endogène \leq 200UI/L,
- Besoins transfusionnels absents ou limités (< 2 U/mois),
- Absence d'anomalie cytogénétique
- IPSS faible ou intermédiaire-1

Le score IPSS-R, la ferritinémie et le nombre de mutations génétiques ont également un impact sur la réponse aux ASE. Dans les SMD avec \leq 2 mutations somatiques, une amélioration hématologique (HI-E) est retrouvée chez 74% des patients, contre 46% des patients présentant plus de 2 mutations ($p=0,01$) [93] [121].

L'EPO dans la prise en charge de l'anémie des SMD est utilisée à doses élevées. Le traitement doit être instauré le plus tôt possible, avant la dépendance transfusionnelle, ce qui

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

permet d'obtenir des taux de réponse supérieurs et une indépendance transfusionnelle de plus longue durée [122]. La durée médiane de réponse (évaluée à douze semaines) est de 2 ans : les ASE sont poursuivies tant qu'une réponse est constatée. La posologie, une fois la réponse obtenue, est adaptée de manière à maintenir un taux d'hémoglobine entre 10,5 et 12 g/dL (recommandations ANSM). Les patients ne répondant pas à 12 semaines d'un traitement par ASE à fortes doses sont considérés comme réfractaires ou résistants primaires.

Les traitements par ASE n'induisent pas davantage de transformation en LAM. La réponse à l'EPO améliore la survie globale ($p < 0,0001$) [120].

En cas d'échec ou de perte de réponse, il n'y a pas d'AMM de traitement de seconde ligne de l'anémie. Les patients réfractaires aux ASE ont une survie médiane inférieure à 5 ans. Il est nécessaire d'éliminer une cause secondaire, avec la réalisation d'une ponction aspiration médullaire pour exclure une progression de la maladie, ainsi qu'un bilan martial et le dosage des vitamines B9 et B12 (des carences en fer ou en vitamines peuvent être responsables d'une perte de réponse). Pour les myélodysplasies sans signes de progression, la thérapeutique de seconde ligne est instaurée en fonction de la présence ou non de la del(5q). Bien que moins efficaces dans les SMD avec cette délétion du bras long du chromosome 5, particulièrement ceux transfusions-dépendants, les ASE sont néanmoins également utilisés comme première ligne de traitement dans les SMD de faible risque avec del(5q).

(B) TRAITEMENT DE SECONDE LIGNE DES SMD DE FAIBLE RISQUE

(I) SMD DE FAIBLE RISQUE AVEC DEL(5Q)

Lénalidomide : *Revlimid*[®]

Classe des IMiD, agent immunomodulateur et antiangiogénique

Dispose d'une AMM européenne si del(5q) isolée, après traitement de première ligne par ASE

Posologie : 10 mg/j, 21 jours/28

Le lénalidomide (LEN) est indiqué, en Europe, dans la prise en charge des anémies chez les patients avec myélodysplasie de faible risque et del(5q) isolée, et après échec d'une première ligne de traitement par ASE.

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

Les mécanismes d'action des IMiD sont multiples : action antitumorale directe (en inhibant la croissance tumorale), action antiangiogénique, action immunomodulatrice (en favorisant l'expansion des lymphocytes T et NK), action sur le microenvironnement médullaire (en bloquant les signaux de survie en diminuant l'adhérence des cellules tumorales au stroma médullaire et en bloquant la sécrétion de cytokines comme l'IL-6, le TNF α).

Il a été établi qu'une dose de 10mg est plus efficace qu'une dose de 5mg pour induire une indépendance transfusionnelle (61% vs 49%) et une réponse cytogénétique [123]. Les rares patients non éligibles au LEN dans cette indication sont ceux présentant une insuffisance rénale sévère et/ou des cytopénies sévères en plus de l'anémie. Un ajustement posologique et une adjonction de G-CSF peut être alors envisagée.

Dans ces myélodysplasies de faible risque avec del(5q) le LEN permet d'obtenir une indépendance transfusionnelle dans 70% des cas, durable (durée médiane de réponse de plus de deux ans) ainsi qu'une réduction significative du risque d'acutisation en LAM (45% ; p=0,022) [123] [124]. Le LEN permet également d'obtenir des réponses cytogénétiques. Il est habituellement poursuivi jusqu'à perte de réponse, les options thérapeutiques après échec (primaire ou secondaire) étant très limitées pour le moment.

La cytogénétique et certaines mutations ont un impact sur la réponse. Un caryotype complexe a un impact négatif sur la survie et l'évolution en LAM des patients traités par LEN. Des mutations de *TP53* ont également un impact négatif sur la survie. Les mutations affectant *TP53* sont fréquentes dans les SMD avec anomalie du chromosome 5, que la del(5q) soit isolée (mutations de *TP53* dans 19% des cas) ou au sein d'un caryotype complexe avec monosomie du 5 ou del(5q) (72% de mutations) [125]. Ces mutations de *TP53* pourraient conférer une résistance au LEN (faible réponse cytogénétique). La mise en évidence de cette mutation chez les patients traités par LEN peut donc amener le clinicien à envisager une intensification rapide du traitement.

Pendant les huit à douze premières semaines de traitement, le LEN est susceptible d'induire une neutropénie et/ou une thrombopénie importante (grade 3-4). Cette toxicité hématologique diminue progressivement jusqu'à l'obtention de la réponse cytogénétique. La surveillance hebdomadaire de la NFS est donc nécessaire. En cas de neutropénie, l'administration de G-CSF est envisageable, et une antibiothérapie à large spectre est indiquée en cas de fièvre.

Le LEN induit dans de nombreux cas une diminution voir une disparition de la del(5q) au caryotype, ainsi qu'une disparition de la dysmégacaryopoïèse caractéristique sur le

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

myélogramme. Ces constatations suggèrent que le lénalidomide cible spécifiquement le clone 5q-. Des travaux publiés dans le *New England Journal of Medicine* ont montré cependant que la cellule souche clonale persiste sous traitement par LEN [126].

(II) SMD DE FAIBLE RISQUE SANS DEL(5Q)

Les traitements par ASE permettent d'obtenir des réponses fréquentes (50 à 70%) et relativement longues (2 ans). Après un échec ou une perte de réponse, différentes options thérapeutiques sont possibles pour l'hématologue, allant des transfusions de culots globulaires aux molécules expérimentales testées dans des protocoles de recherche clinique.

L'addition de G-CSF à faibles doses (doses permettant de maintenir les leucocytes entre 5 G/L et 10 G/L) peut améliorer l'effet des ASE dans 20 à 35% des cas environ (particulièrement dans les SMD-RS-DUL). Il a été montré que la combinaison de l'EPO et du G-CSF diminue in vitro l'apoptose des précurseurs hématopoïétiques myélodysplasiques [127].

Les agents hypométhylants comme l'azacitidine (AZA) sont approuvés dans cette indication aux Etats-Unis mais pas en Europe, bien qu'ayant démontré leur efficacité dans les SMD de faible risque [128]. Les hypométhylants induisent des indépendances transfusionnelles et des améliorations hématologiques chez 40 à 60% des patients, majoritairement ceux transfusions-dépendants [129]. Des essais du GFM sur ces SMD de faible risque après échec primaire ou secondaire d'un traitement par EPO (12 semaines à fortes doses) sont en cours afin d'évaluer les associations AZA + EPO vs AZA (phase II, 75mg/m² 5 jours/28 pour AZA, EPOβ 60 000 U/semaine) et LEN + EPO vs LEN (phase III, 10mg par jour 21 jours/28 + EPOβ 60 000 U/semaine). Elles montrent une efficacité modérée (HI-E selon critères IWG 2006 : 35% et 40% respectivement), avec une réponse courte. Le rajout d'EPO à l'AZA n'a pas d'impact sur la réponse érythroïde [130] [131].

Le LEN seul (phase III, 10mg par jour, cycle de 28 jours) donne environ 25% de réponse érythroïde (IWG 2006) et 15% d'indépendance transfusionnelle chez les patients réfractaires aux ASE. Le taux de réponse érythroïde semble inférieur à l'association LEN + EPOβ, où les taux de réponses sont de l'ordre de 50%, avec une durée moyenne de réponse de 15 mois [131].

Chez les patients réfractaires aux thérapeutiques énoncées ci-dessus qui constituent la seconde ligne de traitement, des molécules ciblant la voie de signalisation du TGFβ (*Transforming*

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

growth factor β) sont en cours d'évaluation. Les ligands du TGF β (Activin A, GDF11) jouent un rôle sur les précurseurs érythroïdes terminaux (à partir du stade érythroblaste polychromatophile) en inhibant l'érythropoïèse par apoptose accrue des progéniteurs. Ces nouvelles molécules permettent de bloquer ces ligands du récepteur au TGF β et d'inhiber ainsi son activation et la voie de signalisation Smad2/3, augmentant ainsi la production d'érythrocytes matures. Le sotatercept (ACE-011) et le luspatercept (ACE-536) sont tous deux en cours d'essai. Ce dernier est une protéine de fusion composée d'un fragment Fc d'IgG humaine et du récepteur (modifié) de l'activine de type IIb (ActRIIB). Cette molécule induit une indépendance transfusionnelle dans 40% des cas, et une amélioration hématologique dans près de 70% des cas (phase II, 1mg/kg SC toutes les 3 semaines). La réponse semble supérieure dans les SMD avec sidéroblastose en couronne significative (RS > 15%). Le luspatercept fait d'ailleurs l'objet d'une étude de phase III [132].

La combinaison d'EPO et d'acide tout-trans rétinoïque (ATRA) dans les SMD de faible risque de patients en échec ou non répondeurs au traitement par ASE montre des réponses érythroïdes de l'ordre de 32% (étude prospective sur 59 patients) [133]. Chez les patients nécessitant la transfusion de plus de deux culots globulaires par mois (situation associée à une moins bonne réponse à l'association EPO - G-CSF), le taux de réponse érythroïde s'élève à 39% (selon critères IWG 2006).

L'activation aberrante de la voie NF- κ B peut être inhibée par le trioxyde d'arsenic (As₂O₃), ce qui induit une apoptose. Son activité dans les SMD de faible risque et de haut risque a été étudiée, montrant des améliorations hématologiques dans 26% et 17% (respectivement) en utilisation seul (0,3 mg/Kg par jour pendant 5 jours, puis dose d'entretien de 0,25 mg/Kg deux fois par semaine pendant 15 semaines). La durée médiane de réponse est de 3,4 mois [134].

Ces alternatives thérapeutiques ne sont parfois pas disponibles, ou non adaptées au patient. Les transfusions de culots globulaires constituent une alternative majeure dans la prise en charge de ces SMD de faible risque après échec ou perte de réponse aux ASE.

(2) TRAITEMENT DE LA THROMBOPÉNIE

Analogues du récepteur de thyroperoxydase (TPO) : *Romiplostim* *Eltrombopag*

Androgènes : *Danazol*

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

Les thrombopénies sévères (< 50G/L) concernent moins de 20% des patients avec SMD. Cette anomalie quantitative peut s'accompagner d'une thrombopathie, majorant le risque hémorragique : les hémorragies constituent la troisième cause de décès dans les myélodysplasies [135]. De plus, l'introduction de certains traitements (AZA, LEN) peut aggraver cette thrombopénie et accroître le risque hémorragique. Les transfusions plaquettaires peuvent constituer une option thérapeutique mais ont une efficacité limitée dans le temps.

Deux peptidomimétiques de la thrombopoïétine (TPO) sont disponibles : ils se lient au récepteur de la TPO (MPL), induisant son activation.

L'utilisation du romiplostim (750 µg par semaine, SC) permet l'obtention de taux de réponse de l'ordre de 50% : accroissement du taux de plaquettes et diminution des évènements hémorragiques [136]. Il peut s'accompagner d'une majoration de la blastose médullaire, généralement réversible à l'arrêt du traitement (en stimulant les progéniteurs hématopoïétiques) : le risque de transformation en LAM ne semble toutefois pas plus élevé dans les essais versus placebo.

L'eltrombopag est un analogue synthétique non peptidique de la TPO, administré par voie orale, et utilisé dans les purpuras thrombopénique auto-immuns. Les analogues de TPO ne sont utilisés pour le moment que dans des essais cliniques (avec les hypométhylants, le LEN), chez des patients ne présentant pas d'excès de blastes médullaires. Tout comme le dosage de l'EPO sérique avant mise sous ASE est prédictif de la réponse, le dosage de la TPO pourrait trouver son intérêt avec l'utilisation des thrombomimétiques.

Les androgènes, comme le danazol (utilisé à la posologie de 400 à 600 mg/j), donnent des réponses plaquettaires de l'ordre de 30%. Il convient de s'assurer de l'absence de contre-indication, notamment thrombotique, avant prescription. L'utilisation est restreinte du fait d'une réponse de courte durée et des effets indésirables.

Lorsque la thrombopénie est nettement plus profonde que les autres cytopénies, la recherche d'une composante périphérique peut être justifiée. En cas, notamment, de durée de vie plaquettaire réduite, une prise en charge de type purpura thrombopénique auto-immun (PTAI) peut être envisagée.

(3) TRAITEMENT DE LA NEUTROPÉNIE

La neutropénie est très rarement isolée au moment du diagnostic. La dysplasie affectant la lignée granuleuse se traduit par des anomalies fonctionnelles des PNN pouvant majorer le risque infectieux chez les patients myélodysplasiques. Le G-CSF (facteur de croissance granulocytaire) est utilisé pour de courtes durées, notamment lors d'épisodes infectieux sévères chez les patients neutropéniques ou traités par LEN. Son efficacité au long cours n'est en effet pas démontrée.

(4) TRAITEMENT D'UNE PANCYTOPÉNIE

Dans certaines myélodysplasies, une prolifération oligoclonale T exerce une activité inhibitrice sur les progéniteurs CFU-GM, réversible après traitement par SAL (sérum anti-lymphocytaire). Les traitements immunosuppresseurs sont utilisés dans certains cas de SMD présentant les caractéristiques suivantes : faible risque (IPSS), moelle osseuse hypo-cellulaire et sans excès de blastes, caryotype normal ou révélant une trisomie 8 isolée, et présence de l'allèle HLA-DR 15 [137]. L'immunosuppression repose sur du SAL (de cheval), associé ou non à la ciclosporine. Ces thérapeutiques immunosuppressives donnent environ 30% d'indépendance transfusionnelle, avec une efficacité supérieure chez les patients HLA-DR 15 (67% de probabilité de réponse), âgés de moins de 60 ans et présentant au moins deux cytopénies.

B) PATIENTS CANDIDATS À L'ALLOGREFFE

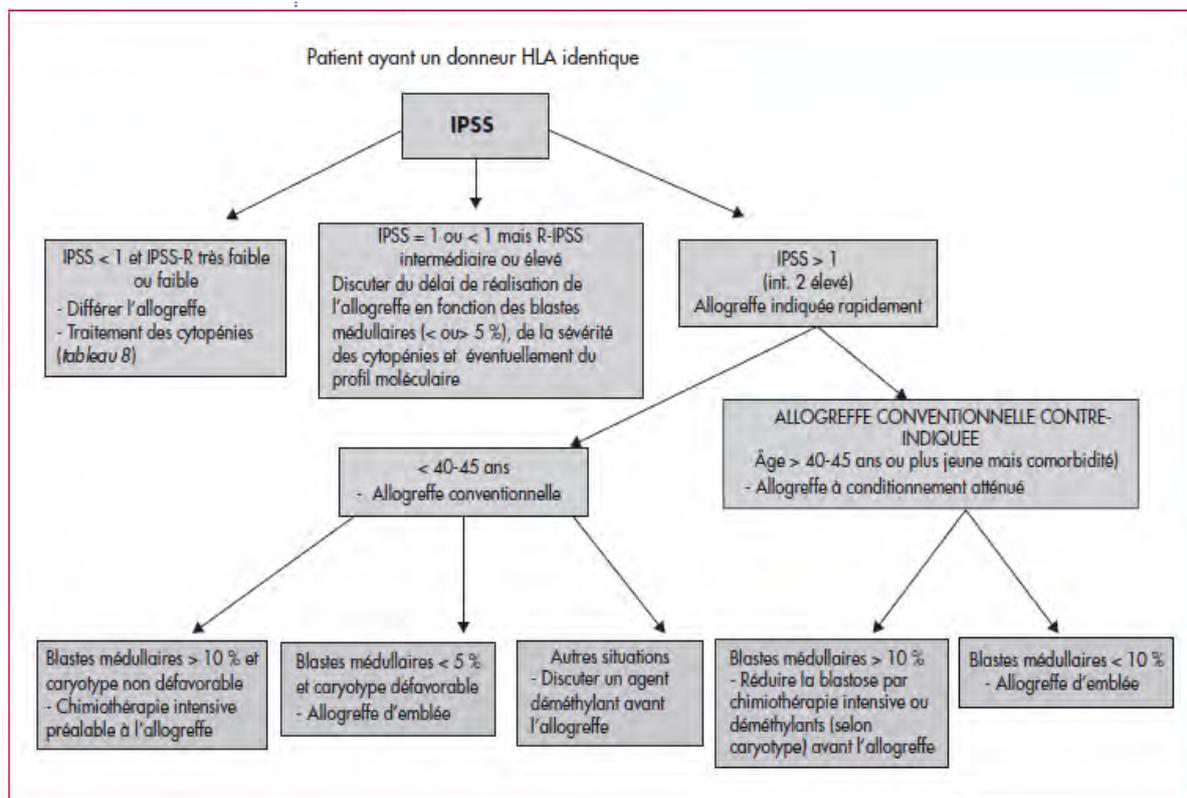


Figure 32 : Traitement des syndromes myélodysplasiques : patients candidats à l’allogreffe, Fenaux P., et al. [15]

L’effet antitumoral de l’allogreffe repose sur la cytotoxicité du conditionnement et sur la réaction immunologique du greffon contre la tumeur (effet GVL *Graft versus leukemia* : greffon contre la leucémie).

L’allogreffe, par rapport aux patients non greffés, apporte un bénéfice en termes de survie chez les patients atteints de SMD de haut risque (IPSS intermédiaire-2 ou élevé) : les survies sans rechute sont de l’ordre de 35%. L’estimation du rapport bénéfice/risque de l’allogreffe est indispensable, du fait des complications létales qu’elle est susceptible d’engendrer. De plus, la mortalité non liée à la greffe varie de 15 à 40% en fonction des caractéristiques du receveur (comorbidités, âge), de la compatibilité HLA avec le donneur et du type de conditionnement. La greffe de CSH soulève donc plusieurs questions :

- Quels patients et quelles myélodysplasies sont concernés par l’allogreffe de CSH ?

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

- Quand effectuer la greffe ?
- Quels traitements en pré-greffe ?
- Quels donneurs ?
- Quel conditionnement ?
- Quelle source de cellules souches ?

- Quels patients et quelles myélodysplasies sont concernés par l'allogreffe de CSH ?

Le SMD doit être de risque suffisamment élevé pour que le rapport bénéfice/risque de cette approche soit en faveur : cette procédure est en effet associée à une mortalité importante liée à sa toxicité (TRM : *Transplant-Related Mortality*). L'âge médian du diagnostic de SMD est aux alentours de 70 ans, âge auquel la mortalité précoce de la greffe liée à la réaction du greffon contre l'hôte (GVH), à la toxicité du conditionnement et aux complications infectieuses est majorée. En pratique, ce sont les myélodysplasies de risque intermédiaire-2 et élevé qui sont concernées en premier lieu par la greffe : les patients âgés de moins de 60 ans voir jusqu'à 70 ans bénéficient d'une allogreffe rapide. De nombreux facteurs limitants limitent toutefois le recours à l'allogreffe : l'âge, la disponibilité d'un donneur, les comorbidités.

Les taux de rechute sont élevés chez les patients présentant des formes agressives, à cytogénétique défavorable et avec un excès de blastes médullaires. Il est admis qu'une blastose médullaire < 10% est préférable en pré-greffe (recommandations ELN), bien qu'aucune étude n'ait démontré qu'une réduction de la blastose apportait un bénéfice au patient. La cytogénétique a un impact majeur sur le résultat de la greffe, avec des taux de rechute allant de 15% (caryotype favorable) à plus de 80% (caryotypes les plus défavorables).

- Quand effectuer la greffe ?

Savoir quand greffer les patients est primordial. Les patients avec un IPSS intermédiaire-2 et élevé doivent être pris en charge rapidement, car le bénéfice de survie est d'autant plus important que la greffe est réalisée rapidement après le diagnostic. L'apparition de cytopénies importantes, une majoration du score IPSS, un échec du traitement (AZA par exemple) et la complexification du caryotype sont des éléments qui motivent le clinicien dans sa décision d'aller ou non à la greffe.

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

Chez les patients de risque IPSS faible, le rapport bénéfice/risque n'est pas en faveur d'une greffe d'emblée. Parmi eux (ceux avec un risque intermédiaire-1), la décision d'allogreffe sera discutée en fonction d'autres facteurs de risque : échec du traitement de première voire de seconde ligne avec risque intermédiaire voire élevé selon l'IPSS-R, myélofibrose de grade ≥ 2 , mutations somatiques défavorables (*ASXL1*, *RUNX1*, *EZH2*), aggravation des cytopénies entraînant une progression du score IPSS, ou encore apparition d'une nouvelle anomalie au caryotype [137].

➤ Quels traitements en pré-greffe ?

Les recommandations actuelles sont de réduire la blastose médullaire à moins de 10% avant l'allogreffe, la survie sans maladie (DFS) et la rechute après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques étant influencées par la blastose médullaire [138]. Pour ces patients avec excès de blastes, deux stratégies sont possibles : la chimiothérapie d'induction, et le recours aux agents hypométhylants.

La chimiothérapie intensive pré-allogreffe constitue la meilleure option dans les formes avec net excès de blastes (SMD-EB-2, blastose médullaire $> 10\%$) et à caryotype normal (taux de RC d'environ 50%). La toxicité et les complications sont à prendre en compte, qu'elles soient létales ou amenant à contre-indiquer la greffe, et la chimiothérapie est donc réservée aux patients de moins de 65 ans.

Les agents hypométhylants sont privilégiés en cas d'excès de blastes plus modéré et de caryotype défavorable (particulièrement les anomalies du chromosome 7 et les caryotypes complexes). La réduction de la blastose est plus lente qu'avec l'utilisation d'une chimiothérapie intensive, mais le recours à cette thérapeutique présente l'avantage d'être moins myélotoxique. Elle peut être réalisée chez les patients de plus de 65 ans.

La greffe d'emblée, sans traitement préalable, constitue une option pour les patients non éligibles à une chimiothérapie ou aux agents hypométhylants. Cette option présente l'avantage d'être moins toxique (les patients arrivent à la greffe en meilleur état général). Elle expose toutefois à un risque de transformation leucémique avant la greffe (qui doit donc être rapide, < 4 mois), et le risque de rechute post-allogreffe est majoré. Si elle peut être réalisée rapidement, l'allogreffe d'emblée constitue aussi une option thérapeutique chez les patients avec une blastose médullaire $< 10\%$, quel que soit le caryotype (Figure 34).

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

Table 2
Patients Who Are Candidates for Allo-SCT: Decision-Making Algorithm Based on Disease Characteristics and Patient Age and Comorbidities

Patient Characteristics	Disease Characteristics		ICT	HMA ^a	Up-Front Allo-SCT
	Marrow Blasts (%)	Cytogenetics ^b			
Age >60 yr and/or comorbidities	Any	Any	Possible ^c	BO	Possible
Age ≤60 yr and no comorbidities	<5	~High risk	NI	BO	Possible
	<5	High risk	NI	Possible	BO ^d
	5-10	~High risk	Possible	BO	Possible
	5-10	High risk	NI	Possible	BO ^d
	>10	~High risk	BO	Possible	Possible
	>10	High risk	Possible	Possible	BO ^d

BO indicates best option; NI, not indicated.
^a As assessed by the International Prognostic Scoring System.
^b Clearly, there are patients in this category who will tolerate ICT and, particularly with high marrow blast counts, might benefit from intensive debulking efforts; these are very individual decisions.
^c If patient can undergo allo-SCT rapidly; currently available data do not provide strong support for chemotherapy debulking in patients with high-risk cytogenetic disease.

Figure 33 : Thérapeutiques possibles en pré-greffe dans les SMD en fonction de l'âge et des comorbidités des patients, Yacoub-Agha I., et al. [139]

➤ Quels donneurs ?

Les donneurs peuvent être génoïdétiques (âge facteur limitant) ou phénoïdétiques (donneur de fichier) et doivent être identifiés rapidement (médiane délais : 6 mois). Les résultats obtenus avec des donneurs non apparentés sont proches de ceux obtenus avec des greffes familiales si la compatibilité est de 10/10. Les résultats de greffes avec des donneurs présentant une disparité HLA sont significativement moins bons (perte de survie de 10% à 20%), et ce quel que soit l'antigène HLA différent. Des études récentes sur les greffes haplo-identiques dans les SMD montrent des résultats encourageants, bien qu'inférieurs à ceux obtenus avec les greffes géno-identiques, mais permettant d'élargir le panel de donneurs potentiels.

➤ Quel conditionnement ?

Le conditionnement est une étape fondamentale dans l'allogreffe de CSH : l'immunosuppression doit être suffisante pour éviter le rejet du greffon, l'effet GVL doit être suffisant pour éradiquer la tumeur et la toxicité tolérable. Plusieurs conditionnements sont utilisés dans la greffe de CSH des myélodysplasies :

- Conditionnement myéloablatif (MAC)
- Conditionnement à intensité réduite (RIC : *Reduced-Intensity Conditioning*)
- Conditionnement séquentiel

Ces trois conditionnements induisent une GVL comparable, le MAC étant le plus actif sur la tumeur mais aussi le plus toxique. Les taux de rechute sont supérieurs chez les patients conditionnés par RIC, tandis que les taux de mortalité non liée à la rechute (NRM) sont diminués. Ces deux types de conditionnement présentent donc des résultats proches en termes

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

de survie sans rechute. Le type de conditionnement est choisi en fonction des comorbidités et de l'âge (indice composite *hematopoietic cell transplantation-comorbidity/age index* : HCT-CI/age). Les patients jeunes et sans comorbidités peuvent donc bénéficier d'un conditionnement myéloablatif. Toutefois, la majorité des candidats à l'allogreffe étant des patients âgés, ils bénéficieront le plus souvent de conditionnement d'intensité réduite.

Les allogreffes à conditionnement séquentiel sont également une option dans les SMD, en combinant une chimiothérapie intensive immédiatement suivie d'un conditionnement d'intensité réduite. Ces programmes séquentiels ont montré des résultats intéressants, notamment chez les patients non éligibles à un conditionnement MAC (survie sans rechute > 40% à 2 ans chez des patients à haut risque).

➤ Quelle source de cellules souches ?

Les cellules souches peuvent être d'origine médullaire ou périphérique via un recueil par cytophérèse. Les greffons obtenus par cytophérèse sont plus riches en lymphocyte T que la moelle osseuse. Il n'y a pas de différence significative en termes de survie (OS à 2 ans : 51% pour les cellules souches périphériques et 46% pour la moelle, $p=0,29$). L'échec de la greffe est significativement plus faible avec les cellules souches périphériques (3% contre 9% respectivement, $p=0,002$), tandis que l'incidence de la GVH chronique à 2 ans est plus faible avec le prélèvement médullaire (41% vs 53%, $p=0,01$). Il n'y a pas de différence en termes d'incidence des rechutes et de GVH aiguë [141]. La prophylaxie de la GVH repose sur du sérum anti-lymphocytaire (de cheval). Les agents déméthylants en traitement de maintenance post-allogreffe sont étudiés, et l'AZA permet de potentialiser l'effet GVL tout en diminuant la GVH.

➤ Rechutes post-allogreffe

Des injections de lymphocytes du donneur peuvent être envisagées en cas de rechute. Les anomalies cytogénétiques ont une forte valeur prédictive de la réussite de l'allogreffe, mais n'entraînent pas de différence significative en termes de mortalité non liée à une rechute de la maladie (NRM : *non-relapse mortality*).

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

Risque cytogénétique (IPSS)	EFS (<i>event-free survival</i>) (IC)	Rechutes
Bon	51% (30%-69%)	19% (6%-49%)
Intermédiaire	40% (16%-63%)	12% (2%-61%)
Mauvais	6% (0%-24%)	82% (48%-99%)

Tableau 43 : Survie sans maladie et rechutes post-allogreffe selon le risque cytogénétique (IPSS), d'après Nevill T.J., et al. [142]

Risque cytogénétique (IPSS-R)	Survie médiane (OS à 4 ans)	Rechutes
Bon	HR : 1	HR : 1
Intermédiaire	HR : 1,34 (0,95-1,87) (<i>p</i> = 0,091)	HR : 0,96 (0,61-1,47) (<i>p</i> = 0,85)
Mauvais	HR : 1,56 (1,10-2,20) (<i>p</i> = 0,012)	HR : 1,82 (1,20-2,72) (<i>p</i> = 0,04)
Très mauvais	HR : 2,67 (1,33-5,35) (<i>p</i> = 0,006)	HR : 2,44 (0,93-5,27) (<i>p</i> = 0,06)

Tableau 44 : Survie médiane et rechutes post-allogreffe selon le risque cytogénétique (IPSS-R), d'après Gauthier J., et al [143]

L'allogreffe de CSH dans les SMD reste réservée à un nombre restreint de patient, bien que la limite d'âge se décale peu à peu avec le recours aux conditionnements atténués et grâce à une meilleure prise en charge des complications post-allogreffe. Dans des conditions « optimales » (patients sans comorbidités, greffés en HLA identiques, caryotype normal), les taux de survie sans rechute dépassent 60%. Des scores ont été développés dans le but de prédire les résultats de la greffe chez les patients avec SMD (notamment le score PAM) [144].

C) PRISE EN CHARGE DES SMD DE HAUT RISQUE EN DEHORS DE L'ALLOGREFFE

IPSS élevé et intermédiaire-2

Médiane de survie : entre 6 mois et 1 an

Objectif du traitement :

- Prolonger l'espérance de vie
- Retarder la transformation en LAM
- Réduire la blastose médullaire

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

Traitement de première ligne (hors allogreffe) :

- Agents hypométhylants
- Chimiothérapie intensive

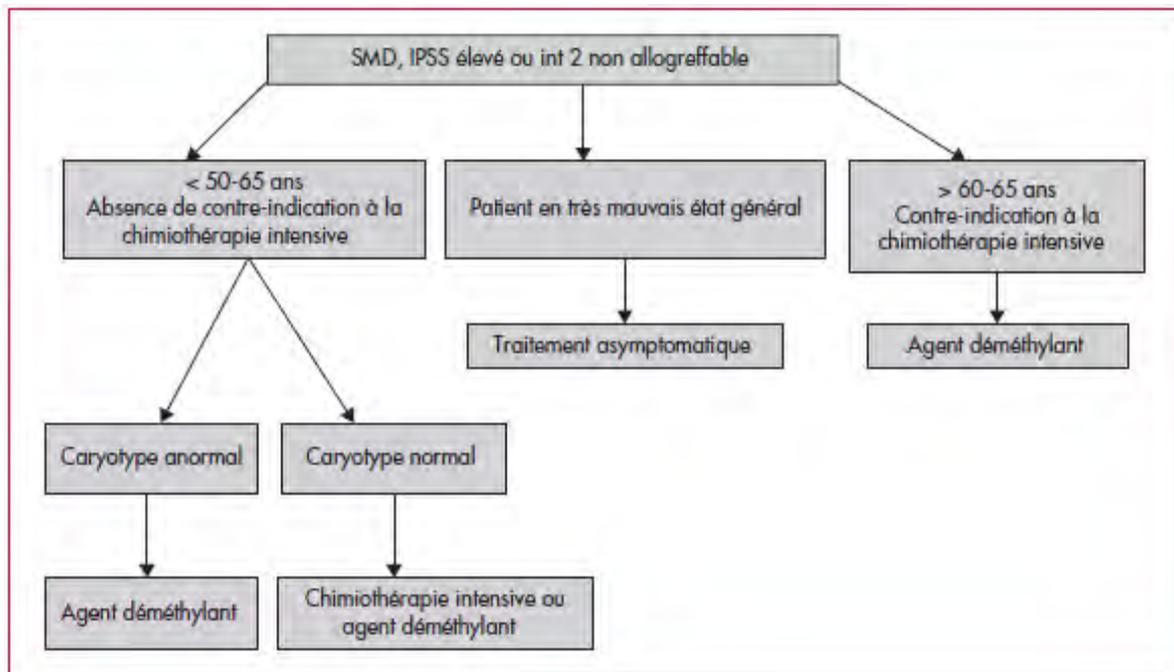


Figure 34 : Traitement des syndromes myélodysplasiques de risque IPSS élevé et intermédiaire-2 non allogreffables, Fenaux P., et al. [15]

La survie des patients avec un SMD de haut risque est de 4 à 21 mois, et le risque de transformation en leucémie aiguë est de 50 à 80% à 2 ans [108]. Les patients atteints d'un SMD de haut risque ont tous une indication à l'allogreffe en première ligne, mais moins de 5% d'entre eux sont réellement greffés [143].

(1) CHIMIOTHÉRAPIE INTENSIVE

L'utilisation de la chimiothérapie intensive en première ligne de traitement, au regard des résultats obtenus avec l'azacitidine (Figure 37), est restreinte aux SMD présentant un excès de blastes médullaires ($\geq 10\%$), en vue d'une allogreffe (patients de moins de 60-65 ans) afin de réduire rapidement la blastose [145]. Elle peut être privilégiée dans les formes d'évolution rapide (où les cytopénies et/ou la blastose progressent rapidement) et dans les myélodysplasies avec excès de blastes (SMD-EB-2) survenant chez des sujets jeunes, à caryotype normal (une cytogénétique défavorable est associée à une chimiorésistance importante), voire avec présence de corps d'Auer dans les blastes. La présence de mutations

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

de type LAM (*NPM1*, *FLT3-ITD*) peut également amener à considérer l'hémopathie comme une LAM débutante, et donc d'entamer une chimiothérapie intensive de type LAM.

C'est l'association anthracyclines-cytarabine (Ara-C) qui est privilégiée dans les myélodysplasies, aucune autre association n'ayant démontrée une supériorité [145]. Il n'y a, à ce jour, pas de consensus sur le moment auquel débiter la chimiothérapie chez le sujet jeune (au diagnostic ? lors de la transformation leucémique ?).

La chimiothérapie intensive donne de 40 à 60% de rémission complète, mais la médiane de durée de cette RC est relativement courte (de l'ordre de dix à douze mois), et moins de 10% de rémissions très prolongées sont constatées. Ces résultats ne sont obtenus que chez des patients de moins de 60-65 ans.

(2) AGENTS HYPOMÉTHYLANTS

Molécules disponibles :

- Azacitidine (Vidaza[®]) : AMM en Europe
- Decitabine (Dacogen[®]) : pas d'AMM en Europe

Mécanisme d'action : agent hypométhylant, antimétabolite, analogue pyrimidique.

Posologie (Vidaza[®]) : 75 mg/m²/j en SC, sept jours toutes les quatre semaines

Effets indésirables : cytopénies, complications infectieuses, réactions au point d'injection fréquentes

Les premières utilisations de l'azacitidine (AZA) dans les myélodysplasies datent des années 70 (à doses cytotoxiques, alors que son effet hypométhylant est obtenu à faible dose) [146]. L'AZA dispose d'une AMM depuis 2008 et est le seul médicament enregistré pour le traitement de première ligne des myélodysplasies à haut risque chez les patients non éligibles à une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques.

La méthylation de l'ADN au niveau des régions promotrices (îlots CpG) induit une répression transcriptionnelle des gènes situés en aval. Parmi ces gènes réprimés, il y a des gènes suppresseurs de tumeurs et cette hyperméthylation peut donc jouer un rôle dans l'oncogénèse et la progression tumorale.

L'AZA est un analogue pyrimidique, activée au niveau intracellulaire en sa forme triphosphatée (par l'uridine-cytidine kinase, UCK). L'AZA est convertie, au niveau intracellulaire en decitabine (5-aza-2'-deoxycytidine) puis est incorporée à la place d'une

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

cytosine dans le brin d'ADN néosynthétisé (en phase S). La majorité de l'AZA (80-90%) est incorporée dans l'ARN (Figure 35).

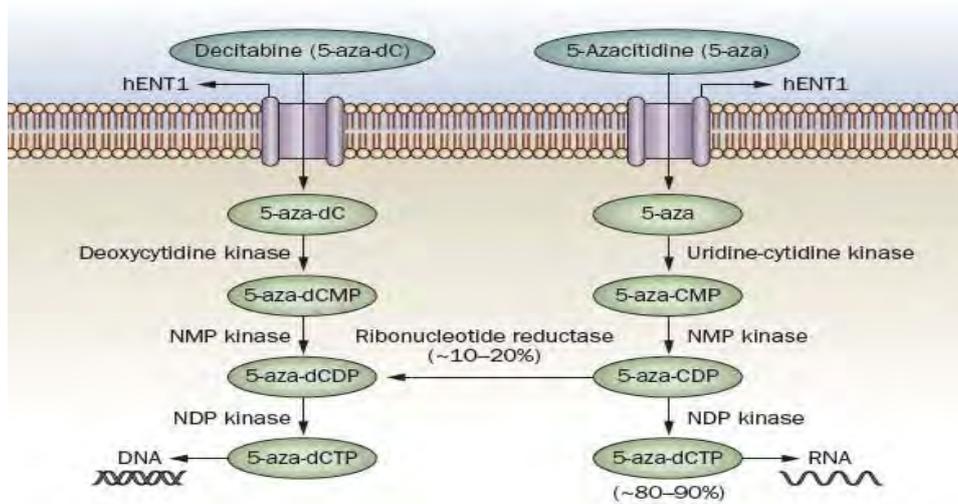


Figure 35 : Voies d'activation intracellulaire de la Decitabine et de l'Azacitidine [147]

Les DNMTs (DNA méthyltransferases) catalysent la méthylation de la cytosine (en position 5). L'AZA forme des liaisons covalentes avec les DNMTs et agit comme un inhibiteur direct et irréversible. En inhibant les DNMTs, l'AZA déméthyle les régions d'ADN anormalement hyperméthylées (déméthylation des *Differentially Methylated Regions*) et induit une réexpression des gènes réprimés (Figure 36), mais pas d'éradication des cellules souches de SMD.

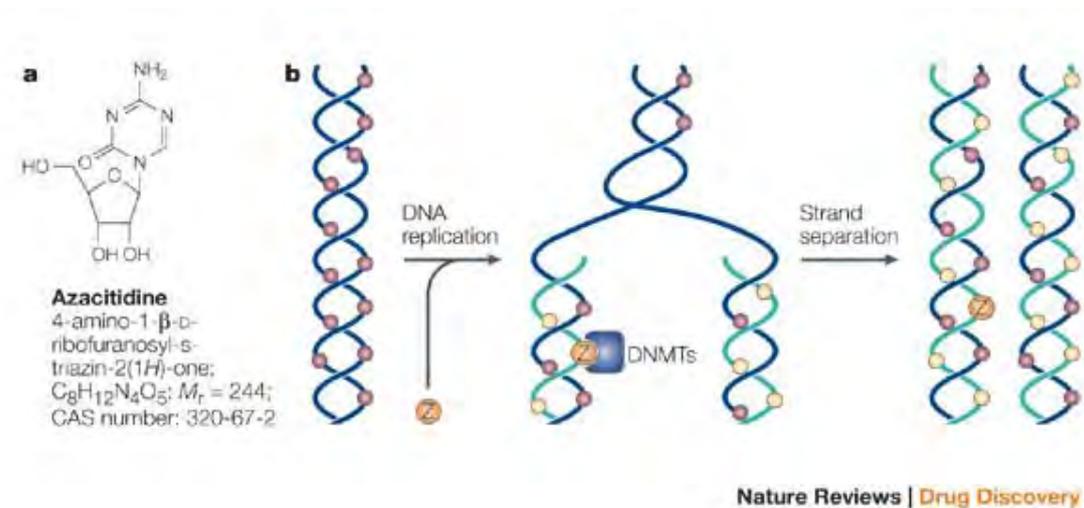


Figure 36 : Structure et mécanisme d'action de l'Azacitidine (Vidaza[®]), Issa J.P., et al. [148]

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

L’AZA est administrée selon un schéma de 7 injections par mois. Pour des raisons pratiques (pas d’injections les week-ends), un schéma d’administration de J1 à J5, puis à J8 et à J9 est plus le souvent réalisé en hôpital de jour d’hématologie.

Une réponse retardée à l’AZA est fréquente : les réponses sont le plus souvent observées après trois ou quatre cycles, voire 6 cycles. Il ne faut donc pas conclure à un échec avant le sixième cycle de traitement (sauf si progression franche ou transformation leucémique).

L’AZA induit 50 à 60% de réponse, dont 10-20% de rémission complète (CR), 10-20% de rémission partielle (PR) et surtout des “améliorations hématologiques“ (HI). Ces améliorations hématologiques correspondent à la correction d’une ou plusieurs cytopénies en l’absence de critères de CR ou PR [149]. Ce traitement n’induit pas ou peu de rémission, et la réduction de la blastose médullaire est modeste.

L’AZA prolonge la survie globale (OS) par rapport aux traitements conventionnels y compris dans les AREB-t. Dans l’étude randomisée AZA-001 du GFM (essai de phase III randomisé) qui comparait l’AZA au meilleur traitement choisi par l’investigateur (dans les SMD de haut risque et les LAM de moins de 30% de blastes), l’AZA confère un bénéfice en termes de survie : la différence entre le bras AZA (75 mg/m²/jour, 7/28 jours) et le groupe contrôle (Ara-C à faible dose/Soins de support/chimiothérapie intensive) est de 9,4 mois (p=0,0001) (Tableau 45) (Figure 37) [150].

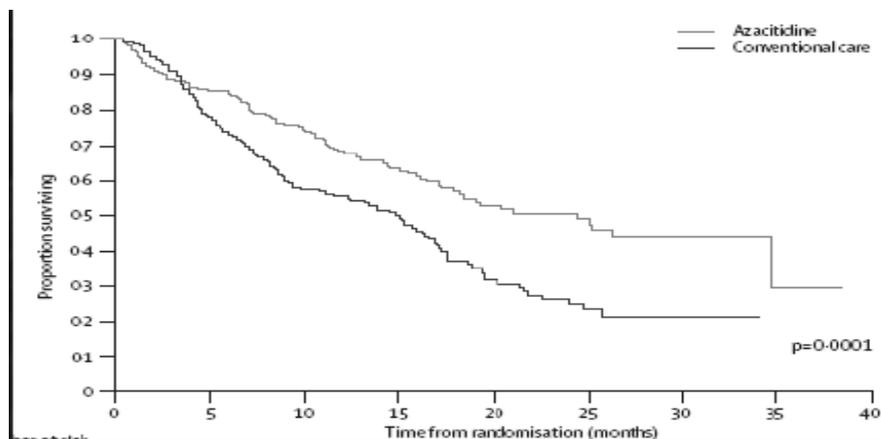


Figure 37 : Etude randomisée AZA-001 comparant la survie dans le bras Azacitidine vs traitements classiques, Fenaux P., et al. [150]

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

Traitement	Survie médiane (mois)	Survie globale à 2 ans (%)
AZA	24,4	50,8
Traitement conventionnel (Soins de support / LD AraC/Chimiothérapie intensive)	15	26,2

Tableau 45 : Comparaison de la survie médiane et de la survie globale à 2 ans en fonction du traitement, d'après Fenaux P., et al. [150]

Dans le bras AZA, une rémission est constatée dans 29% des cas ($p < 0,0001$), dont une rémission complète dans 17% des cas ($p = 0,015$), et une rémission partielle dans 12% des cas ($p = 0,0094$). L'amélioration hématologique (HI) concerne plus particulièrement les lignées érythroïde (40%, $p < 0,0001$) et plaquettaire (33%, $p = 0,0003$), l'amélioration majeure sur les neutrophiles étant plus modeste et non significative comparée à l'autre bras (19%, $p = 0,87$). La durée des réponses (CR + PR + HI) est de 14 mois.

Les taux de réponse sont donc relativement modestes. La majorité des réponses correspondent à une amélioration des cytopénies, qui semble associée à un gain en termes de survie [150].

Certains facteurs sont prédictifs de la réponse à l'AZA [151] :

Facteurs influençant la réponse à l'AZA	
Facteurs associés à un taux plus faible de réponse (analyse multivariée)	<ul style="list-style-type: none"> • Cure d'Ara-C à faible dose précédent le traitement par AZA ($p = 0,009$) • Blastose médullaire $> 15\%$ ($p = 0,004$) • Caryotype anormal ($p = 0,03$)
Facteurs associés à une médiane de survie (OS) plus courte (* : analyse multivariée)	<ul style="list-style-type: none"> • Performance status ≥ 2 ($p < 10^{-4}$)* • Cytogénétique de pronostic intermédiaire et mauvais ($p < 10^{-4}$)* • Présence de blastes circulants ($p < 10^{-4}$)* • Besoins transfusionnels (RBC) ≥ 4 unités/8 semaines à l'inclusion ($p < 10^{-4}$)* • IPSS élevé ($p = 0,004$) • SMD secondaire ($p = 0,001$) • Plaq < 100 G/L ($p = 0,02$)

Tableau 46 : Facteurs prédictifs de réponse à l'Azacitidine, d'après Itzykson R., et al. [151]

Certaines mutations (*TET2*, *DNMT3A*) semblent également prédictives de la réponse [152]. L'obtention d'une amélioration hématologique (HI) chez les patients n'ayant pas atteint une

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

CR ou PR est associée avec une amélioration significative de la survie ($p < 10^{-4}$). Les patients avec del(5q) et trisomie 8 présentent de meilleurs taux de réponses complètes [153].

Il est recommandé de traiter les patients par AZA jusqu'à progression pour ceux qui sont non greffables : la déméthylation est rapidement réversible, et les rechutes peuvent être rapides à l'arrêt. Ce traitement peut également constituer un "pont" pour aller à la greffe pour les patients éligibles (le temps de trouver un donneur). Il n'y a pas de limite d'âge à son utilisation (pas de différence significative en termes de survie chez les patients de plus de 80 ans par rapport aux patients de moins de 80 ans). Les effets indésirables ne nécessitent pas, dans la majorité des cas, un arrêt précoce du traitement. Des soins de support au cours des premiers cycles permettent d'en limiter les conséquences pour les patients.

La décitabine (DEC), autre agent hypométhylant, a été comparée au best supportive care [154] : dans une population comptant 70% de patients avec IPSS intermédiaire-2 ou élevé, la médiane de survie n'est pas significativement différente (14 mois contre 14,9 mois, $p = 0,636$). Cette molécule n'a pas d'AMM en France.

Près de 40% des patients sont réfractaires à l'AZA, et de nombreux patients répondeurs rechuteront. Après échec, la médiane de survie chute à 5,6 mois, avec une survie à 2 ans de 15% [155]. Actuellement, la prise en charge de ces patients dépend du performance status et des comorbidités, des éventuelles mutations et des traitements précédemment reçus. Un certain nombre de ces patients est candidat à l'allogreffe (avec ou sans chimiothérapie d'induction selon la blastose médullaire). Pour les autres, l'inclusion dans des essais cliniques est privilégiée (survie médiane : 13 mois), les soins de support étant réservés aux patients non éligibles (survie : 3 mois). Il y a donc une nécessité à trouver de nouvelles stratégies thérapeutiques de seconde ligne dans la prise en charge des myélodysplasies de haut risque après échec du Vidaza®.

(3) NOUVELLES MOLÉCULES DANS LE TRAITEMENT DES SMD DE HAUT RISQUE

Des essais testant de nouvelles molécules dans les SMD de haut risque sont en cours, en première ligne de traitement ou à la rechute, en association avec l'AZA ou en monothérapie.

La guadecitabine (SGI-110) est un agent hypométhylant, prodrogue de la décitabine. Son effet déméthylant serait plus efficace. Il est actuellement en étude de phase 3 dans les SMD, après échec de l'AZA. Une forme orale de l'AZA et des modifications de ses schémas

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

d'administration sont étudiées, afin d'allonger la durée d'exposition des cellules aux hypométhylants. Des inhibiteurs de CDA (cytidine deaminase, enzyme responsable de la désamination de l'AZA et dont une augmentation de l'activité est susceptible de diminuer la demi-vie des hypométhylants dans le plasma) sont également étudiés.

Les inhibiteurs d'HDAC (HDACi : inhibiteurs d'histones désacétylases) pourraient renforcer l'effet des hypométhylants sur la régulation épigénétique. L'acétylation des histones est impliquée dans l'activation transcriptionnelle tandis que la désacétylation est associée à la répression génique. La régulation de cette acétylation se fait via les histones acétyltransférases (HAT) et les histones désacétylases (HDAC) : les HAT permettent de rendre la chromatine accessible à la transcription, les HDAC compactent la chromatine en la désacétylant. Des anomalies des HDAC sont présentes dans les cellules tumorales et constituent donc une cible thérapeutique potentielle. Les HDACi induisent l'acétylation des histones et de protéines non histones (comme les facteurs de transcription), restaurent la transcription de gènes suppresseurs de tumeurs, provoquent un arrêt du cycle cellulaire et activent les voies d'apoptose. La romidepsine est utilisée dans le traitement des lymphomes T périphériques. Ils sont étudiés (phase 1 et 2) dans le traitement des myéلودysplasies (et des LAM) en association avec une seconde molécule (AZA le plus souvent). Citons parmi ces inhibiteurs d'HDAC : le vorinostat, l'entinostat et le valproate. Cette dernière molécule, utilisée depuis plusieurs décennies dans le traitement des épilepsies, est étudiée dans l'essai AZA-PLUS du GFM. Cet essai étudie des combinaisons en première ligne de traitement pour les myéلودysplasies afin d'améliorer les réponses obtenues avec l'Azacitidine : AZA + valproate, AZA + idarubicine et AZA + LEN.

Le rigosertib, un inhibiteur « multikinase » (*polo-like kinase-1* et PI3K : phosphatidylinositol 3-kinase) a été évalué dans une étude de phase 3 (ONTIME), en ne montrant pas d'amélioration significative de la médiane de survie comparé au bras témoin (BSC). Il pourrait toutefois apporter un bénéfice en termes de survie chez les patients avec échec primaire aux agents hypométhylants (ou pour ceux ayant reçu moins de neuf mois de traitement) (étude INSPIRE).

La voie de BCL-2 est également une cible potentielle (inhibiteurs de BCL-2 : ABT-737, ABT-199).

La détermination du statut mutationnel des patients devrait prendre une place majeure dans les prochaines années, avec l'avènement des thérapies ciblées. La présence d'une mutation de

TET2 accroît la probabilité de réponse aux hypométhylants [156]. L'AG-120 et l'AG-221 sont des inhibiteurs oraux d'*IDH1* et d'*IDH2* mutés (respectivement). Une mutation du gène *IDH2* est retrouvée dans 5% des SMD (15% des LAM) et entraîne une augmentation intracellulaire de l'oncométabolite 2-HG, responsable d'un blocage de la maturation. Toutefois, la présence de plusieurs clones ou sous-clones leucémiques dans les SMD avec des statuts mutationnels potentiellement différents, pourrait influencer sur l'efficacité de ces thérapies ciblées.

L'immunothérapie est également une piste envisagée dans le traitement des SMD. Les inhibiteurs de *checkpoint* immunologique (inhibiteurs de point de contrôle immunitaire), notamment l'axe PD1/PD-L1, pourraient constituer une piste thérapeutique. Une surexpression des gènes impliqués dans la modulation de ces *checkpoints* immunitaires a été retrouvée chez 124 patients résistants aux hypométhylants, suggérant un rôle de PD-L1 dans la pathogénie des SMD [157]. L'utilisation des inhibiteurs de *checkpoints* dans le but de modifier la réponse immunitaire de l'hôte vis-à-vis des cellules tumorales est une stratégie intéressante dans la mesure où la tolérance immunitaire a des implications majeures dans la persistance du SMD. L'adjonction d'inhibiteurs de *checkpoints* (nivolumab, inhibiteur de PD1 ; ipilimumab, inhibiteur CTLA-4) aux agents hypométhylants est en cours d'essai.

D) TRAITEMENTS SYMPTOMATIQUES

Les transfusions érythrocytaires, plaquettaires et la prophylaxie des infections occupent toujours une place importante dans la prise en charge des SMD.

(1) TRANSFUSIONS ÉRYTHROCYTAIRES

Les transfusions sont plus fréquentes chez les sujets âgés qui ont une tolérance médiocre de l'anémie. Le seuil critique est fixé à 8 g/dL, seuil pouvant être plus élevé chez les patients de 65 ans et plus (9 à 10 g/dL). Les transfusions sont à envisager sur le long terme, et il est nécessaire de réaliser un phénotypage érythrocytaire étendu (Rh, Kell, FY1, JK1, MNS3 et MNS4). L'objectif est de maintenir un taux d'Hb aux alentours de 11 g/dL.

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

(2) TRANSFUSIONS PLAQUETTAIRES

Du fait du risque d'allo-immunisation et donc de perte d'efficacité, les indications des transfusions plaquettaires sont limitées (geste opératoire, syndrome hémorragique, traitement myélosuppresseur). Des recommandations de la HAS, de l'ANSM et de la SFH ont été établies quant aux seuils à considérer pour les transfusions prophylactiques chez les patients recevant un traitement thrombopéniant (agents hypométhylants, LEN, chimiothérapie, conditionnement d'allogreffe).

(3) PROPHYLAXIE ET TRAITEMENTS DES INFECTIONS

Il est recommandé pour les patients avec neutropénie (spontanée ou induite par le traitement) de disposer d'antibiotiques à large spectre afin d'en faire usage en cas de fièvre. L'association de l'amoxicilline-acide clavulanique et d'une fluoroquinolone (ciprofloxacine) est la plus fréquente bien qu'aucune association n'ait été testée de façon prospective dans les SMD.

(4) TRAITEMENT CHÉLATEUR DU FER

Les conséquences cliniques d'une surcharge ferrique secondaire aux transfusions itératives (discutées à l'heure actuelle) sont liées à une accumulation au niveau hépatique, cardiaque (insuffisance cardiaque gauche) et pancréatique (diabète). Ce fer présent en excès entraîne la génération de ROS (substances réactives de l'oxygène) et une altération de l'ADN, les complications survenant en 4 ans. La ferritine peut être augmentée avant la mise en place du traitement (liée à l'inflammation, au relargage mitochondrial). Le risque d'hémochromatose associé aux transfusions survient chez près de 30% des patients porteurs d'une myélodysplasie. Cette surcharge en fer est associée à un plus grand risque de transformation leucémique.

Environ un tiers des patients ont un traitement chélateur, et deux molécules chélatrices disposent d'une AMM :

- Déférasirox (Exjade®), administrée par voie orale. C'est le traitement chélateur le plus fréquemment prescrit. La posologie recommandée à l'initiation est de 20 à 40 mg/Kg/jour. De nombreux effets indésirables sont associés à son utilisation : ballonnements, douleurs abdominales, insuffisance rénale nécessitant une surveillance régulière.

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

- Déféroxamine (Desferal[®]), administrée par voie sous-cutanée (en nocturne, continue sur 8 à 12 heures par le biais d'un perfuseur portable). La posologie est de 40 mg/Kg, trois à sept jours par semaine. Un suivi médical rigoureux est nécessaire (recherche de rétinopathie, de troubles de l'audition).

Les patients chélatés sont ceux avec un SMD de faible risque (IPSS faible ou intermédiaire-1), sans comorbidités associées et nécessitant un rythme transfusionnel important (> 4 culots/mois). Pour les patients avec un SMD de risque plus élevé, une chélation peut être discutée si un traitement par agent hypométhylant est envisagé.

Chez les patients allogreffés, une surcharge martiale (ferritinémie > 1000 ng/mL) est associée à une survie réduite, provoquée par un accroissement de la mortalité liée à la greffe. La surcharge en fer, si elle est présente, doit être réduite chez les patients candidats à l'allogreffe. En pratique, chez tous les patients atteints de myélodysplasie âgés de moins de 65 à 70 ans et sans contre-indication évidente à la greffe, la chélation est débutée lorsque la ferritinémie dépasse 1000 ng/mL ou si le patient a reçu vingt à trente concentrés érythrocytaires [15].

E) CRITÈRES DE RÉPONSE

Il est indispensable pour le clinicien d'évaluer la réponse au traitement. Celle-ci est évaluée, dans les SMD, par l'IWG version 2006 (Figure 38) [158]. La première classification IWG 2000 définissait quatre types de réponse au traitement : "l'altération de l'histoire naturelle de la maladie", la réponse cytogénétique, l'amélioration hématologique et la qualité de vie (QOL) [159]. La version 2006 apporte des modifications en prenant en compte les nouvelles données et avancées.

LES SYNDROMES MYELOYDYSPLASIQUES

Table 3. Proposed modified International Working Group response criteria for altering natural history of MDS⁷

Category	Response criteria (responses must last at least 4 wk)
Complete remission	Bone marrow: \leq 5% myeloblasts with normal maturation of all cell lines* Persistent dysplasia will be noted*† Peripheral blood‡ Hgb \geq 11 g/dL Platelets \geq $100 \times 10^9/L$ Neutrophils \geq $1.0 \times 10^9/L$ † Blasts 0%
Partial remission	All CR criteria if abnormal before treatment except: Bone marrow blasts decreased by \geq 50% over pretreatment but still $>$ 5% Cellularity and morphology not relevant
Marrow CR†	Bone marrow: \leq 5% myeloblasts and decrease by \geq 50% over pretreatment† Peripheral blood: if HI responses, they will be noted in addition to marrow CR†
Stable disease	Failure to achieve at least PR, but no evidence of progression for $>$ 8 wks
Failure	Death during treatment or disease progression characterized by worsening of cytopenias, increase in percentage of bone marrow blasts, or progression to a more advanced MDS FAB subtype than pretreatment
Relapse after CR or PR	At least 1 of the following: Return to pretreatment bone marrow blast percentage Decrement of \geq 50% from maximum remission/response levels in granulocytes or platelets Reduction in Hgb concentration by \geq 1.5 g/dL or transfusion dependence
Cytogenetic response	Complete Disappearance of the chromosomal abnormality without appearance of new ones Partial At least 50% reduction of the chromosomal abnormality
Disease progression	For patients with: Less than 5% blasts: \geq 50% increase in blasts to $>$ 5% blasts 5%-10% blasts: \geq 50% increase to $>$ 10% blasts 10%-20% blasts: \geq 50% increase to $>$ 20% blasts 20%-30% blasts: \geq 50% increase to $>$ 30% blasts Any of the following: At least 50% decrement from maximum remission/response in granulocytes or platelets Reduction in Hgb by \geq 2 g/dL Transfusion dependence
Survival	Endpoints: Overall: death from any cause Event free: failure or death from any cause PFS: disease progression or death from MDS DFS: time to relapse Cause-specific death: death related to MDS

Table 4. Proposed modified International Working Group response criteria for hematologic improvement⁷

Hematologic improvement*	Response criteria (responses must last at least 8 wk)†
Erythroid response (pretreatment, $<$ 11 g/dL)	Hgb increase by \geq 1.5 g/dL Relevant reduction of units of RBC transfusions by an absolute number of at least 4 RBC transfusions/8 wk compared with the pretreatment transfusion number in the previous 8 wk. Only RBC transfusions given for a Hgb of \leq 9.0 g/dL pretreatment will count in the RBC transfusion response evaluation†
Platelet response (pretreatment, $<$ $100 \times 10^9/L$)	Absolute increase of \geq $30 \times 10^9/L$ for patients starting with $>$ $20 \times 10^9/L$ platelets Increase from $<$ $20 \times 10^9/L$ to $>$ $20 \times 10^9/L$ and by at least 100%†
Neutrophil response (pretreatment, $<$ $1.0 \times 10^9/L$)	At least 100% increase and an absolute increase $>$ $0.5 \times 10^9/L$ †
Progression or relapse after HI‡	At least 1 of the following: At least 50% decrement from maximum response levels in granulocytes or platelets Reduction in Hgb by \geq 1.5 g/dL Transfusion dependence

Figure 38 : Critères de réponse IWG-2006, Cheson B.D., et al. [158]

II ANALYSEUR EN HEMATOLOGIE CELLULAIRE

II.1. INTRODUCTION

L'hémogramme est aujourd'hui réalisé par des automates d'hématologie cellulaire. Le premier automate d'hématologie créé pour la réalisation d'hémogrammes automatisés a été conçu dans les années 1950. Sa technologie était basée sur le principe mis au point par Wallace Coulter permettant le comptage des éléments figurés du sang [160]. En un demi-siècle, les évolutions technologiques ont permis d'améliorer ces analyseurs, qui diffèrent selon les fournisseurs par leurs principes d'analyse et leurs cadences. La société Sysmex® (Kobe, Japon) a développé son premier automate d'hématologie cellulaire en 1968.

Les automates dédiés à l'hématologie cellulaire occupent une place majeure et incontournable dans les laboratoires d'hématologie et constituent des outils indispensables permettant aux biologistes de rendre des résultats avec une bonne précision et rapidement pour les hémogrammes dits normaux ou présentant des variations qualitatives et/ou quantitatives modérées.

Bien qu'ils soient performants, il est important de connaître les limites de ces automates d'hématologie cellulaire. En effet, la détection de cellules anormales n'est pas infaillible, tout comme l'exactitude de mesure sur des NFS fortement perturbées : plus l'hémogramme s'éloigne de la normalité, plus les résultats rendus par les automates doivent être traités avec attention. Des résultats erronés peuvent être constatés dans diverses circonstances, d'origine pré-analytique (qualité de l'échantillon sanguin) ou analytique (perturbations des mesures). Il est donc fondamental de connaître d'une part les limites de l'automate utilisé, et d'autre part les mesures correctives à appliquer pour assurer un rendu qualitatif de résultat.

Les analyseurs d'hématologie cellulaire sont capables d'émettre des messages d'alerte lorsque des anomalies qualitatives et/ou quantitatives sont détectées. La réalisation d'un frottis sanguin est alors indispensable, afin de réaliser une lecture en microscopie optique et d'apporter d'éventuelles corrections dans le but de transmettre au clinicien un résultat juste. L'ISLH (*International Society for Laboratory Hematology*) et le GFHC ont défini les situations dans lesquelles une relecture du frottis sanguin en microscopie optique est nécessaire.

Les analyseurs de dernière génération disposent de paramètres innovants permettant d'élargir le champ des possibilités diagnostiques à partir d'un échantillon sanguin : détermination du

caractère central ou périphérique des thrombopénies, distinction des infections virales des infections bactériennes chez l'enfant [161], ou encore la mise en évidence d'une dégranulation des polynucléaires neutrophiles, élément utile dans la démarche diagnostique des SMD au laboratoire.

II.2. PLACE DE L'ANALYSEUR SYSMEX XN-10[®] EN HÉMATOLOGIE CELLULAIRE

La société SYSMEX[®] est aujourd'hui le principal fournisseur d'analyseurs d'hématologie cellulaire en France, avec plus de 70% des parts de marché, aussi bien pour les laboratoires hospitaliers que privés. A l'échelle mondiale, la société SYSMEX[®] est également leader, avec 44% de parts de marché, suivi par les sociétés Beckman/Coulter[®] (19%), Horiba[®] (9%), Siemens[®] (8%), Abbott[®] et Roche[®] (6%).

II.3. ANALYSEURS D'HÉMATOLOGIE CELLULAIRE ET SMD

Sur les automates SYSMEX[®], de nombreuses études se sont intéressées aux paramètres permettant d'apporter une aide au diagnostic des syndromes myélodysplasiques, le plus étudié étant l'indice NEUT-X pour la gamme d'automate XE [162] [163] [164].

Cet indice, qui renseigne sur la granulosité des polynucléaires neutrophiles, est intéressant dans la mesure où la dysmyélopoïèse à type d'hypogranulation ou de dégranulation des PNN est fréquente dans les myélodysplasies et constitue une des anomalies morphologiques aisément évaluable. Ce paramètre constitue ainsi un paramètre utile dans le diagnostic des SMD dans les laboratoires d'hématologie. En pratique, un NEUT-X bas associé à une (ou plusieurs) cytopénie chez un sujet âgé, et notamment une anémie, doit faire étudier le frottis sanguin avec attention afin de rechercher des signes de dysplasie et alerter le clinicien.

L'étude de Le Roux et al. s'est intéressée à l'hémogramme de 184 patients (dont le diagnostic de SMD est affirmé par l'hémogramme, le myélogramme et la cytogénétique avec caryotype médullaire réalisé pour chacun des 184 diagnostics) analysés sur SYSMEX XE2100[®] [162]. La population d'intérêt était définie par des cut-offs pour les cytopénies et la macrocytose (Hb < 11 g/dL, Plaq < 120 G/L, PNN < 1,5 G/L et VGM > 110 fL), et par des paramètres

structuraux et de maturation des PNN : le NEUT-X et le NEUT-Y [165]. Le NEUT-X est corrélé avec l'hypogranularité des PNN (comparaison de l'indice NEUT-X avec une évaluation semi-quantitative de la granulosité sur le frottis sanguin : $r^2 = 0,8669$). LE NEUT-X est ensuite convertie en un paramètre semi-quantitatif : l'indice de granulosité GI (Figure 39).

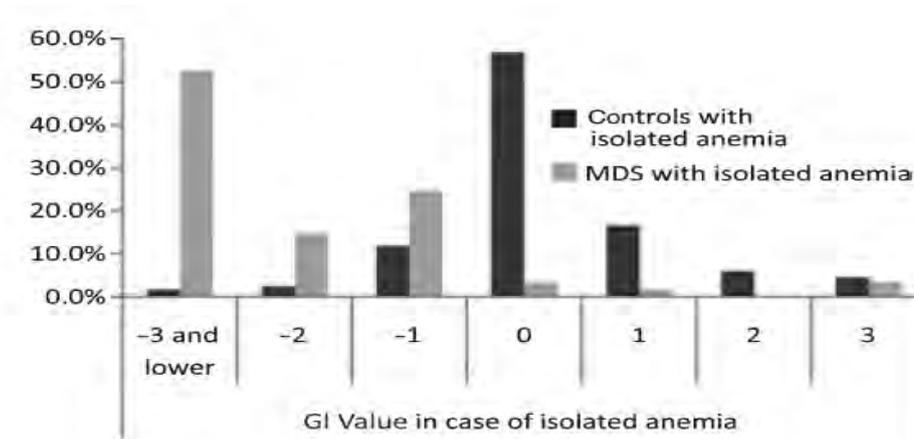


Figure 39 : Comparaison de l'indice GI entre patients avec anémie isolée et patients avec anémie dans le cadre d'un SMD, Le Roux G., et al. [162]

Ce paramètre peut donc constituer une alerte dans le cadre d'une anémie : un GI négatif en présence d'anémie est très évocateur de SMD et doit faire étudier le frottis sanguin en microscopie optique et éventuellement conseiller la réalisation d'une ponction-aspiration médullaire. A contrario, une anémie isolée associée à un $GI > -1$ rend le diagnostic de SMD improbable.

Cette étude démontre l'intérêt des analyseurs d'hématologie cellulaire quant à l'aide diagnostique qu'ils sont susceptibles d'apporter dans les SMD. Le développement d'une nouvelle génération d'automates et les améliorations technologiques associées, notamment chez SYSMEX[®], nous ont encouragés à étudier cette problématique [166].

II.4. CARACTÉRISTIQUES DE L'AUTOMATE SYSMEX XN-10[®]

L'analyseur XN-10[®] est susceptible de réaliser jusqu'à 150 NFS par heure. Au CHU de Nantes, c'est en moyenne 700 NFS qui sont analysées chaque jour : 1000 le lundi, 800 les autres jours de la semaine et environ 400 le week-end.

II.5. PRINCIPES DE MESURE DU XN-10[®] ET APPLICATIONS

A) PRINCIPES

(1) IMPÉDANCE

Paramètres mesurés par cette technique : Globules Rouges, Plaquettes, Leucocytes

Les analyseurs Sysmex[®] utilisent l'impédance électrique combinée à la technique de focalisation hydrodynamique, après dilution iso-osmotique (Figure 40).

L'impédance électrique est basée sur les travaux de Coulter dans les années 50 qui a étudié la résistivité des particules [160]. L'impédance à volume fixe calibré et connu (9,3 μ L) permet de compter les cellules à travers un micro-orifice de comptage, dont le diamètre est calibré (Figure 41). Cet orifice de comptage est situé entre deux électrodes traversées par un courant électrique continu (DC) afin d'obtenir des impulsions électriques proportionnelles au volume des cellules sanguines qui le traversent : le passage de chaque élément à travers l'orifice de comptage induit une interruption du courant électrique, interruption dont la durée est proportionnelle au volume de chaque particule.

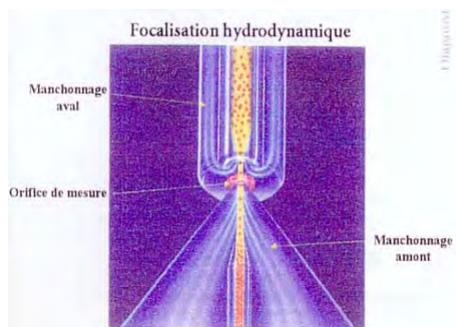


Figure 40 : Principe de la focalisation hydrodynamique

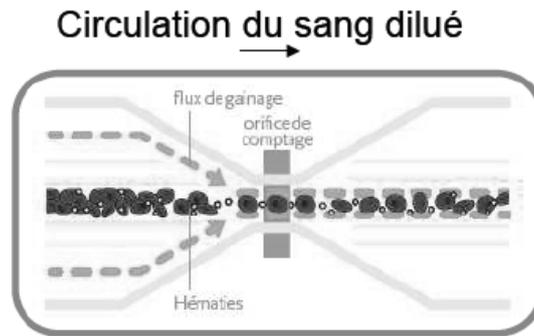


Figure 41 : Principe de l'impédance électrique <http://www.sysmex-europe.com>

La focalisation hydrodynamique en amont et en aval de la zone de mesure permet d'assurer une bonne précision, via l'injection d'un liquide de gainage permettant de focaliser le chemin de la particule passant à travers l'orifice. L'injection du liquide de gainage permet l'unicité des passages (pas de recirculation des éléments), un centrage des cellules (pas d'effet de bord), ainsi qu'une minimisation de la déformation cellulaire. Sans ce liquide de gainage, les particules ayant passé l'orifice de comptage risqueraient de "tourbillonner" en sortie, ce qui induirait une seconde impulsion électrique et donc une mesure erronée.

Chaque élément figuré du sang qui traverse l'orifice de comptage va donc induire une augmentation d'impédance. Les données électriques sont converties en "pics", puis sont classées pour obtenir des histogrammes, représentant la distribution des volumes. Les courbes de distribution sont construites simultanément, chaque impulsion étant rapportée à un élément en fonction de son volume (Figure 42). Un seuil minimal de discrimination sépare les impulsions liées aux cellules des impulsions non spécifiques (élimination du bruit de fond, pour des volumes < 2fL).

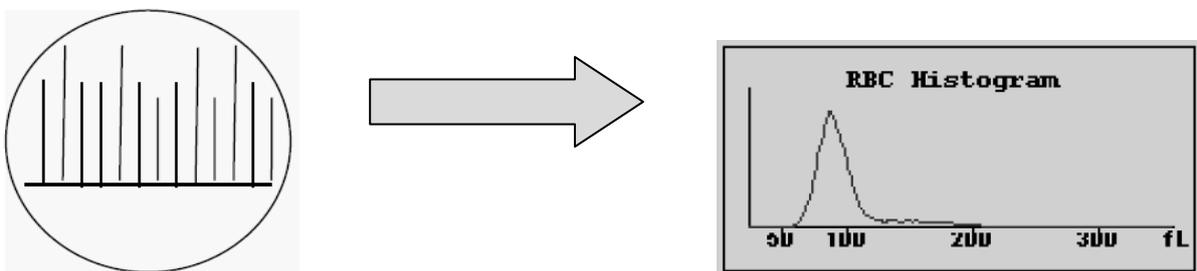


Figure 42 : Représentation graphique de la distribution des éléments figurés du sang en fonction du volume

(2) CYTOMÉTRIE EN FLUX

Paramètres mesurés par cette technique : Leucocytes, Erythroblastes, Réticulocytes, Plaquettes

La fluorocytométrie est basée sur le marquage des acides nucléiques par un fluorochrome et mesure donc la quantité d'ARN et d'ADN contenue dans les cellules.

Chaque fluorochrome spécifique d'un type cellulaire se lie spécifiquement aux acides nucléiques ciblés. Les cellules marquées sont ensuite illuminées par un faisceau laser et une analyse cellulaire tridimensionnelle est réalisée (Figure 43) :

- diffusion frontale (petit angle) de la lumière (*FSC* : « *forward scatter* ») : information sur la taille de la cellule
- diffraction latérale (grand angle) de la lumière (*SSC* : « *side scatter* ») : information sur la structure (complexité) de la cellule
- fluorescence latérale de la lumière (*SFL* : « *side fluorescence light* ») : reflet de la richesse en ADN/ARN de la cellule

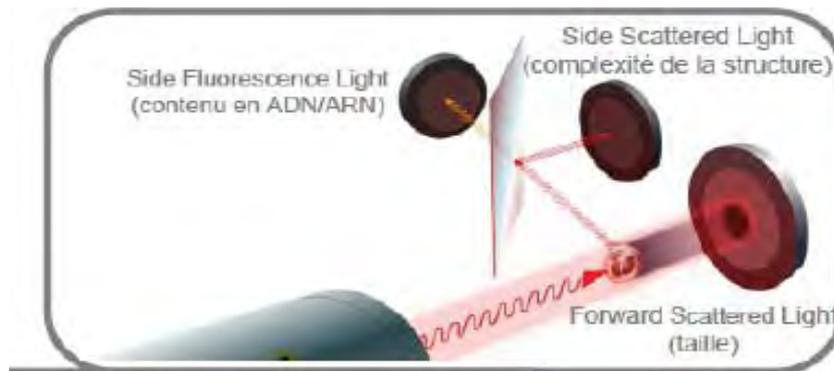


Figure 43 : Principe de la diffraction LASER et de la fluorescence sur automate SYSMEX XN-10® <http://www.sysmex-europe.com>

Les cellules présentant des propriétés physiques et chimiques similaires forment alors une population homogène sur le diagramme de dispersion.

B) APPLICATIONS À LA LIGNÉE ÉRYTHROCYTAIRE

(1) HÉMATIES

Les hématies sont numérées en utilisant le principe de l'impédance électrique à volume fixe calibré. L'automate compte 100 000 éléments en moyenne sur 15 comptages successifs (limite de linéarité : 0 à $10 \cdot 10^6 / \mu\text{L}$).

Le seuil inférieur est fixé à 40 fL et le seuil supérieur mobile haut est fixé à 250 fL : les GR de volume inférieur à 40 fL ne sont donc pas comptés comme étant des GR mais comme des plaquettes par l'automate (Figure 44).

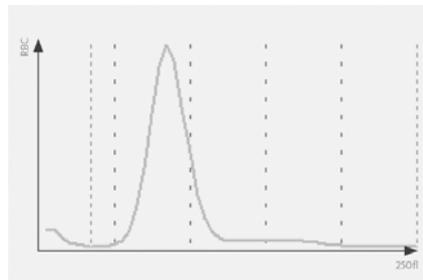


Figure 44 : Diagramme de la distribution des hématies en fonction de leur volume <http://www.sysmex-europe.com>

(2) HÉMOGLOBINE

L'hémoglobine est mesurée par spectrophotométrie (lecture à 555 nm), sur une seule mesure et après une dilution au $1/747^{\text{ème}}$ de l'échantillon (limites de linéarité : 0-25 g/dL).

La méthode recommandée par l'ICSH (*International Committee for Standardization in Haematology*) pour mesurer la concentration d'hémoglobine est la méthode de la cyanméthémoglobine (utilisant du cyanure toxique).

La mesure de l'hémoglobine par la technologie SYSMEX® utilise du Sodium Lauryl Sulfate (*Sulfolyser*, SLS), réactif de lyse présentant l'avantage de ne pas être toxique pour l'environnement (pas de cyanure dans les effluents) après une dilution de l'échantillon. Il induit une lyse des globules rouges et des globules blancs de l'échantillon. Les cytoplasmes des globules blancs ainsi lysés et les noyaux n'interfèrent pas dans la mesure (en cas d'hyperleucocytose), la cellule de mesure étant située dans la partie supérieure de la cuve. Les

groupes hydrophiles SLS se lient à l'hème, formant un complexe coloré stable (SLS-Hb) analysé par une méthode colorimétrique.

Une lumière monochromatique (émise par une LED) est absorbée par les complexes SLS-Hb du mélange. L'absorbance est mesurée par un capteur photosensible et est inversement proportionnelle à la concentration en hémoglobine de l'échantillon.

Les méthodes photométriques d'absorption peuvent être influencées par la turbidité de l'échantillon (lactescence) : une dilution systématique au 1/747^e de l'échantillon permet de minimiser ces interférences potentielles.

(3) HÉMATOCRITE ET CONSTANTES

ÉRYTHROCYTAIRES : VGM, CCMH, TCMH, IDR-SD

L'hématocrite est, comme les GR et l'hémoglobine, un paramètre mesuré. Cette mesure est la somme des impulsions des GR, rapportée au volume de sang fixe calibré analysé.

Les autres paramètres caractérisant la lignée érythrocytaire : le VGM, la CCMH et la TCMH ainsi que l'IDR-CV, sont calculés.

- $VGM = \text{Hématocrite} / \text{Nombre de GR} \times 10$
- $CCMH = \text{Hémoglobine} / \text{Hématocrite} \times 100$
- $TCMH = \text{Hémoglobine} / \text{Nombre de GR} \times 10$
- IDR-SD : indice d'anisocytose relative ($N < 55$) : largeur de la courbe à 20% de sa hauteur (Figure 45)

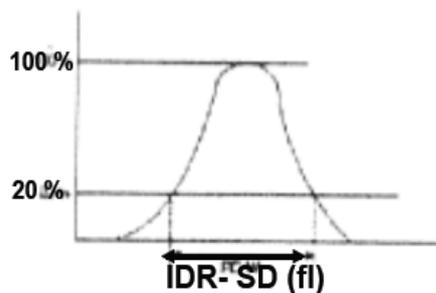


Figure 45 : Histogramme avec calcul de l'IDR-SD <http://www.sysmex-europe.com>

(4) RÉTICULOCYTES

Les réticulocytes sont déterminés en utilisant les principes de la diffraction et de la fluorocytométrie. La mesure se fait sur environ 30 000 GR, à chaud (41°C). Le domaine de mesure va de 0 à 200G/L.

Après perméabilisation de la membrane des GR, un fluorochrome spécifique se fixe sur l'ARN cytoplasmique réticulocytaire : les GR sont dépourvus de fluorescence, tandis que les réticulocytes qui présentent des résidus d'acides nucléiques dans leurs cytoplasmes sont fluorescents. Les différentes populations cellulaires sont séparées par diffraction de la lumière (qui indique la taille de la cellule), tandis que les signaux de fluorescence latéraux indiquent la teneur en acides nucléiques (Figure 46).

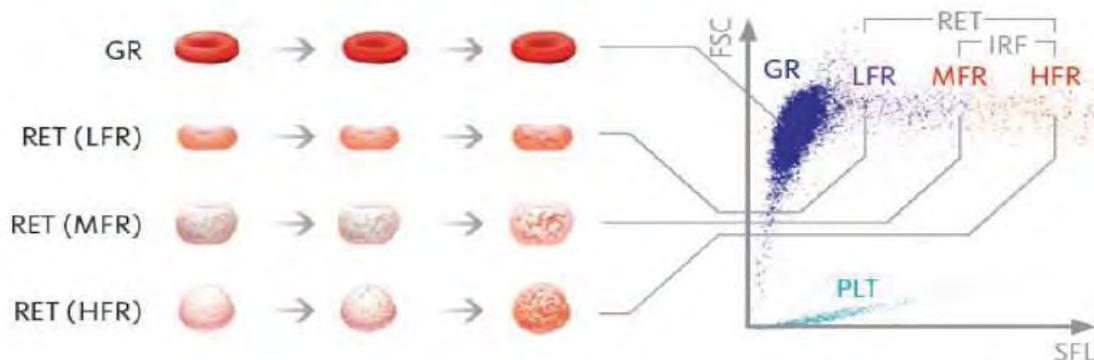


Figure 46 : Distribution des éléments de la lignée érythrocytaire en fonction de la taille et de l'intensité de fluorescence <http://www.sysmex-europe.com>

La mesure du contenu en ARN des réticulocytes permet l'identification de la population réticulocytaire jeune et hautement fluorescente, récemment libérée du compartiment médullaire dans les situations de stimulation de l'érythropoïèse. Les différences d'intensité de fluorescence permettent en effet de séparer les réticulocytes en trois catégories, représentant trois stades de maturation : HFR, MFR et LFR (Figure 47).

- LFR (réticulocytes de faible fluorescence)
- MFR (réticulocytes de fluorescence moyenne)
- HFR (réticulocytes de fluorescence élevée)

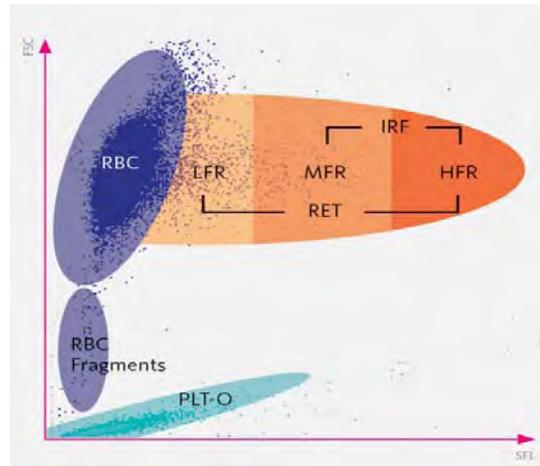


Figure 47 : Distribution des réticulocytes en fonction de la taille et de l'intensité de fluorescence <http://www.sysmex-europe.com>

La numération des réticulocytes permet d'évaluer l'érythropoïèse médullaire et donc le caractère régénératif ou non d'une anémie. Les réticulocytes sont le reflet direct de la production érythrocytaire médullaire, tandis que la proportion d'HFR circulants est davantage le reflet de l'intensité de la stimulation érythropoïétique [167]. Les SMD sont caractérisés par des cytopénies périphériques contrastant avec une moelle richement cellulaire, traduisant une insuffisance médullaire qualitative. Les réticulocytes y sont classiquement bas avec des HFR modérément élevés [167].

C) APPLICATIONS À LA LIGNÉE PLAQUETTAIRE

(1) MESURE PAR IMPÉDANCE

Les plaquettes sont mesurées par impédance en volume fixe calibré, la numération se faisant sur 10 000 à 15 000 éléments en moyenne et sur 15 comptages consécutifs et comparés. La limite inférieure de comptage estimée est de 1 G/L.

Les plaquettes se répartissent entre 2 fL (seuil minimal) et leur seuil mobile haut qui peut se déplacer entre 12 et 40 fL. Ce seuil mobile se place au niveau du retour à la ligne de base (ou à la vallée s'il n'y a pas de retour à la ligne de base). Les plaquettes de volume supérieur à 40 fL ne sont donc jamais comptées en plaquettes, soulignant l'importance d'être attentif au graphique de distribution en fonction du volume afin d'étaler si besoin un frottis sanguin pour

vérifier la morphologie des plaquettes (présence de macroplaquettes ?) et des hématies (fragments d'hématies ?) (Figure 48).

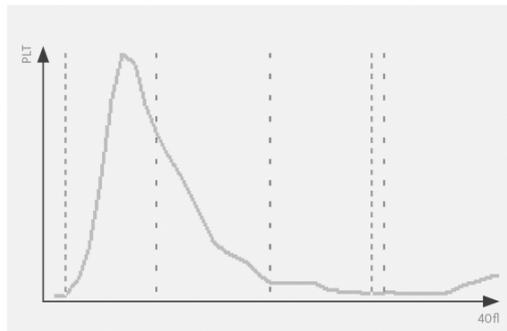


Figure 48 : Distribution des plaquettes en fonction du volume <http://www.sysmex-europe.com>

Le VPM est calculé sur le même principe que le VGM :

- $VPM = \text{Thrombocrite} / \text{Nombre de plaquettes (VN : 8 à 13 fL)}$

L'IDP est déterminé comme l'IDR-SD, c'est-à-dire comme la largeur de la courbe à 20% de sa hauteur (VN : 9-17 fL).

Ces paramètres plaquettaires ne trouvent une réelle utilité que pour déclencher des alarmes de distribution des plaquettes et induire l'étalement d'un frottis (présence d'aggrégats plaquettaires ?) ou la mesure des plaquettes par fluorocytométrie (PLT-F), méthode de mesure réalisée en seconde intention.

(2) MESURE PAR FLUOROCYTOTOMÉTRIE

Le comptage des plaquettes peut également faire intervenir la diffraction et la fluorocytométrie, avec utilisation d'anticorps monoclonaux. Cette mesure par fluorocytométrie permet de réaliser une numération plaquettaire (PLT-F) et de déterminer l'IPF (*Immature Platelet Fraction*). Le volume de comptage est plus important qu'en impédancemétrie (multiplié par 5).

La mesure des PLT-F suit le même principe que celle des réticulocytes. A partir du graphe des réticulocytes (Figure 49), un changement d'échelle permet de visualiser le nuage des plaquettes.

La mesure des plaquettes en mode fluorescence montre une meilleure corrélation avec la méthode de référence par cytométrie en flux ($r^2 = 0,80$) comparée à la méthode par impédance électrique ($r^2 = 0,73$) pour des valeurs de plaquettes < 70 G/L [168].

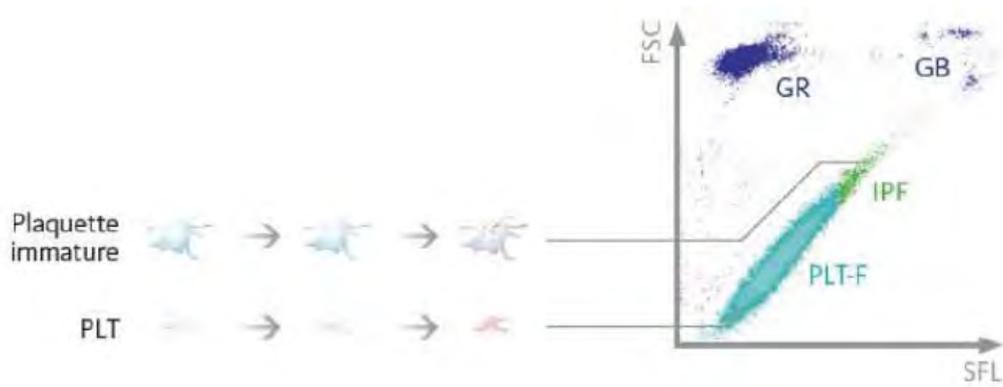


Figure 49 : Distribution des plaquettes mesurées par fluorocytométrie (PLT-F) <http://www.sysmex-europe.com>

D) APPLICATIONS À LA LIGNÉE LEUCOCYTAIRE

(1) NUMÉRATION LEUCOCYTAIRE : CANAL WNR

La mesure des leucocytes est basée sur une lyse différentielle des éléments, puis sur la diffraction du faisceau lumineux et la fluorocytométrie. Les éléments figurés du sang mesurés par ce canal sont les globules blancs, les érythroblastes et les polynucléaires basophiles (limites de linéarité : de 0 à 450 G/L).

En première intention, les leucocytes sont numérés sur ce canal également nommé « canal GB/Baso ». Une lyse différentielle à pH = 1 des plaquettes, des GR, des érythroblastes et des leucocytes est réalisée. Après cette lyse, il ne reste donc que les noyaux leucocytaires (sauf pour les polynucléaires basophiles), et ce sont donc ces noyaux qui sont numérés. Les polynucléaires basophiles résistent à la lyse à pH acide et sont comptés via ce canal de mesure de l'analyseur. Les différents éléments sont, en fonction de la taille et de la fluorescence, répartis dans un scattergramme de distribution (Figure 50).

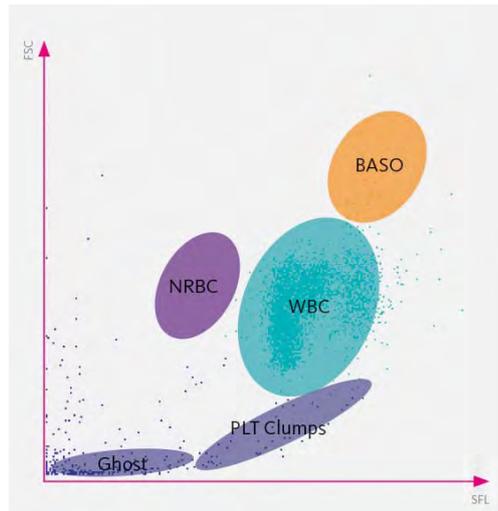


Figure 50 : Répartition des éléments comptés dans le canal WNR du SYSMEX XN-10[®] <http://www.sysmex-europe.com>

Le nuage “WBC” regroupe les leucocytes qui ont été lysés : les polynucléaires neutrophiles et éosinophiles, les lymphocytes et les monocytes. Les polynucléaires basophiles (nuage « BASO ») forment un nuage séparé. Les érythroblastes (NRBC) sont systématiquement comptés grâce à un fluorochrome spécifique.

(2) FORMULE LEUCOCYTAIRE : CANAL WDF

La formule leucocytaire repose sur le principe de la diffraction LASER associée à la fluorocytométrie. Les paramètres mesurés sur ce canal WNR du XN-10[®] sont les lymphocytes, les monocytes, les polynucléaires éosinophiles (PNE), et la myélémie (IG). Les polynucléaires neutrophiles (PNN) sont eux calculés.

Une lyse préalable des érythrocytes est réalisée par le biais d’un agent tensio-actif présent dans le réactif. Parallèlement, une perméabilisation des membranes cellulaires des leucocytes est également réalisée, permettant un marquage des acides nucléiques des sous-populations leucocytaires.

Les signaux de mesure relatifs à la diffraction à petit angle de la lumière (SSC : structure des éléments), à la diffraction à grand angle (FSC : taille) et à l’intensité de fluorescence (SFL : contenu en ARN) sont analysés et représentés sur un diagramme de dispersion : les cellules présentant des propriétés physiques et chimiques similaires forment alors une population homogène (Figure 51).

Ceci permet la réalisation d'une formule leucocytaire en 8 paramètres :

- Polynucléaires neutrophiles et basophiles
- Polynucléaires éosinophiles
- Monocytes (Mono)
- Lymphocytes (Ly)
- Myélémie (IG, regroupant promyélocytes, myélocytes et métamyélocytes, sans distinction)
- Indice HFLC (*High Fluorescence Cells*) : cellules mononuclées à fluorescence élevée (plasmocytes, cellules B sécrétrices d'anticorps)
- Neutro-SSC (indice de granularité des PNN)

Les polynucléaires neutrophiles sont calculés :

$$\text{PNN} = \text{GB}_{\text{canal WNR}} - (\text{Baso} + \text{Ly} + \text{Mono} + \text{Eo} + \text{IG})$$

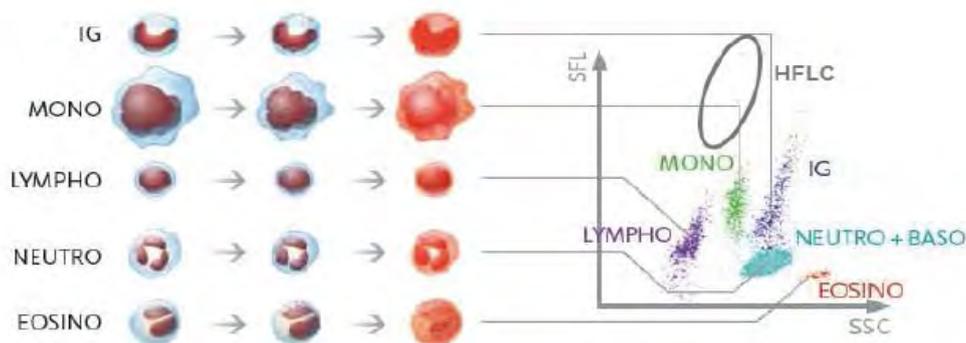


Figure 51 : Répartition des sous-populations leucocytaires dans le canal WBC de l'analyseur SYSMEX XN-10® <http://www.sysmex-europe.com>

Ce canal permet aussi de réaliser une seconde numération des leucocytes, trouvant son utilité dans le cas où des interférences (comme la lipémie par exemple) viendraient perturber la mesure dans le canal WNR.

L'analyse tridimensionnelle permet de détecter la présence de cellules anormales circulantes (blastés, lymphocytes activés, cellules hyperbasophiles) et de déclencher des alarmes (Figure 52).

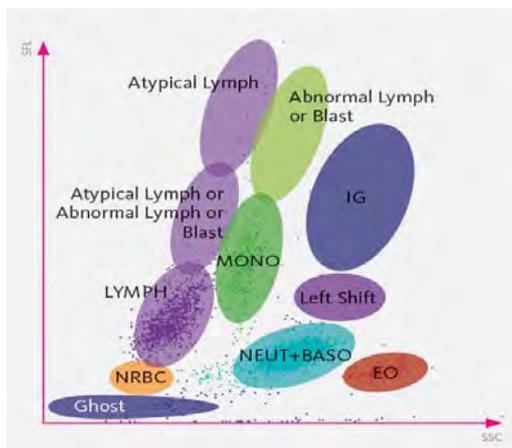


Figure 52 : Répartition des éventuelles cellules anormales dans le canal WBC de l'analyseur SYSMEX XN-10® <http://www.sysmex-europe.com>

II.6. PARAMÈTRES DE RECHERCHE ET SMD

En plus des paramètres « classiques » énoncés précédemment, l'analyseur SYSMEX XN-10® dispose de paramètres dits de recherche, disponibles pour chacune des trois lignées myéloïdes. Parmi ces paramètres, certains pourraient présenter un intérêt dans les SMD.

A) PARAMÈTRES ÉRYTHROCYTAIRES

(1) IRF : IMMATURE RETICULOCYTE FRACTION

La fraction de réticulocytes immatures (IRF) correspond à l'addition des réticulocytes les plus fluorescents : MFR et HFR (Figure 48).

- Des valeurs d'IRF élevées avec un nombre normal (ou diminué) de réticulocytes sont retrouvées chez des patients présentant des dysérythropoïèses ou une érythropoïèse ineffective (SMD, LAM).
- Des valeurs d'IRF élevées avec un nombre augmenté de réticulocytes sont retrouvées dans les anémies hémolytiques auto-immunes [169].

(2) RET-HE : *RETICULOCYTE HAEMOGLOBIN EQUIVALENT*

Le RET-He est un paramètre qui renseigne sur le contenu en hémoglobine des réticulocytes : il permet d'apprécier la synthèse d'hémoglobine par la population érythrocytaire nouvellement produite. Les valeurs de référence du RET-He sont de 28 à 35 pg.

Il a montré un intérêt dans le diagnostic des anémies ferriprives, notamment pour des patients présentant des néphropathies ou des maladies inflammatoires chroniques (dans lesquelles les marqueurs biochimiques destinés à évaluer le statut en fer tels que la ferritine sont perturbés et difficilement interprétables). Le RET-He renseigne sur la biodisponibilité du fer en identifiant des modifications du statut martial de façon précoce (des valeurs faibles indiquent une carence martiale ou une absence de biodisponibilité pour l'érythropoïèse).

Les réticulocytes des patients avec SMD ont un plus grand volume et une concentration en hémoglobine diminuée par rapport aux réticulocytes de patients sains [170].

B) PARAMÈTRES PLAQUETTAIRES

(1) IPF : *IMMATURE PLATELET FRACTION*

L'IPF est déterminé lors de la mesure des plaquettes fluorescentes (PLT-F), par fluorocytométrie, avec utilisation d'Ac monoclonaux. L'intervalle de référence de l'IPF sur XN-10®, établie sur des échantillons sanguins de 2104 patients sains, est de 1,0% à 7,3%. [171]

La fraction des plaquettes immatures (%-IPF) est obtenue lors de la mesure des plaquettes par fluorocytométrie (PLT-F). L'IPF désigne les plaquettes dites réticulées, c'est-à-dire contenant de l'ARN : ces plaquettes présentent une fluorescence plus ou moins importante selon leur degré de réticulation (Figure 49).

Des valeurs élevées d'IPF traduisent une élévation de la production médullaire de plaquettes. Leur mesure donne une évaluation de la production de plaquettes par la moelle osseuse à partir d'un échantillon de sang périphérique, de la même manière que la mesure des réticulocytes renseigne sur la production de globules rouges.

Le %-IPF a démontré un intérêt dans le diagnostic de la thrombopénie. En effet, des niveaux élevés de l'IPF sont corrélés avec une augmentation de la destruction des plaquettes au niveau

périphérique. L'IPF diffère selon que la thrombopénie est centrale (%-IPF faible) ou périphérique (%-IPF élevé). Cet indice a montré, sur l'automate XN-10®, une sensibilité de 85,1% et une spécificité de 89,3% pour le diagnostic des purpuras thrombopéniques auto-immuns (PTI) [172].

Dans les SMD, l'insuffisance médullaire qualitative se traduit, au début de la maladie, par une production accrue de plaquettes. L'indice IPF pourrait donc présenter un intérêt dans le diagnostic des SMD.

(2) H-IPF : *HIGH IMMATURE PLATELET FRACTION*

Le principe de mesure est le même que celui de l'IPF : l'H-IPF correspond à la fraction la plus fluorescente des plaquettes réticulées.

C) PARAMÈTRES LEUCOCYTAIRES

(1) NEUT-SSC

L'indice NEUT-SSC est mesuré par diffraction LASER et fluorocytométrie. L'intervalle de référence est de 140,91 à 160,46. [163]

Le NEUT-SSC est un paramètre pouvant être utilisé pour détecter les PNN hypogranulés. Il correspond au barycentre du nuage des PNN, extrapolé sur l'axe des abscisses (Figure 53). Les PNN hypogranuleux présentent un NEUT-SSC plus bas (déviation vers la gauche du nuage des PNN), tandis que des valeurs élevées sont le reflet d'une hypergranularité.

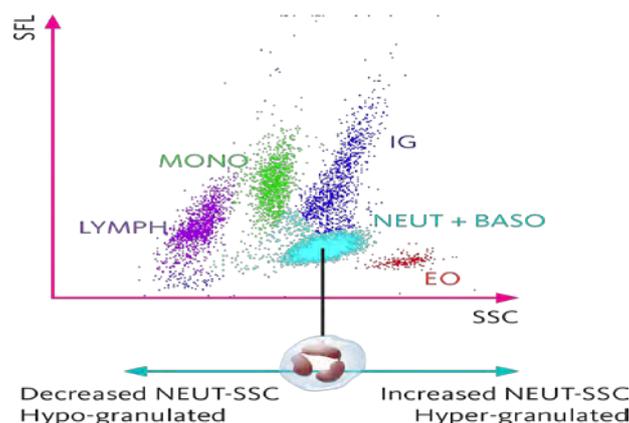


Figure 53 : Représentation graphique de l'indice NEUT-SSC <http://www.sysmex-europe.com>

(2) NE-WX

Le principe de mesure est le même que celui du NEUT-SSC.

Le Ne-WX est un paramètre de recherche disponible sur les automates SYSMEX® de dernière génération. A l'instar du NEUT-SSC, il renseigne sur la complexité, la granulosité des PNN.

Le Ne-WX est un paramètre de dispersion : il correspond à la largeur du nuage des PNN extrapolé sur l'axe des abscisses (Figure 54).

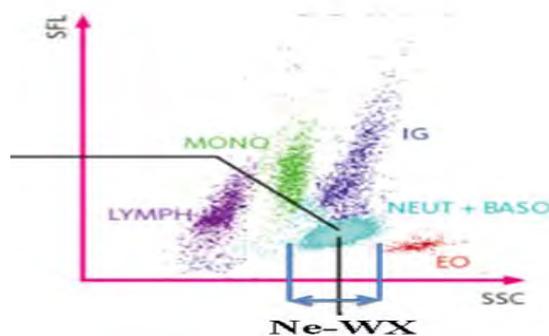


Figure 54 : Représentation graphique de l'indice Ne-WX <http://www.sysmex-europe.com>

Ce paramètre n'a pas encore été étudié dans les syndromes myélodysplasiques. Par rapport au NEUT-SSC couramment utilisé dans les laboratoires d'hématologie, ce nouveau paramètre présente l'avantage d'étudier la dispersion des polynucléaires neutrophiles. En effet, il est fréquemment observé dans les SMD une dysgranulopoïèse avec coexistence de cellules pathologiques (hypogranulaires) et de cellules normales, bien granuleuses.

Des valeurs élevées de l'indice Ne-WX sont donc susceptibles de signifier la présence d'une population hypogranulaire évocatrice, entre autres, d'un SMD.

(3) AUTRES PARAMÈTRES DE LA LIGNÉE
LEUCOCYTAIRE

D'autres paramètres de la lignée leucocytaire ont été étudiés dans le cadre des syndromes myélodysplasiques, surtout sur l'ancienne génération d'automates SYSMEX®. Le NEUT-X et le NEUT-Y, pour des valeurs respectivement inférieures à 1298 et 398, présentent une spécificité pour la détection des SMD de 94% et 91% (respectivement), et une sensibilité de 60% et 56%. Dans les cas de SMD avec une hypogranulation observée en microscopie, la sensibilité s'élève à 75% (NEUT-X) et 74% (NEUT-Y).

PARTIE B : ETUDE

I OBJECTIF

Les syndromes myélodysplasiques constituent un groupe de pathologies hétérogènes du sujet âgé, caractérisé notamment par une ou plusieurs cytopénies à l'hémogramme. La numération formule sanguine est un examen de routine rapide, non invasif et idéal pour un dépistage.

L'objectif principal de cette étude était de discriminer, à partir d'un simple hémogramme réalisé sur l'automate XN-10[®] (Sysmex[®], Kobe, Japon), les patients potentiellement atteints de SMD des autres patients admis au CHU.

L'objectif secondaire était de distinguer les sous-catégories de SMD : avec dysplasie uni- ou multi-lignée, avec ou sans excès de blastes, avec ou sans sidéroblastes en couronne selon l'OMS 2016.

II PATIENTS, MATERIEL ET METHODES

II.1. COHORTE TÉMOIN

La cohorte témoin est composée de 2099 patients de plus de 50 ans, hors service d'hématologie. Ces patients ont bénéficié d'un hémogramme au CHU de Nantes réalisé sur l'automate Sysmex XN-10[®]. La population témoin de notre étude est donc constituée de 2099 hémogrammes de routine, incluant à la fois des NFS normales mais aussi des NFS anormales. La « normalité » et « l'anormalité » des hémogrammes sont déterminées d'après les normes publiées par Troussard et al. dans le *Journal of Clinical Pathology* en 2013, qui constituent les valeurs de référence du laboratoire chez l'adulte [173].

La médiane d'âge de cette cohorte témoin est de 72,4 ans (écart type : 12,6 ans, range : 50 – 99,5 ans).

Les paramètres de l'hémogramme de la population témoin (2099 patients) sont résumés dans le Tableau 47 :

	Hb (g/dL)	VGM (fL)	Plaq (G/L)	PNN (G/L)	Ne-WX
Moyenne	12,4	89,3	257	5,6	324
Ecart-type	2,2	8,3	101,5	4,1	34
Médiane	12,7	89,5	252	4,5	318
Min	3,2	57,5	1	0,0	18
Max	18,8	124,2	1234	71,4	648

Tableau 47 : Statistiques descriptives de la population totale d'étude

II.2. PATIENTS AVEC SMD AU DIAGNOSTIC

A) INTRODUCTION

Au total, 113 SMD de novo ont été diagnostiqués au CHU de Nantes et inclus dans l'étude, sur une période s'étalant de juin 2014 à octobre 2016.

Le diagnostic de SMD est affirmé sur les résultats combinés de la NFS et du myélogramme, ainsi qu'avec l'analyse cytogénétique, tout en tenant compte des données cliniques et notamment de l'élimination des autres causes de cytopénie. Les patients inclus ne recevaient

ETUDE : PATIENTS, MATERIEL ET METHODES

pas de traitement au moment du diagnostic (pas de transfusions, pas de facteurs de croissance, pas de chimiothérapie).

B) AGE

Sur les 113 diagnostics de SMD, l'âge médian est de 82.0 ans. Cet âge médian est plus important que ce qui est décrit dans la littérature (aux alentours de 70 ans) (Tableau 48) [4].

Nombre patients	Minimum	Maximum	Médiane	Moyenne	Ecart-type
113	36,4	96,8	82,0	74,7	11,9

Tableau 48 : Description de la cohorte de patients selon l'âge au moment du diagnostic de SMD

D'après nos résultats et ceux d'autres cohortes de patients avec SMD, il a été décidé, afin d'améliorer la spécificité du score de dépistage, d'exclure les patients âgés de moins de 51 ans. On remarque en effet sur notre cohorte que seulement 5% des patients au moment du diagnostic de SMD ont moins de 51 ans (Tableau 49, Figures 55 et 56).

Valeur (années)	
Maximum	96,8
99%	92,9
95%	89,2
90%	87,7
3 ^{ème} quartile	82,4
Médiane	77,8
1 ^{er} quartile	68,8
10%	58,1
5%	51,1
1%	36,5
Minimum	36,4

Tableau 49 : Répartition des âges au moment du diagnostic de SMD

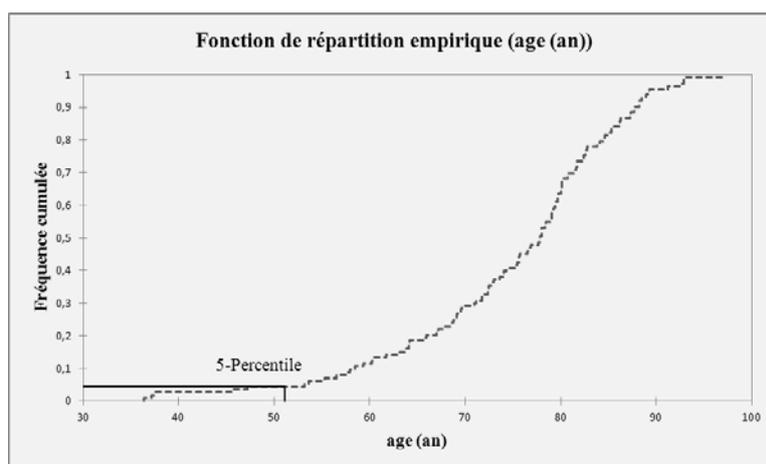


Figure 55 : Fonction de répartition des âges au moment du diagnostic de SMD

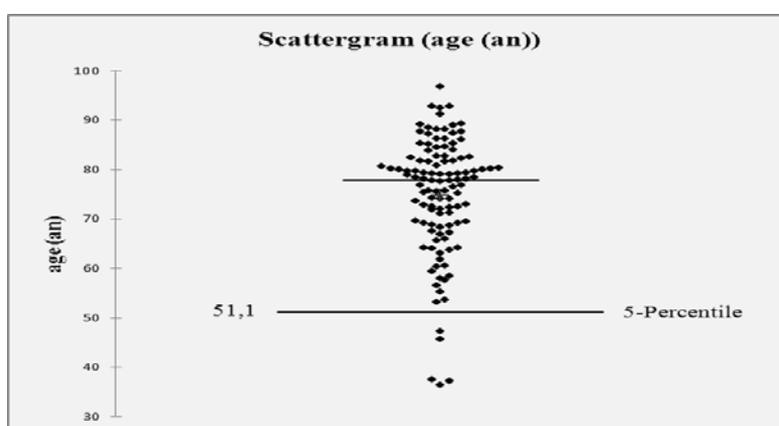


Figure 56 : Scattergram de répartition des âges au moment du diagnostic de SMD

En excluant ces patients de moins de 51 ans, le nombre de SMD inclus passe de 113 à 108.

C) SEXE

Sur les 108 patients inclus, on dénombre 48 femmes (44%) et 60 hommes (56%), soit un sexe ratio H/F de 1,25. Cette prédominance masculine des SMD est retrouvée dans la littérature (sexe ratio de 1,5 à 2 hommes pour une femme) [4].

D) RÉPARTITION DES SMD SELON LES CLASSIFICATIONS
OMS 2008 ET OMS 2016

La classification OMS des SMD a été mise à jour au cours de l'année 2016. Le recueil de données ayant commencé en 2014, les SMD ont d'abord été stratifiés selon la classification 2008 de l'OMS (Tableau 50 et Figure 57), puis selon l'OMS 2016 (Tableau 51 et Figure 58).

SMD selon OMS 2008	Effectifs (%)
AREB1	16 (15)
AREB2	16 (15)
ARS	25 (23)
CRDM	26 (24)
CRDM-RS	8 (7)
CRU	11 (10)
SMD del(5q)	4 (4)
LAM6	2 (2)
Total	108 (100)

Tableau 50 : Répartition des SMD selon la classification OMS 2008

SMD selon OMS 2016	Effectifs (%)
SMD-EB-1	16 (15)
SMD-EB-2	18 (17)
SMD-RS-DUL	25 (23)
SMD-DML	26 (24)
SMD-RS-DML	8 (7)
SMD-DUL	11 (10)
SMD del(5q)	4 (4)
Total	108 (100)

Tableau 51 : Répartition des SMD selon la classification OMS 2016

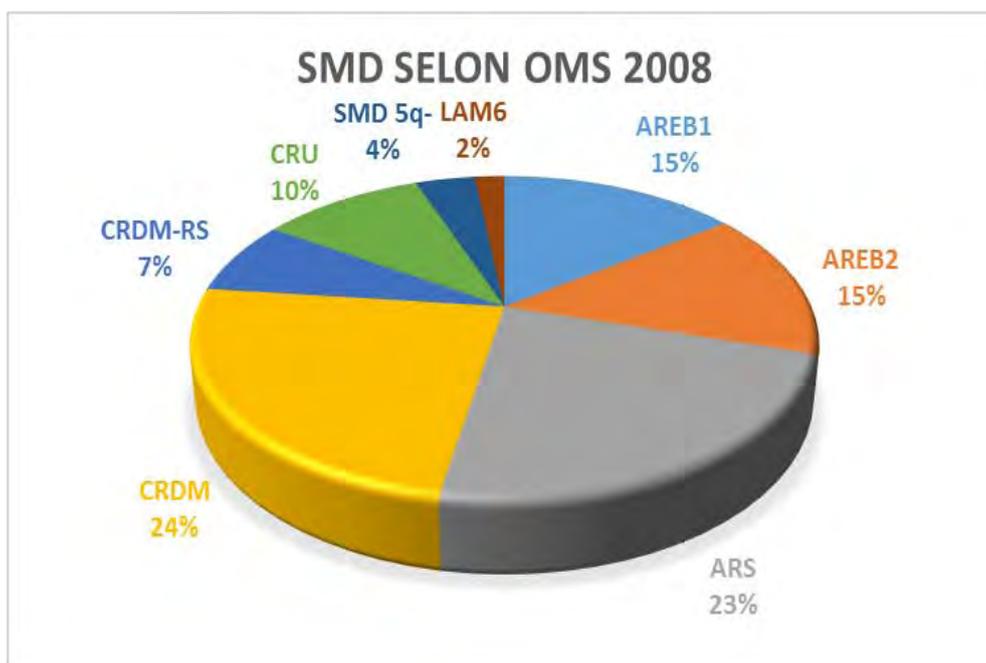


Figure 57 : Répartition des SMD selon la classification OMS 2008

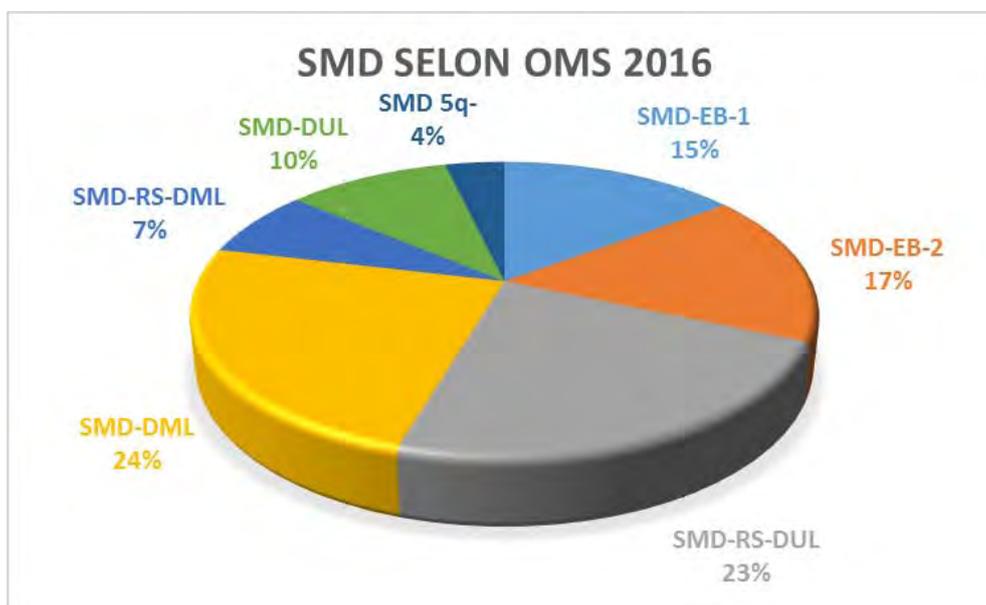


Figure 58 : Répartition des SMD selon la classification OMS 2016

ETUDE : PATIENTS, MATERIEL ET METHODES

Pour analyser les données recueillies et afin de discriminer les SMD entre eux, il a été décidé de regrouper en sous-classes les SMD de présentation biologique proche (Tableau 52) :

- SMD avec excès de blastes (SMD-EB-1 et SMD-EB-2)
- SMD avec dysplasie multilignée ± sidéroblastes en couronne (SMD-DML et SMD-RS-DML)
- SMD avec dysplasie unilignée (SMD-DUL) et SMD avec del(5q)
- SMD avec sidéroblastose en couronne significative et dysplasie unilignée (SMD-RS-DUL)

Ce regroupement par classe permet de travailler avec de plus grands effectifs. Les SMD avec excès de blastes et les SMD avec dysplasie multilignée constituent les deux tiers des cas étudiés. Les SMD avec dysplasie unilignée et sidéroblastose en couronne significative constituent près d'un quart des inclusions, plus que dans les cohortes habituelles de SMD (Figure 59).

Ce regroupement par sous-classes de SMD est effectué dans le but de mettre en évidence des différences clinico-biologiques significatives entre ces 4 entités afin de les distinguer.

SMD	Effectifs (%)
SMD avec excès de blastes : SMD-EB-1 et SMD-EB-2	34 (32)
SMD avec dysplasie multilignée : SMD-DML et SMD-RS-DML	34 (31)
SMD-RS-DUL	25 (23)
SMD-DUL et SMD 5q-	15 (14)
Total	108 (100)

Tableau 52 : Répartition des SMD en 4 sous-classes



Figure 59 : Répartition des SMD en 4 sous-classes

E) RÉPARTITION DES SMD SELON LES CLASSIFICATIONS
IPSS ET IPSS-R

Le calcul des scores IPSS et IPSS-R est une étape fondamentale pour le clinicien en vue d'une approche thérapeutique.

Sur les 108 patients de la cohorte, ces scores pronostics ont pu être calculés chez 93 d'entre eux (ceux ayant eu un caryotype informatif). Près de 80% ont un IPSS de risque faible et intermédiaire-1. Ces résultats sont proches des données provenant du registre du GFM où 74% des patients ont un IPSS de faible risque ($IPSS \leq 1$) et 26% un IPSS de haut risque ($IPSS \geq 1,5$) (Tableaux 53 et 54, Figure 60).

Score IPSS	Total (%)	Avec caryotype (%)
0	54 (50)	43 (46)
0,5	22 (20)	20 (21)
1	11 (10)	11 (12)
1,5	5 (5)	4 (4)
2	10 (9)	9 (10)
2,5	4 (4)	4 (4)
3	2 (2)	2 (2)
3,5	0 (0)	0 (0)
Total	108 (100)	93 (100)

Tableau 53 : Répartition des SMD selon le score IPSS

Risque selon IPSS	Nb patients	%
Faible (0)	43	46,2
Intermédiaire-1 (0,5-1)	31	33,3
Intermédiaire-2 (1,5-2)	13	14,0
Elevé (>2)	6	6,5
Faible risque (≤ 1)	74	79,6
Risque élevé ($\geq 1,5$)	19	20,4

Tableau 54 : Répartition des SMD selon le risque défini par l'IPSS

Le calcul de l'IPSS-R retrouve 12% de patients avec un score très faible, 57% avec un score faible et 21,5% avec un score intermédiaire (Tableaux 55 et 56, Figure 61).

ETUDE : PATIENTS, MATERIEL ET METHODES

Score IPSS-R	Total (%)	Avec caryotype (%)
0	6 (5)	1 (1)
0,5	1 (1)	0 (0)
1	13 (12)	9 (10)
1,5	3 (3)	1 (1)
2	24 (22)	23 (25)
2,5	14 (13)	13 (15)
3	17 (16)	17 (18)
3,5	6 (6)	6 (6)
4	9 (8)	9(10)
4,5	6 (5)	5 (5)
5	4 (4)	4 (4)
5,5	2 (2)	2 (2)
6	2 (2)	2 (2)
> 6	1 (1)	1 (1)
Total	108 (100)	93 (100)

Tableau 55 : Répartition des SMD selon le score IPSS-R

Risque selon IPSS-R	Nb patients	%
Très faible ($\leq 1,5$)	11	11,8
Faible ($> 1,5-3$)	53	57,0
Intermédiaire ($> 3-4,5$)	20	21,5
Elevé ($> 4,5-6$)	8	8,6
Très élevé (> 6)	1	1,1

Tableau 56 : Répartition des SMD selon le risque défini par l'IPSS-R

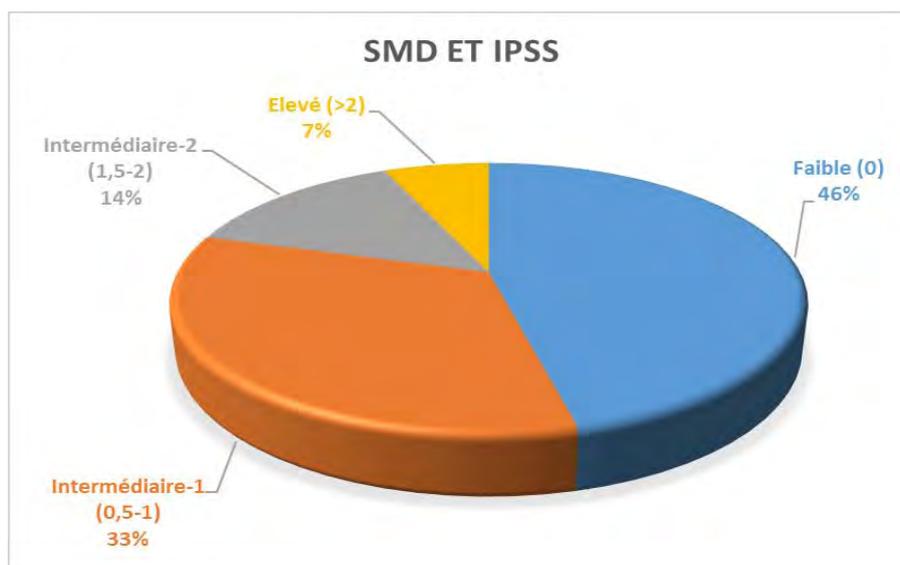


Figure 60 : Répartition des SMD selon le risque défini par l'IPSS

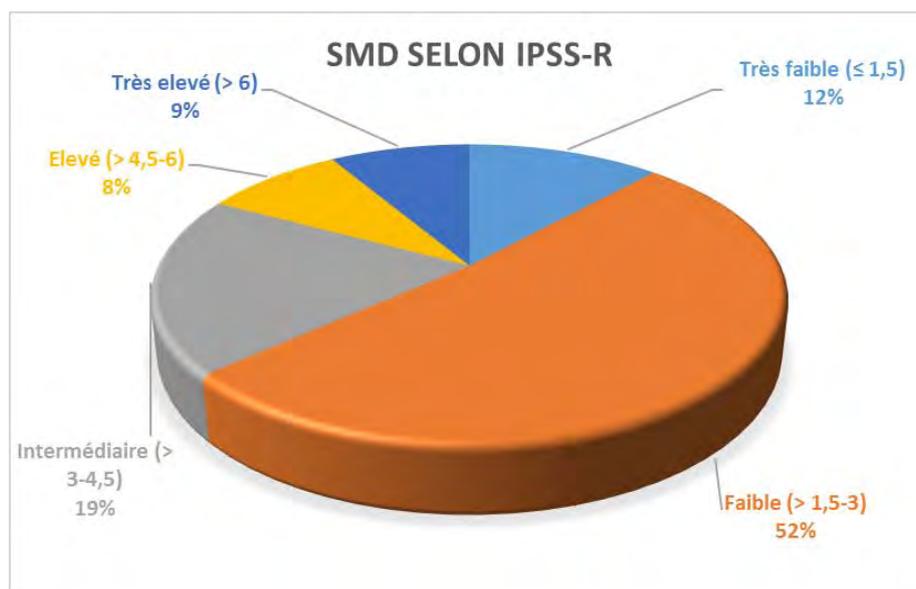


Figure 61 : Répartition des SMD selon le risque défini par l'IPSS-R

Nous étudions donc 2207 hémogrammes réalisés sur l'analyseur XN-10[®] au sein du laboratoire d'hématologie du CHU de Nantes. Parmi cette population d'étude, on dénombre 108 SMD et 2099 NFS de routine.

**II.3. ANALYSE STATISTIQUE :
MÉTHODOLOGIE**

Les différents SMD et les paramètres de l'hémogramme ont été décrits dans l'ensemble de la population. Les distributions de ces paramètres sont représentées en fonction des sous-groupes de SMD, en notifiant les p-values lorsque celles-ci sont significatives. Ces comparaisons ont été réalisées en utilisant le test de Mann-Whitney. Les p-values sont corrigées à l'aide de la méthode de Holm.

Les NFS ont été regroupées en un seul paramètre dichotomique (malades ou témoins), puis l'association des SMD avec les autres paramètres a été mise en évidence via l'utilisation d'une régression logistique. Une analyse multivariée a été réalisée par une sélection de variable descendante pas-à-pas. La validation interne du modèle a été évaluée par discrimination et la calibration avec respectivement une courbe ROC (avec son AUC) et le test de Hosmer-Lemeshow avec une courbe de calibration.

Toutes les analyses ont été effectuées sous le logiciel R (*R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, <http://www.r-project.org>*).

III RESULTATS

III.1. COHORTE GLOBALE

A) DONNÉES DE LA NFS

(1) RÉSULTATS DE L'HÉMOGRAMME

En se basant sur les critères de Troussard et al. [173], 107 SMD sur les 108 étudiés sortent des normes sur au moins un des critères suivants : hémoglobine, PNN, plaquettes, VGM, et/ou présentent des « alarmes automate ». Parmi les 2099 NFS de routine analysées, 1306 sont anormales en utilisant les mêmes critères (Tableau 57).

	NFS (Hb, VGM, Pla, PNN, Alarmes automate) [173]	
	Normale	Anormale
NFS témoins (de routine)	793	1306
SMD	1	107

Tableau 57 : Distribution des NFS de routine et des SMD en fonction des valeurs normales de l'adulte

On remarque donc que seule une myélodysplasie reste dans les « normes » du laboratoire, tandis que plus de 60% des hémogrammes de routine sont « anormaux ». Notre analyse va donc consister en une comparaison des SMD d'une part, et des 2099 NFS témoins de routine d'autre part.

Les résultats de l'hémogramme des 108 patients avec myélodysplasie sont résumés dans le Tableau 58.

	Hb (g/dL)	VGM (fL)	Ret (G/L)	Pla (G/L)	Leuco (G/L)	PNN (G/L)	Ne- WX
Moyenne	9,9	99,4	64,2	194,6	5,1	3,1	383,9
Médiane	9,8	100,2	56,8	174,0	4,9	2,5	377,0
Min	4,7	75,4	8,0	2,0	1,1	0,2	115,5
Max	14,9	122,0	193,4	484,0	17,9	13,9	648,0

Tableau 58 : Statistiques descriptives de l'hémogramme dans la cohorte de 108 SMD

ETUDE : RESULTATS

Sur le plan de l'anémie (Tableau 59) :

- 100 SMD (93%) présentent une anémie en considérant les valeurs de référence du laboratoire (Hb < 13,5 g/dL chez les hommes, Hb < 12 g/dL chez les femmes) [173].
- 57 SMD (53%) sont anémiques si l'on considère le seuil de 10g/dL de l'IPSS [77].

Ces données sont en accord avec les données du GFM qui retrouvent 90% de patients anémiques au diagnostic. L'anémie est macrocytaire pour 54 SMD (50%), seulement 3 SMD étant microcytaires (3%) (Tableau 60). Sur la cohorte nantaise (800 SMD au diagnostic, LMCC exclues, de janvier 1987 à octobre 2009), 61% des patients étaient anémiques selon le seuil de l'IPSS, et 60% étaient macrocytaires.

Hb (g/dL)	Effectifs (%)
< 11,5	88 (81)
< 10	57 (53)
< 8	12 (11)

Tableau 59 : Répartition de l'hémoglobémie des 108 SMD

VGM (fL)	Effectifs (%)
> 100	54 (50)
> 90	87 (81)
< 80	3 (3)

Tableau 60 : Répartition du VGM des 108 SMD

Sur le plan de la thrombopénie (Tableau 61) :

- 45% des SMD sont thrombopéniques selon les valeurs normales du laboratoire (Plaq < 150 G/L) [173]
- 25% des SMD sont thrombopéniques selon le seuil de l'IPSS (Plaq < 100 G/L) [77]. Dans l'étude nantaise (janvier 1987 à octobre 2009), 30% des SMD présentaient une thrombopénie selon ce seuil de 100 G/L.

Plaq (G/L)	Effectifs (%)
< 150	49 (45)
< 100	27 (25)
<50	7 (6)

Tableau 61 : Numération plaquettaire des 108 SMD

ETUDE : RESULTATS

Sur le plan de la neutropénie (Tableau 62) :

- 33% des SMD se présentent avec une neutropénie selon les valeurs normales du laboratoire (PNN < 1,5 G/L) [173].
- 35% ont une neutropénie selon le seuil fixé par l'IPSS (PNN < 1,8 G/L) [77], contre 47% sur la cohorte de 800 SMD diagnostiqués au CHU de Nantes entre janvier 1987 et octobre 2009.
- 12% des patients sont neutropéniques selon l'IPSS-R (PNN < 0,8 G/L) [108]

PNN (G/L)	Effectifs (%)
< 1,8	38 (35)
< 1,5	36 (33)
< 0,8	13 (12)

Tableau 62 : Répartition des PNN en fonction des seuils du laboratoire, de l'IPSS et de l'IPSS-R

La médiane de myélémie est de 0,6% (range : 0-18%). Des blastes circulants sont retrouvés chez 15 patients (14%) (range : 1-15). Dans la cohorte nantaise de 800 SMD, 15% des patients avaient des blastes circulants ($\geq 1\%$), dont 6% une blastose sanguine comprise entre 5 et 19%.

Les données concernant le Ne-WX, paramètre de dispersion des PNN permettant d'évaluer leur granularité, ont également été recueillies (Tableau 63). Ce paramètre étant nouveau et n'ayant encore jamais été étudié, les normes n'étaient pas établies. On peut noter que seuls 10 SMD (9%) présentent un Ne-WX < 300. Plus de deux tiers des patients ont un Ne-WX en faveur d'une dégranulation des PNN (Ne-WX > 350).

Ne-WX	Effectifs (%)
> 400	36 (33)
> 350	75 (69)
< 300	10(9)

Tableau 63 : Répartition du Ne-WX des 108 SMD

Sur les 108 SMD de la cohorte, 66 patients (61%) ont une Hb < 11,5g/dL associée à un Ne – WX > 350.

ETUDE : RESULTATS

(2) DONNÉES MORPHOLOGIQUES

Concernant la morphologie érythrocytaire sur le frottis sanguin, 53 SMD (49%) présentent des anomalies. Ces signes de dysérythroïèse sont non spécifiques des SMD (Tableau 64).

Anomalies morphologiques érythrocytaires	Nb (%)
Anisocytose	15 (14)
Anisocytose + Poïkilocytose	16 (15)
Anisocytose + Macrocytose	11 (10)
Macrocytose	5 (5)
Macrocytose + Poïkilocytose	1 (1)
Hématies à ponctuations basophiles	3 (3)
Hématies en cible	2 (2)

Tableau 64 : Anomalies morphologiques érythrocytaires sur le frottis sanguin

Des anomalies morphologiques de la lignée granuleuse ont été retrouvées dans 17 SMD (16%) :

- 7 dysgranulopoïèses modérées (6%), dont 2 associées à une anomalie de type pseudo-Pelger
- 8 dysgranulopoïèses majeures (> 50% d'éléments dystrophiques) (soit 7%)
- 1 SMD avec des PNN hypersegmentés
- 1 SMD avec anomalie pseudo-Pelger isolée
- 11 SMD ne présentent pas d'anomalies morphologiques notables après lecture du frottis sanguin en microscopie optique

Ces anomalies morphologiques de la lignée granuleuse sont probablement sous-estimées. En effet, certains SMD ne présentaient pas de critères de relecture définis par les règles d'expertise du laboratoire.

Concernant la morphologie plaquettaire, 10 SMD présentent une anisocytose plaquettaire, tandis que seulement trois ont des anomalies plus marquantes : plaquettes géantes (2 SMD), et micromégacaryocytes circulants (1 SMD).

Ces anomalies morphologiques observées sur le frottis sanguin, non spécifiques pour la plupart, ne sont donc retrouvées que chez la moitié des patients. Des alarmes déclenchées automatiquement par l'analyseur pour alerter sur un possible SMD pourraient permettre

ETUDE : RESULTATS

d'augmenter la relecture des lames d'intérêt, et donc de mettre en évidence davantage de signes de dysmyélopoïèse sur le frottis sanguin.

B) EXAMENS BIOCHIMIQUES

Les résultats des analyses biochimiques recommandées par le GFM dans sa conférence de consensus [15] ont été recueillis (Tableau 65).

Paramètre	Nb (%)	Moyenne	Médiane	Min	Max
Ferritine (µg/L)	83 (77)	650	434	23	2902
CRP (mg/L)	75 (69)	31	15	3,8	134,2
TSH (µUI/mL)	73 (67)	2	2	0,19	7,89
B12 (pg/mL)	79 (73)	675	481	49	2720
B9 (ng/mL)	80 (74)	7	7	2,90	16,10
Créatinine (mg/L)	100 (93)	92	82	38	624

Tableau 65 : Statistiques descriptives des analyses biochimiques des 108 SMD

C) MYÉLOGRAMME

La lecture et l'interprétation du myélogramme est une étape fondamentale du diagnostic des SMD. Le décompte des blastes et l'évaluation morphologique des lignées mégacaryocytaire, granuleuse et érythroblastique sont les paramètres incontournables à évaluer.

Sur les 108 SMD inclus, seuls 6 (6%) ne présentent pas de dysplasie significative : 5 SMD avec excès de blastes (3 SMD-EB-1, 2 SMD-EB-2), et 1 SMD avec dysplasie unilignée sans sidéroblaste en couronne (SMD-SLD). Dans les deux cas, le caryotype a permis d'affirmer le diagnostic.

(1) CELLULARITÉ MÉDULLAIRE

La lecture du myélogramme débute par l'évaluation de la cellularité médullaire au faible grossissement ($\times 10$). Les SMD sont classiquement décrits comme des hémopathies à moelle riche, contrastant avec les cytopénies périphériques.

Sur notre cohorte, plus de 80% des patients ont une cellularité médullaire normale voir augmentée, contre 96% pour la cohorte de SMD diagnostiqués au CHU de Nantes jusqu'en octobre 2009. Les moelles de cellularité diminuée représentent 16% des SMD (Figure 62).

ETUDE : RESULTATS

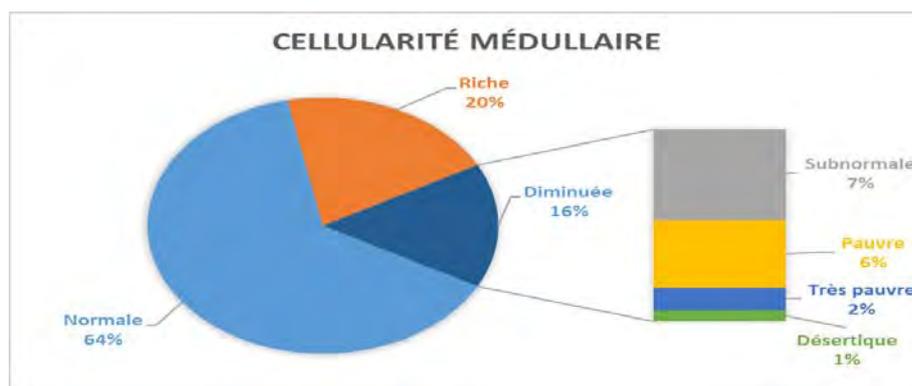


Figure 62 : Cellularité médullaire de la cohorte de 108 SMD au diagnostic

(2) LIGNÉE MÉGACARYOCYTAIRE

L'évaluation de la lignée mégacaryocytaire est réalisée à l'objectif $\times 10$. Cette analyse cytologique est à la fois quantitative et qualitative. Les mégacaryocytes sont présents en nombre normal voire augmenté dans 90% des cas (Tableau 66).

Evaluation quantitative	Nb (%)
Nombreux	4 (3)
Présence	97 (87)
Rares	3 (3)
Absence	8 (7)

Tableau 66 : Evaluation quantitative de la lignée mégacaryocytaire sur frottis médullaire

(3) EVALUATION DE LA BLASTOSE MÉDULLAIRE

L'évaluation de la blastose médullaire est réalisée par deux lecteurs différents, sur au moins 500 cellules (Tableau 67). Un excès de blaste, c'est-à-dire une blastose comprise entre 5 et 19%, est retrouvé dans 32 SMD, dont un seul avec des corps d'Auer.

	Blastes (%)
Moyenne	4,8
Médiane	3,0
Min	0
Max	18,0

Tableau 67 : Blastose médullaire des 108 SMD

ETUDE : RESULTATS

(4) EVALUATION DE L'ÉRYTHROBLASTOSE MÉDULLAIRE

La lignée érythroblastique représente 15% à 25% des cellules totales dans une moelle normale. Sur notre cohorte, 68 SMD (63%) présentent une érythroblastose médullaire (EB > 25%), et 7 (6,5%) une érythroblastopénie (EB < 10%) (Tableau 68). Sur la cohorte nantaise de 800 SMD au diagnostic, on retrouvait 49% d'érythroblastose et 9% d'érythroblastopénie.

EB totaux (%)	
Moyenne	30,2
Médiane	29,5
Min	0
Max	70,5

Tableau 68 : Evaluation quantitative de la lignée érythroblastique sur frottis médullaire

(1) ETUDE DE LA MORPHOLOGIE

L'étude morphologique du frottis médullaire s'attache à évaluer le nombre de lignées dysplasiques, la proportion d'éléments dysplasiques par lignée et le type d'anomalies morphologiques (Figure 63). Cette étude est fondamentale devant toute suspicion de SMD.

La présence d'au moins une lignée dysplasique est retrouvée dans 102 SMD (94%). Les 6 SMD (6%) pour lesquels ne sont pas retrouvées d'anomalies morphologiques sont 5 SMD avec excès de blastes (3 SMD-EB-1 et 2 SMD-EB-2) et un SMD avec dysplasie unilignée. Sur ces 5 SMD avec excès de blastes sans signes de dysmyélopoïèse, il est à noter que la cellularité médullaire était diminuée pour 4 d'entre eux, avec une moelle de richesse « subnormale », une « pauvre », une « très pauvre » et une « désertique ». On peut donc émettre l'hypothèse qu'il s'agit davantage d'une « non mise en évidence » de signes de dysplasie en raison de la cellularité diminuée plus que d'une réelle absence d'anomalie morphologique (le nombre d'éléments n'étant pas assez important pour pouvoir réaliser une analyse qualitative du frottis médullaire). Le SMD-DUL ne présentant pas de dysplasie médullaire correspond à une neutropénie réfractaire (OMS 2008), pour laquelle le diagnostic a été posé grâce au caryotype avec la mise en évidence d'une t(3;17).

On constate que plus de 40% des SMD présentent une dysplasie isolée, 30% une dysplasie bi-lignée et 20% une pan-dysplasie (Figure 63).

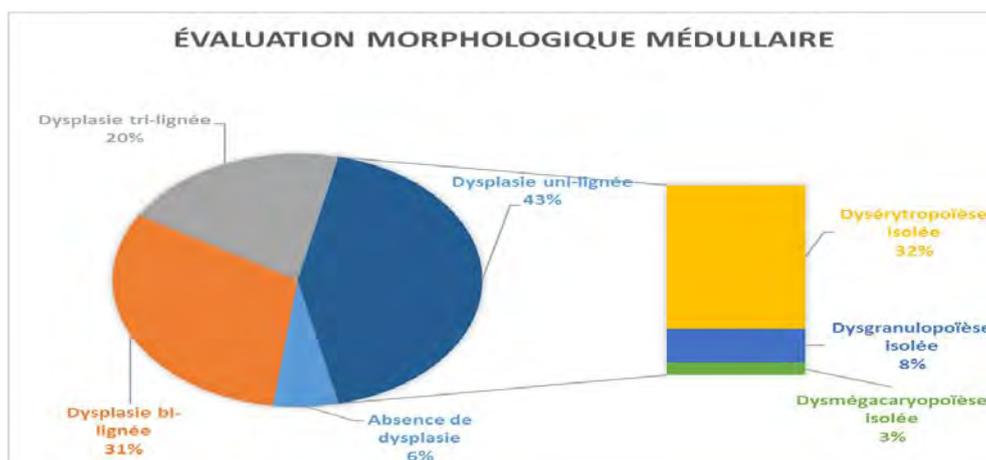


Figure 63 : Evaluation de la morphologie cellulaire myéloïde sur le frottis médullaire

III.2. SMD RÉPARTIS EN SOUS-CLASSES

A) SMD AVEC EXCÈS DE BLASTES

Au sein de la cohorte de 108 myélodysplasies, on dénombre 34 SMD avec excès de blastes (32%) : 16 SMD-EB-1 et 18 SMD-EB-2. Parmi ces SMD avec excès de blastes, 13 patients sont de sexe féminin (38%), 21 de sexe masculin (62%), soit un sexe-ratio H/F de 1,6. Concernant l'âge de ces patients, la médiane au diagnostic est de 77,4 ans (range : 57,9-91,2 ans). Les données de l'hémogramme sont résumées dans le Tableau 69.

Paramètres	Moyenne	Médiane	Min	Max
Hb (g/dL)	9.7	9.7	4.7	12.7
VGM (fL)	99,5	98,7	78,1	122,0
Réticulocytes (G/L)	75.9	61.0	8.0	296.0
Plaquettes (G/L)	135.7	95.0	8.0	455.0
Leucocytes (G/L)	3.7	2.8	1.1	14.5
PNN (G/L)	2.0	1.1	0.2	9.0
Ne-WX	413.5	394.0	279.0	648.0
IRF (%)	20.3	19.7	2.4	50.9
IPF (%)	13.3	11.6	2.5	33.4

Tableau 69 : Statistiques descriptives de l'hémogramme des SMD avec excès de blastes

ETUDE : RESULTATS

Sur ces 34 SMD avec excès de blastes, 31 patients ont une anémie (91%), 29 ont une hémoglobine inférieure à 11,5 g/dL (85%). Un seul patient présente une microcytose (VGM=78,1fL), tandis que la moitié ont une macrocytose. L'anémie est arégénérative (Réticulocytes < 100G/L) chez 24 patients (71%).

Concernant la numération plaquettaire, 24 patients ont une thrombopénie (Plaq < 150G/L ; 71%), dont 4 une thrombopénie sévère (Plaq < 50G/L ; 12%).

Une neutropénie (PNN < 1,5 G/L) est retrouvée chez 20 patients (59%), tandis que seuls 8 d'entre eux présentent des valeurs de PNN inférieures au seuil décrit dans l'IPSS (PNN < 0,8G/L ; 23%). La blastose médiane est de 3,0% (0%-15%), la myélémie de 1,0% (0%-18,0%).

L'étude morphologique du frottis sanguin retrouve une dysgranulopoïèse dans 10 cas (29%), dont 6 majeures et une anomalie de type pseudo-Pelger. La morphologie plaquettaire retrouve 6 anisocytoses, ainsi qu'un SMD avec la présence de micromégacaryocytes circulants et un avec des plaquettes géantes. Des signes de dysérythropoïèse (anisocytose, poïkilocytose, macrocytose) sont retrouvés dans 19 cas. Les SMD avec excès de blastes sont ceux qui présentent le plus d'anomalies morphologiques sur le frottis sanguin.

Le myélogramme retrouve une moelle de richesse normale ou augmentée dans près de trois quarts des cas (53% et 20% respectivement). Une cellularité diminuée est plus rare, avec des moelles de richesse subnormale (3%), pauvre (15%), très pauvre (6%) voire désertique (3%). La lignée mégacaryocytaire est bien représentée dans la majorité des SMD avec excès de blastes (73%), voire augmentée ou très augmentée (3% respectivement). Les mégacaryocytes sont diminués dans 21% des SMD avec excès de blastes : rares (3%) et absents (18%). Deux SMD avec excès de blastes ont une blastose médullaire < 5%, et le diagnostic a pu être porté sur les données du frottis sanguin (3% et 4% de blastes dans le sang, respectivement).

L'évaluation morphologique retrouve une dysplasie touchant les trois lignées myéloïdes dans 30% des cas. Lorsqu'une seule lignée présente des anomalies morphologiques (12 SMD, 18%), ce sont les lignées érythroïde (6 SMD) et granuleuse (4 SMD) qui sont les plus touchées, la dysmégacaryopoïèse isolée n'étant retrouvée que dans 2 SMD avec excès de blastes (Tableau 70).

ETUDE : RESULTATS

Evaluation morphologique médullaire des SMD avec excès de blastes	
Dysplasie uni-lignée	12 (18%)
Dysplasie bi-lignée	6 (18%)
Dysplasie tri-lignée	10 (29%)
Absence de dysplasie	6 (35%)

Tableau 70 : Etude morphologique médullaire des SMD avec excès de blastes

B) SMD AVEC DYSPLASIE MULTILIGNÉE

Au total, 34 SMD (31%) avec dysplasies multilignées ont été inclus, dont 8 avec sidéroblastose en couronne significative (24%). La médiane d'âge est de 79,2 ans (range : 53,2-88,2 ans), avec un sexe ratio H/F de 1,27. Les données de l'hémogramme sont résumées dans le Tableau 71.

L'anémie est arégénérative dans 85% des SMD avec dysplasie multilignée, macrocytaire dans 47% des cas, rarement sévère (Hb < 8 g/dL, 12%). Une thrombopénie est présente chez un peu moins de la moitié des patients (16, 47%) en prenant en compte les valeurs normales du laboratoire, et seulement chez 21% des SMD en utilisant les seuils de l'IPSS et de l'IPSS-R. Une neutropénie est présente dans 38% des SMD avec dysplasie multilignée. La myélémie médiane est de 0,4% (range : 0-8,4%).

Paramètres	Moyenne	Médiane	Min	Max
Hémoglobine (g/dL)	10,4	10,2	5,5	14,9
VGM (fL)	98,7	99,4	80,1	123,9
Réticulocytes (G/L)	65,3	62,1	15,0	128,0
Plaquettes (G/L)	179,1	161,0	43,0	505,0
Leucocytes (G/L)	5,2	4,7	1,4	17,4
PNN (G/L)	3,0	2,1	0,4	13,7
Ne-WX	370,9	369,5	292,0	504,0
IRF (%)	16,5	15,7	3,4	35,6
IPF (%)	8,2	5,7	0,1	25,2

Tableau 71 : Statistiques descriptives des données de l'hémogramme des SMD avec dysplasie multilignée

ETUDE : RESULTATS

Concernant la morphologie sur le frottis sanguin, seul un SMD-DML montre des signes de dysgranulopoïèse. Les morphologies érythrocytaire et plaquettaire ne montrent pas de signes francs de dysplasie (6 anisocytoses et poïkilocytoses, 6 anisocytoses avec macrocytose pour la lignée érythroïde, 1 anisocytose plaquettaire).

Le myélogramme retrouve des moelles de cellularité augmentée et normale (11 soit 32% et 20 soit 59% respectivement), et seulement trois moelles de richesse subnormale (9%). La lignée mégacaryocytaire est, elle aussi, bien représentée : mégacaryocytes en nombre normal (31, 91%) voire augmenté (6%). Seul un SMD (3%) avec dysplasie multilignée ne présente pas de mégacaryocyte visible sur le myélogramme.

L'étude de la morphologie médullaire montre plus volontiers une dysplasie bi-lignée (25 SMD, 74%), les dysplasies touchant les trois lignées myéloïdes étant plus rares (9 SMD, 26%). La dysgranulopoïèse est retrouvée dans 31 SMD avec dysplasie multilignée (91%) : modérée dans 28 SMD (dysgranulopoïèse > 10%), et majeure dans 3 (dysgranulopoïèse > 50%). Une dysérythropoïèse est observée dans 33 SMD-DML (94%), dont 28 dysérythropoïèses modérées et 5 majeures. La dysmégacaryopoïèse est retrouvée dans 12 cas (35%).

C) SMD-RS-DUL

Les SMD avec dysplasie unilignée et sidéroblastose en couronne significative représentent 23% des cas inclus dans la cohorte de 108 patients. La médiane d'âge est de 75,6 ans (58,4-96,8), et le sexe ratio H/F est de 1,4 (15 hommes, 11 femmes). Les résultats de l'hémogramme sont résumés dans le Tableau 72.

Les SMD-RS-DUL se présentent avec une anémie (selon les normes du laboratoire) dans 100% des cas, l'hémoglobine étant systématiquement inférieure à 11,5 g/dL. Cette anémie est macrocytaire dans plus de 50% des cas et arégénérative dans 88% (22/25). Les thrombopénies sont rares dans les SMD-RS-DUL (seulement 3 cas sur 25, soit 12%), avec une médiane de plaquettes haute par rapport aux autres sous-classes de SMD. La neutropénie est quasi-absente dans les SMD-RS-DUL de notre cohorte (1 selon le seuil de 1,8 G/L de l'IPSS-R, aucune en utilisant les normes du laboratoire). La médiane de myélémie est de 0,6% (range : 0-8,5%).

ETUDE : RESULTATS

Paramètres	Moyenne	Médiane	Min	Max
Hémoglobine (g/dL)	9,4	9,4	6,7	11,3
VGM (fL)	100,6	100,7	75,4	119,4
Réticulocytes (G/L)	63,9	51,5	32,2	193,4
Plaquettes (G/L)	310,4	335,0	50,0	484,0
Leucocytes (G/L)	6,4	6,3	3,2	11,0
PNN (G/L)	4,2	4,2	1,7	8,0
Ne-WX	389,6	377,0	306,0	509,0
IRF (%)	17,7	14,6	6,8	32,7
IPF (%)	6,3	5,7	0,0	17,1

Tableau 72 : Statistiques descriptives des données de l'hémogramme sur les SMD avec sidéroblastose en couronne significative et dysplasie unilignée

L'étude morphologique du frottis sanguin retrouve des signes de dysérythropoïèse non spécifiques (2 SMD avec des hématies à ponctuations basophiles, 3 avec des hématies cibles, et 16 avec une anisocytose et/ou une poïkylocytose et/ou une macrocytose). Une dysgranulopoïèse est observée dans 3 cas (dont 1 avec hypersegmentation des PNN, et 1 anomalie de Pelger), et des plaquettes géantes retrouvées dans un SMD.

Le myélogramme est de cellularité augmentée dans 3 SMD, normale dans 19, et diminuée dans seulement 3 cas (2 moelles subnormales et 1 pauvre). La lignée mégacaryocytaire est bien représentée dans 23 SMD-RS-DUL (92%).

ETUDE : RESULTATS

D) SMD-DUL ET SMD AVEC DEL(5Q)

Les SMD avec dysplasie unilignée et SMD avec del(5q) constituent 14% des 108 myélodysplasies étudiées (15 SMD). La médiane d'âge est de 79,7 ans (56,5-92,8), avec un sexe ratio H/F de 0,7 (6 hommes et 9 femmes). Les résultats de l'hémogramme des SMD-DUL et SMD avec del(5q) sont résumés ci-dessous (Tableau 73).

Paramètres	Moyenne	Médiane	Min	Max
Hémoglobine (g/dL)	10,3	10,5	7,3	13,1
VGM (fL)	99,1	101,3	79,0	113,0
Réticulocytes (G/L)	54,6	48,3	24,0	106,6
Plaquettes (G/L)	171,7	149,0	37,0	397,0
Leucocytes (G/L)	5,8	5,2	1,7	17,9
PNN (G/L)	4,0	3,3	1,0	13,9
Ne-WX	378,0	353,0	280,0	502,0
IRF (%)	16,1	13,9	2,8	29,4
IPF (%)	9,0	8,7	0	19,4

Tableau 73 : Statistiques descriptives des données de l'hémogramme des SMD avec dysplasie unilignée et SMD avec del(5q)

L'étude morphologique du frottis sanguin montre 2 anisocytoses plaquettaires, 2 dysgranulopoïèses (dont une majeure) et 4 frottis avec des signes de dysérythropoïèse (macrocytose, poïkylocytose, anisocytose). La myélémie est très discrète (médiane : 0,6%, range : 0-5,5%).

La moelle est de cellularité normale dans 12 SMD (1 moelle de cellularité augmentée et 2 subnormales), la lignée mégacaryocytaire est normalement représentée dans 14 SMD (93%, 1

ETUDE : RESULTATS

unique myélogramme avec de rares mégacaryocytes). La dysplasie médullaire des SMD avec del(5q) est tri-lignée dans 2 cas (dysgranulopoïèses et dysérythropoïèses modérées, avec mégacaryocytes aux noyaux hypolobulés) et unilignée dans les 2 autres cas (une dysgranulopoïèse modérée isolée et une dysmégacaryopoïèse isolée). Pour les SMD avec dysplasie unilignée, l'ensemble des anomalies morphologiques concerne la lignée érythrocytaire (9 dysérythropoïèses modérées > 10% et 2 dysérythropoïèses majeures > 50%).

E) COMPARAISON DES SOUS-GROUPES DE SMD

Le Tableau 74 résume les principaux paramètres d'intérêt de l'hémogramme dans le diagnostic de SMD (hémoglobine, VGM, plaquettes, polynucléaires neutrophiles), ainsi que les paramètres de recherche potentiellement utiles (Ne-WX pour la lignée granulocytaire, IRF pour la lignée érythroïde et l'IPF pour la lignée plaquettaire). Sont représentés ci-dessous, pour chaque paramètre, la médiane et la dispersion.

	SMD avec excès de blastes	SMD avec dysplasie multilignée	SMD-RS-DUL	SMD-DUL et SMD 5q-
Effectifs	34	34	25	15
Age (année)	77,4 (57,9-91,2)	79,2 (53,2-88,2)	75,6 (58,4-96,8)	79,7 (56,5-92,8)
Sexe ratio (H/F)	1,6	1,3	1,4	0,7
Hb (g/dL)	9,7 (4,7-12,7)	10,2 (5,5-14,9)	9,4 (6,7-11,3)	10,5 (7,3-13,1)
VGM (fL)	98,7 (78,1-122,0)	99,4 (80,1-123,9)	100,7 (75,4-119,4)	101,3 (79,0-113,0)
Plq (G/L)	95 (8-455)	161 (43-505)	335(50-484)	149 (37-397)
PNN (G/L)	2,8 (1,1-14,5)	2,1 (0,4-13,7)	4,2 (1,7-8,0)	3,3 (1,0-13,9)
Ne-WX	394,0 (279,0-648,0)	369,5 (292,0-504,0)	377,0 (306,0-509,0)	353,0 (280,0-502,0)
IRF (%)	19,7 (2,4-50,9)	15,7 (3,4-35,6)	14,6 (6,8-32,7)	13,9 (2,8-29,4)
IPF (%)	11,6 (2,5-33,4)	5,7 (0,1-25,2)	5,7 (0,0-17,1)	8,7 (0,0-19,4)

Tableau 74 : Comparaison des principaux paramètres d'intérêt de l'hémogramme entre les 4 sous-groupes de SMD

ETUDE : RESULTATS

Le Tableau 75 décrit les différents sous-groupes de SMD en fonction des seuils de l'hémoglobinémie, du VGM, des plaquettes et de la valeur absolue des neutrophiles.

Paramètres hémogramme		SMD-EB N (%)	SMD-DML N (%)	SMD-RS-DUL N (%)	SMD-DUL et SMD-5q- N (%)
Hb (g/dL)	< 11,5	29 (85)	24 (70)	25 (100)	11 (73)
	< 10,0	20 (59)	14 (41)	17 (68)	6 (40)
	< 8,0	4 (12)	4 (12)	2 (8)	2 (13)
VGM (fL)	> 100,0	16 (47)	16 (47)	14 (56)	8 (53)
	> 90,0	26 (76)	26 (76)	22 (88)	13 (87)
	< 80,0	1 (3)	1 (3)	1 (4)	1 (7)
Plaq (G/L)	< 150	24 (71)	16 (47)	3 (12)	8 (53)
	< 100	18 (53)	7 (21)	2 (8)	1 (7)
	< 50	4 (12)	2 (6)	0 (0)	1 (7)
PNN (G/L)	< 1,8	21 (62)	13 (38)	1 (4)	3 (20)
	< 1,5	20 (59)	13 (38)	0 (0)	3 (20)
	< 0,8	8 (23)	5 (15)	0 (0)	0 (0)

Tableau 75 : Sous-groupes de SMD et seuils des principaux paramètres d'intérêt de l'hémogramme

L'analyse plus fine des cytopénies (en tenant compte des normes du laboratoire) montre que la moitié des patients ont une cytopénie isolée (Figure 64). Les pancytopenies représentent près de la moitié des SMD avec excès de blastes (16 patients, 47,1%), contre moins de 10% des SMD sans excès de blastes (< 5%) (5 patients, 6,8%). Dans ces SMD sans excès de blastes, près de deux tiers des patients ont une cytopénie isolée (46 patients, 62,2%).

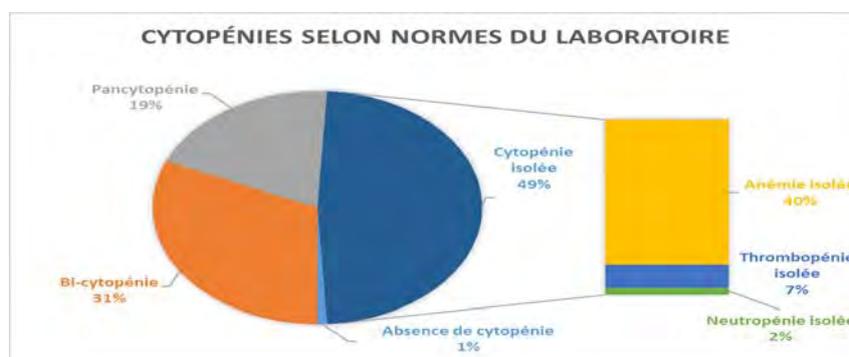


Figure 64 : Cytopénies selon les normes du laboratoire des 108 SMD

ETUDE : RESULTATS

La majorité des cytopénies isolées sont des anémies réfractaires (81%). Ces 43 anémies réfractaires concernent pour la moitié des cas des SMD-RS-DUL, et pour un quart des SMD avec dysplasie multilignée (Figure 65).

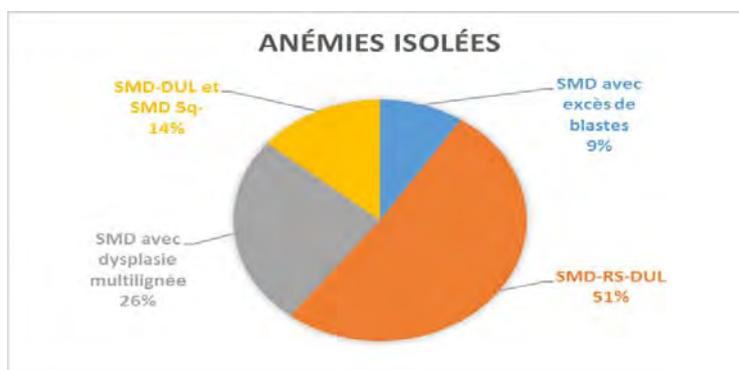


Figure 65 : Répartition des anémies isolées au diagnostic en fonction des sous-groupes de SMD

Le sexe ratio H/F est de 1,3. Les valeurs d'hémoglobine, de plaquettes et de neutrophiles de ces anémies isolées sont résumées dans le Tableau 76.

	Hb (g/dL)	Plq (G/L)	PNN (G/L)
Moyenne	9,4	310	4,4
Médiane	9,6	324	3,8
Min	6,0	168	1,7
Max	12,3	505	13,9

Tableau 76 : Statistiques descriptives de l'hémoglobine, des plaquettes et des neutrophiles dans les anémies isolées des SMD au diagnostic

Les thrombopénies isolées sont retrouvées dans 2 SMD avec excès de blastes (SMD-EB-1), 4 SMD avec dysplasie multilignée (SMD-DML) et un seul SMD avec dysplasie unilignée (SMD-DUL) (Tableau 77). Pour les 2 neutropénies isolées, on retrouve un SMD-DML et un SMD-DUL (Tableau 78). Soit pour ces 9 SMD avec thrombopénie ou neutropénie isolée : 5 SMD-DML (56%), 2 SMD-EB (22%) et 2 SMD-DUL (22%).

ETUDE : RESULTATS

SMD avec thrombopénie isolée			
Patient (SMD)	Hb (g/dL)	Plq (G/L)	PNN (G/L)
1 (SMD-EB-1)	12,3	138	2,16
2 (SMD-EB-1)	12,5	127	2,35
3 (SMD-DML)	14,2	53	9,73
4 (SMD-DML)	13,6	122	2,1
5 (SMD-DML)	13,6	129	3,06
6 (SMD-DML)	14,9	128	3,43
7 (SMD-DUL)	12,4	103	1,8
- Moyenne	13,4	114	3,5
- Médiane	13,6	127	2,4
- Min	12,3	53	1,8
- Max	14,9	138	9,7

Tableau 77 : SMD avec thrombopénie isolée : sous-groupes, hémoglobine, plaquettes et neutrophiles

SMD avec neutropénie isolée			
Patient (SMD)	Hb (g/dL)	Plq (G/L)	PNN (G/L)
1 (SMD-DML)	14,6	186	0,99
2 (SMD-DUL)	13,1	150	0,97

Tableau 78 : SMD avec neutropénie isolée : sous-groupes, hémoglobine, plaquettes et neutrophiles

ETUDE : RESULTATS

Les données concernant les SMD avec cytopénie isolée dans notre cohorte sont résumées dans le Tableau 79.

	Normes laboratoire			IPSS			IPSS-R		
	AI	TI	NI	AI	TI	NI	AI	TI	NI
N (%)	43 (83)	7 (13)	2 (4)	29 (64)	4 (9)	12 (27)	35 (74)	8 (17)	4 (9)
Hb (g/dL)	9,6 (6,0- 12,3)	10,7 (10,0- 14,2)	13,9 (13,1- 14,6)	8,6 (5,6- 9,8)	11,0 (10,1- 14,2)	11,0 (10,1- 14,2)	8,2 (4,7- 9,8)	10,7 (10,0- 14,2)	12,7 (10,9- 14,1)
Pla _q (G/L)	324 (168- 505)	66 (23- 98)	168 (150- 186)	300 (107- 505)	61 (45- 91)	61 (45- 91)	292 (107- 505)	66 (23- 98)	129 (104- 164)
PNN (G/L)	3,8 (1,7- 13,9)	1,8 (0,8- 9,7)	1,0 (1,0- 1,0)	4,2 (2,4- 8,5)	3,6 (2,4- 9,7)	3,6 (2,4- 9,7)	3,8 (1,0- 8,5)	1,8 (0,8- 9,7)	0,6 (0,4- 0,8)
SMD- DUL et 5q-	6	1	1	5	-	3	5	-	-
SMD- RS-	22	-	-	14	-	-	15	-	-
DUL SMD-	11	4	1	6	3	6	9	4	3
DML SMD-	4	2		4	1	3	6	4	1
EB									

Tableau 79 : Principales caractéristiques des SMD avec cytopénie isolée en tenant compte des normes du laboratoire, de l'IPSS et de l'IPSS-R

Les principales caractéristiques quantitatives médullaires des 4 sous-groupes de SMD sont résumées dans le Tableau 80 : cellularité médullaire, richesse en mégacaryocytes, pourcentage de blastes et d'érythroblastes médian et la dispersion. Le Tableau 81 résume quant à lui les anomalies morphologiques médullaires : dysgranulopoïèse, dysérythropoïèse et dysmégacaryopoïèse.

ETUDE : RESULTATS

	SMD avec excès de blastes	SMD avec dysplasie multilignée	SMD-RS-DUL	SMD-DUL et SMD 5q-
Cellularité médullaire	Riche : 7 Normale : 18 Subnormale : 5 Pauvre : 2 Très pauvre : 2 Désertique : 1	Riche : 11 Normale : 20 Subnormale : 3	Riche : 3 Normale : 19 Subnormale : 2 Pauvre : 1	Riche : 1 Normale : 12 Subnormale : 2
Mégacaryocytes	Très nombreux : 1 Nombreux : 1 Présence : 25 Rares : 1 Absence : 1	Nombreux : 2 Présence : 31 Absence : 1	Nombreux : 1 Présence : 22 Rares : 1 Absence : 1	Présence : 14 Rares : 1
Blastes (%)	9 (2-18)	3 (0-4,5)	1,5 (0-3,5)	1,5 (0,5-4,0)
EB totaux	26,0 (0-70,5)	29,3 (7,0-64,0)	33,0 (11,0-60,0)	27,0 (12,5-49,5)

Tableau 80 : Comparaison des principaux paramètres quantitatifs du myélogramme entre les 4 sous-groupes de SMD

	SMD avec excès de blastes	SMD avec dysplasie multilignée	SMD-RS-DUL	SMD-DUL et SMD 5q-
Dysgranulopoïèse	→ 20/34 (59%) > 10% : 9 > 50% : 11	→ 31/34 (91%) > 10% : 28 > 50% : 3	→ Absence	→ 3/15 (20%) > 10% : 3
Dysérythropoïèse	→ 22/34 > 10% : 19 > 50% : 3	→ 33/34 (97%) > 10% : 27 > 50% : 6	→ 25/25 (100%) > 10% : 15 > 50% : 10	→ 12/15 (80%) > 10% : 10 > 50% : 2
Dysmégacaryopoïèse	→ 12/34 (35%)	→ 13 /34 (38%)	→ Absence	→ 3/15 (20%)

Tableau 81 : Comparaison de la morphologie médullaire entre les 4 sous-groupes de SMD

III.3. CYTOGÉNÉTIQUE

Sur les 108 patients inclus dans la cohorte, l'étude cytogénétique a été réalisée chez 96 patients (89%). Sur ces 96 caryotypes, 93 ont été analysables (97%, 3 échecs), proportion similaire à ce qui est retrouvé dans la littérature (97,6%, dans l'étude de Haase D., et al. [31]). Les caryotypes sont normaux dans 55% des cas, les anomalies les plus fréquentes étant les del(5q) (6,5%), les pertes isolées du Y (3,7%), et les del(20q), monosomies 7, trisomies 8 (2,8% respectivement). Un caryotype complexe est retrouvé dans 6,5% des cas (Figure 66).

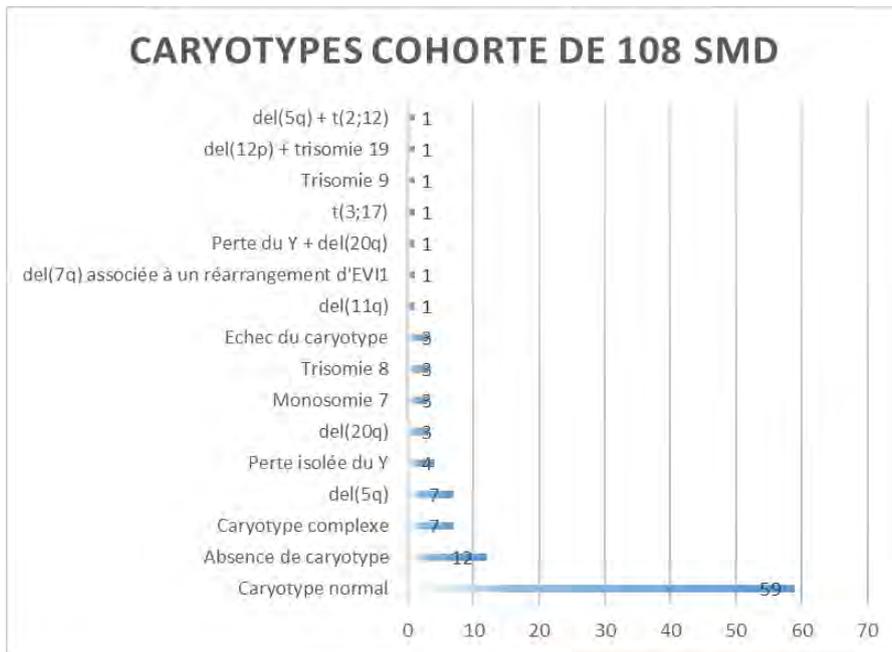


Figure 66 : Répartition des caryotypes sur la cohorte de 108 SMD au diagnostic

Les caryotypes complexes sont quasi exclusivement retrouvés dans les SMD avec excès de blastes (6/7), tout comme les monosomies du chromosome 7 (2/3) (Figure 67). Des anomalies de bon pronostic cytogénétique sont également retrouvées dans ces SDM avec excès de blastes (perte isolée du Y, del(20q), del(5q)).

ETUDE : RESULTATS

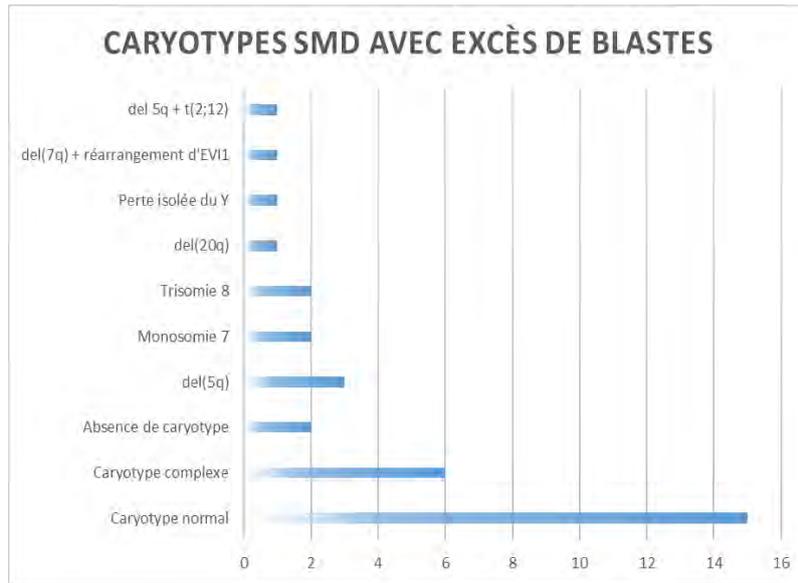


Figure 67 : Répartition des caryotypes des SMD avec excès de blastes

Les anomalies cytogénétiques sont plus rares dans les autres sous-groupes de SMD. Dans les SMD avec dysplasie multilignée, un seul caryotype complexe et une monosomie 7 sont retrouvés, le caryotype étant normal dans plus de 70% des cas. (Figure 68).

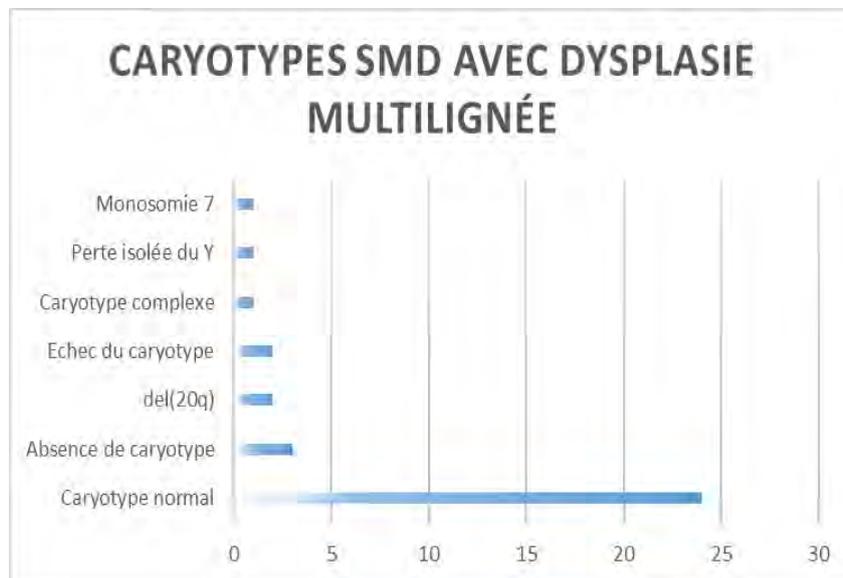


Figure 68 : Caryotypes des SMD avec dysplasie multilignée

Concernant les SMD avec dysplasie unilignée et sidéroblastose en couronne significative (SMD-RS-DUL), les caryotypes sont normaux dans 50% des cas et il n'y a pas d'anomalies de

ETUDE : RESULTATS

mauvais pronostic. Près d'un quart des SMD n'ont pas de caryotypes associés dans cette catégorie (Figure 69). Les caryotypes des SMD-DUL sont représentés dans la Figure 70.

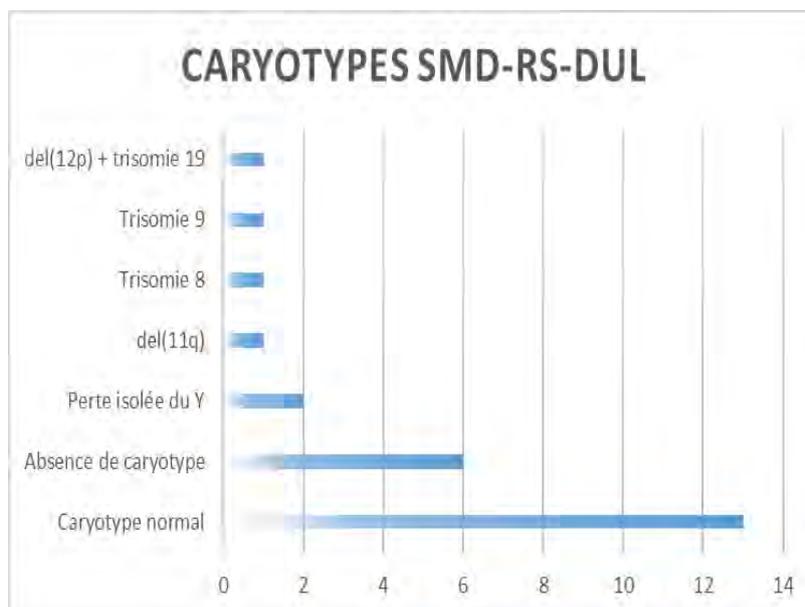


Figure 69 : Caryotypes des SMD avec dysplasie unilignée et sidéroblastose en couronne significative (SMD-RS-DUL)

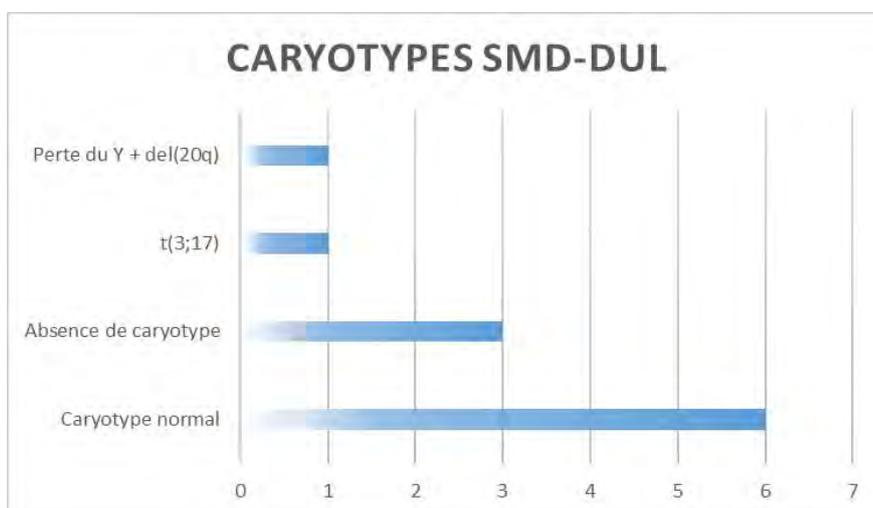


Figure 70 : Caryotypes des SMD avec dysplasie unilignée

Les caryotypes ont été également classés en fonction du pronostic définit par les scores IPSS (Figure 71) et IPSS-R (Figure 72).

ETUDE : RESULTATS



Figure 71 : Répartition des caryotypes selon le pronostic de l'IPSS

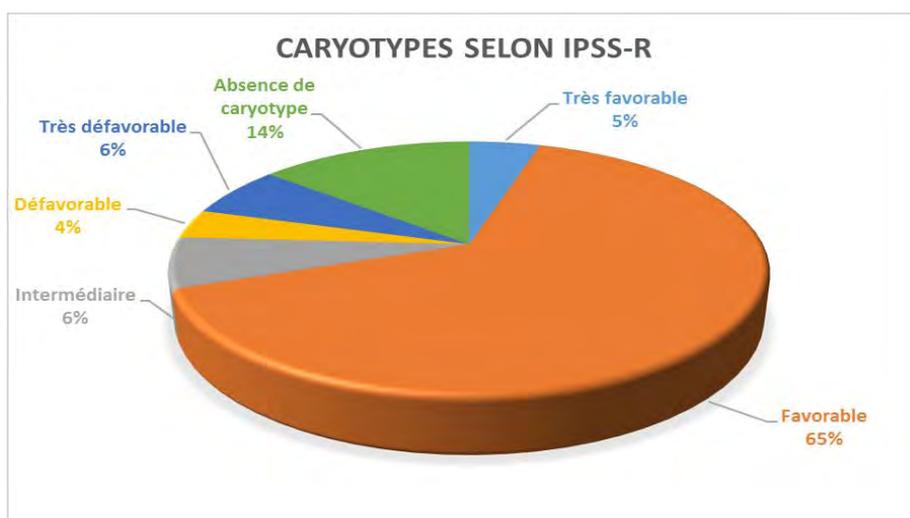


Figure 72 : Répartition des caryotypes selon le pronostic de l'IPSS-R

III.4. PRISE EN CHARGE THÉRAPEUTIQUE

Le choix de la prise en charge des SMD dépend du score IPSS, qui définit deux grands groupes de SMD : ceux de faible risque et ceux de haut risque.

A) SMD DE FAIBLE RISQUE

Les SMD de faible risque sont définis par un IPSS faible (score = 0) ou intermédiaire-1 (score = 0,5–1).

Les SMD de faible risque représentent 80% des SMD inclus dans la cohorte d'étude avec un caryotype disponible (74 SMD). On y retrouve 15 SMD avec excès de blastes, 28 SMD avec dysplasie multilignée, 19 SMD avec sidéroblastes en couronne et dysplasie unilignée, 4 SMD avec del(5q) et 8 SMD avec dysplasie unilignée (Figure 73).

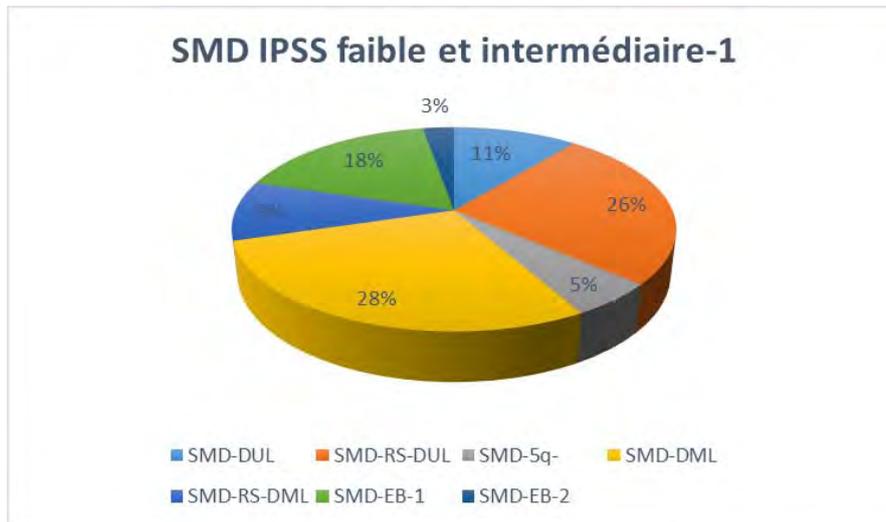


Figure 73 : Répartition des sous-groupes de SMD de faible risque selon l'IPSS

L'abstention thérapeutique et les ASE constituent la majorité des stratégies de première ligne dans les SMD de faible risque (22 et 35 patients respectivement). Les autres stratégies thérapeutiques sont plus rares : 2 patients ont reçu du lénalidomide, 4 ont bénéficié d'un support transfusionnel, 1 patient présentant un SMD-EB-1 a été mis sous azacitidine, et un a été inclus dans le protocole ASTRAL (dans le bras azacitidine + binocrit®). Deux patients ont été traités pour leurs myélomes, et deux ont eu une prise en charge spécifique de la thrombopénie (un patient traité par cortancyl® et un par romiplostim) (Figure 74).

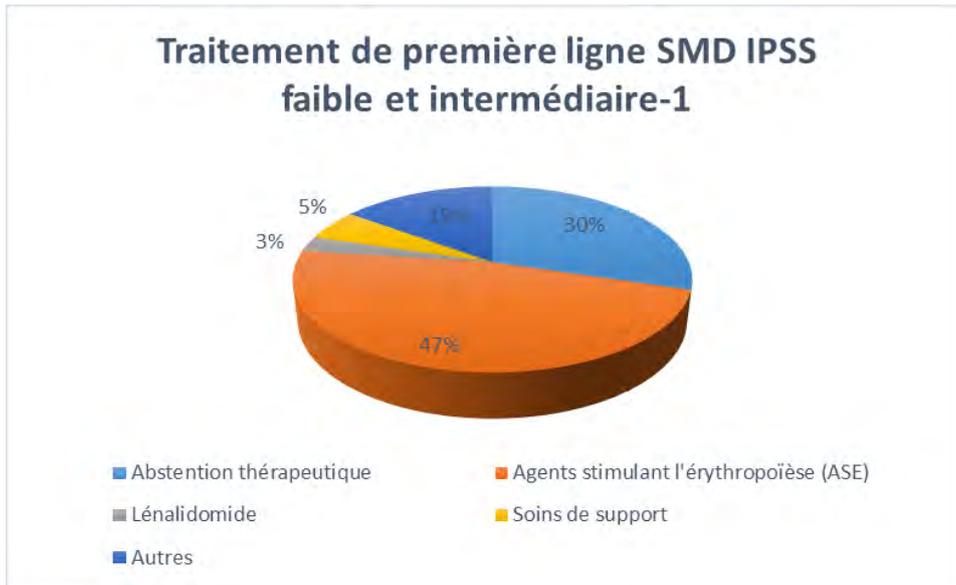


Figure 74 : Traitements des SMD de faible risque

Parmi les patients en abstention thérapeutique, 19 sont restés en simple surveillance durant la durée de l'étude (86%), 1 patient a reçu de l'AZA en seconde ligne (arrêt sur intolérance puis support transfusionnel), et un a été mis sous ASE (Aranesp®) puis sous AZA en raison d'une évolution de son SMD-RS-DUL en SMD-EB-2 avant d'être finalement allogreffé.

Parmi les patients ayant reçu des ASE en première ligne, 24 les ont poursuivis : 14 à la même posologie, 12 avec une augmentation des doses (dont 2 avec des transfusions en sus). Deux patients ont arrêté l'EPO sans reprise d'un autre traitement (dont un en raison d'un AVC), et deux autres en faveur de soins de support, lié à une perte de réponse.

B) SMD DE HAUT RISQUE

Les SMD de haut risque sont définis par un IPSS intermédiaire-2 (1,5–2) et élevé (>2).

Parmi les 108 SMD étudiés, 19 sont de haut risque comprenant 17 SMD avec excès de blastes (14 SMD-EB-2 et 3 SMD-EB-1) et 2 SMD avec dysplasie multilignée. Les traitements de première ligne des myélodysplasies de haut risque sont résumés dans la Figure 75.

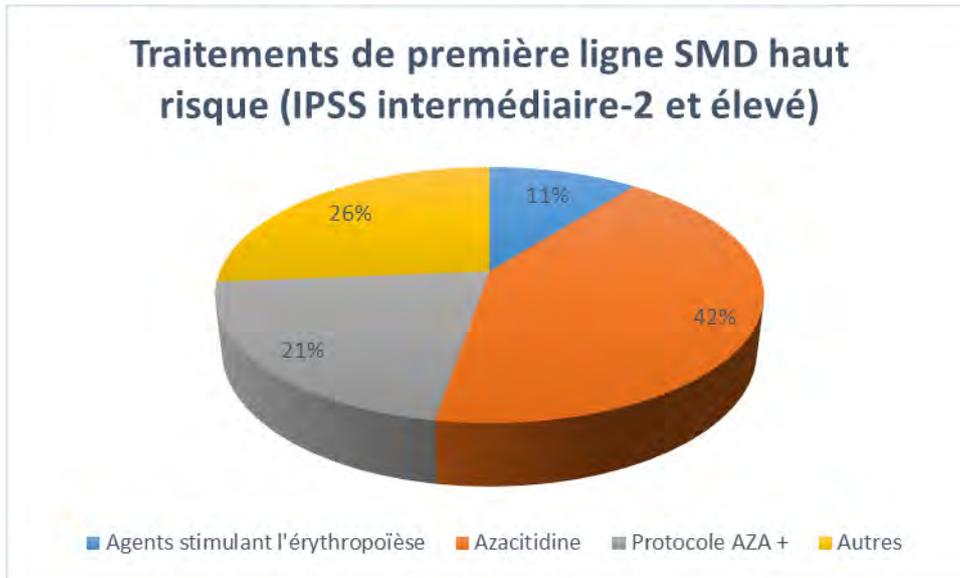


Figure 75 : Traitements des SMD de haut risque

Plus de 40% des patients ont bénéficié d'un traitement par azacitidine en première ligne. Parmi ces patients traités par agents hypométhylants, 3 ont en plus bénéficié de transfusions régulières, et 1 d'injections d'EPO. Trois patients sont toujours en cours de traitement par AZA. Deux SMD se sont acutisés en LAM, dont un après 7 cures d'AZA. Non éligibles à une allogreffe, ils ont bénéficié d'un support transfusionnel. Une perte de réponse a été constatée chez un patient après 6 cures, et une rechute objectivée après 9 cycles avec un myélogramme montrant 14% de blastes. Ce patient étant inéligible au protocole AZA-LEN, il a bénéficié de soins de support.

Un patient a été traité par Aranesp[®] 500µg toutes les trois semaines puis toutes les semaines, avant d'être allogreffé en février 2015 après une perte de réponse et une évolution fibrotique. Quatre patients ont été inclus dans le protocole AZA+ : 1 dans le bras AZA seul, 1 dans le bras AZA-dépakine, 1 dans le bras AZA-idarubicine et 1 dans le bras AZA-LEN. Le LEN a été arrêté en raison de sa toxicité (poursuite AZA seul), la dépakine également en raison d'une pancréatite aiguë Balthazar E (poursuite AZA seul, patient en RC), l'idarubicine a été stoppée au bout de 6 cycles sur mauvaise tolérance (poursuite AZA en monothérapie pendant 6 cycles, puis rechute et inclusion dans le protocole SGI-110).

Les « autres » traitements de première ligne ont consisté en un soin de support, une allogreffe géno-identique, un protocole AZA-exjade-Vitamine D et un traitement par LEN (arrêt rapide au bout d'un mois sur mauvaise tolérance, introduction d'AZA en monothérapie).

III.5. SCORE DE DÉPISTAGE DES SMD

A) LIMITES DU PARAMÈTRE NEUT-SSC DANS L'AIDE AU DIAGNOSTIC DES SMD

Le paramètre NEUT-SSC (Neutro-X sur les automates de la précédente génération de type XE), qui évalue la complexité et donc la granulosité des neutrophiles, est classiquement utilisé comme une aide au diagnostic des SMD dans les laboratoires d'hématologie. Nous avons étudié ce paramètre préalablement à cette étude, afin de préciser sa valeur et son intérêt dans les myélodysplasies.

Les patients témoins (n = 20) présentaient une anémie (Hb médiane : 9,6 g/dL) associée à un NEUT-SSC bas, c'est-à-dire inférieur à 141 [163]. Ces patients témoins n'avaient pas d'hémopathies. Une analyse morphologique attentive du frottis sanguin était alors réalisée. Sur ces 20 témoins :

- 12 ne montraient pas de signes de dysplasie (patients infectés, patients sous chimiothérapie),
- 1 patient présentait des signes de souffrance cellulaire,
- 1 patient greffé avait des PNN avec une condensation anormale de la chromatine (anomalie morphologique typiquement retrouvée sous traitement par Cellcept[®], comme c'était le cas pour ce patient).
- seulement 6 patients montraient des signes de dysgranulopoïèse (1 modérée pour un patient sous chimiothérapie et 5 majeures concernant des patients sous chimiothérapie ou infectés).

En plus de ces témoins sans hémopathie, les données de patients anémiés avec un NEUT-SSC bas et une hémopathie ont été recensées :

- 14 patients avec une hémopathie non SMD (LAL, LAM, SMP) (Hb médiane = 8,9 g/dL)
- 18 patients avec un SMD prouvé : 1 ne montrant pas de signe de dysplasie, 4 une dysplasie modérée (Neutro-SSC médian = 138) et 12 une dysplasie majeure (Neutro-SSC médian = 129).

ETUDE : RESULTATS

Les résultats obtenus ont permis de démontrer que le seuil fixé par Sysmex® pour le NEUT-SSC n'était pas assez discriminant pour le dépistage des SMD (Figure 76).

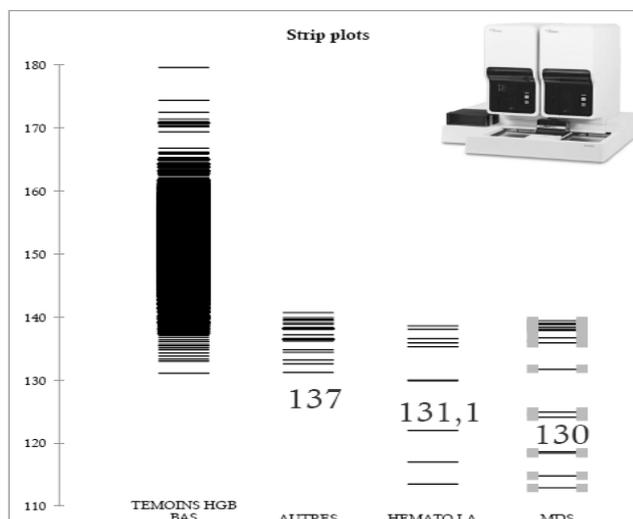


Figure 76 : Comparaison du Neutro-SSC chez des patients anémiés en fonction du contexte clinique

Ces travaux nous ont donc encouragés à poursuivre notre travail sur l'intérêt de l'analyseur XN-10® dans le dépistage des SMD, afin de disposer d'un outil d'aide au diagnostic de cette hémopathie plus performant. Nous avons notamment constaté, sur notre cohorte de 108 SMD au diagnostic, que le NEUT-SSC est significativement différent entre les myélodysplasies et les 2000 témoins en analyse univariée ($p < 0,0001$), mais pas en multivariée. L'AUC est de 0,681 [0,606-0,757].

B) SEUIL DES CYTOPÉNIES

Il est clairement mentionné dans la classification OMS 2016 que la présence d'une cytopénie est « *la condition sine qua non pour le diagnostic de SMD* ». Or, il est indispensable dans le but d'établir un score de dépistage des SMD, de déterminer quels seuils de cytopénies utiliser. Déterminer ces seuils apparaît particulièrement important depuis les récentes descriptions des *CHIP* [33] [34], *ICUS* [37] [39] [41], *CCUS* [38] et *IDUS* [40], nouvelles entités de troubles hématopoïétiques indolents pouvant constituer des états pré-myélodysplasiques.

Les seuils utilisés dans l'OMS pour les cytopénies sont ceux de l'IPSS [77]. Or, les scores IPSS et IPSS-R sont des scores pronostiques et non des scores diagnostiques : les seuils

ETUDE : RESULTATS

définissant les cytopénies sont plus bas que les valeurs de référence classiquement utilisées au sein des laboratoires.

En se basant sur la base de données de l'*International Working Group for Prognosis in SMD (IWG-PM)*, Greenberg et al. constatent qu'en utilisant les seuils de cytopénie de l'OMS, 18% des patients avec SMD (et 23% de ceux ayant moins de 5% de blastes dans la moelle) n'ont pas de cytopénie. En utilisant les valeurs de référence du laboratoire, seuls 1,8% des patients sur les 7012 SMD étudiés ne présentent pas de cytopénie [174].

De plus, il existe des variations liées aux origines ethniques, à l'âge, et au sexe pour l'hémoglobine [175], et les plaquettes [176] [177].

En se basant sur cette publication de Greenberg et al., nous avons établis trois tableaux en déterminant le nombre de cytopénies selon les seuils fixés respectivement par l'IPSS (Tableau 83), l'IPSS-R (Tableau 84) et les valeurs normales du laboratoire (Tableau 82).

Valeurs normales du laboratoire [173] :

- Hb \geq 12,5g/dL chez les femmes
- Hb \geq 13,0g/dL chez les hommes
- Plaquettes \geq 150G/L
- PNN \geq 1,5G/L

Seuil cytopénies selon critères du laboratoire

Blastes	Pas de cytopénies		1 cytopénie		2 cytopénies		3 cytopénies		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
< 5%	0	0,0	46	62,2	23	31,1	5	6,8	74	100
> 5%	1	2,9	6	17,6	11	32,4	16	47,1	34	100
Total	1	0,9	52,0	48,1	34	31,5	21	19,4	108	

Tableau 82 : Distribution des 108 SMD selon le nombre de cytopénies en utilisant les valeurs de référence du laboratoire, d'après Greenberg P., et al. [174]

Dans les scores IPSS et IPSS-R, le sexe des patients n'est pas pris en compte dans la détermination des normes de l'Hb.

Valeurs seuils de l'IPSS (et de l'OMS) définissant une cytopénie [77] :

- Hb < 10g/dL
- Plaquettes < 100G/L
- PNN < 1,8G/L

ETUDE : RESULTATS

<i>Seuil cytopénies selon critères de l'IPSS</i>										
Blastes	Pas de cytopénies		1 cytopénie		2 cytopénies		3 cytopénies		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
< 5%	24	32,4	37	50,0	11	14,9	2	2,7	74	100
> 5%	5	14,7	8	23,5	12	35,3	9	26,5	34	100
Total	29	26,9	45	41,7	23	21,3	11	10,2	108	

Tableau 83 : Distribution des 108 SMD selon le nombre de cytopénies en utilisant les valeurs seuils définies par le score IPSS, d'après Greenberg P., et al. [174]

Valeurs seuils de l'IPSS-R définissant une cytopénie [108] :

- Hb < 10g/dL
- Plaquettes < 100G/L
- PNN < 0,8G/L

<i>Seuil cytopénies selon critères de l'IPSS-R</i>										
Blastes	Pas de cytopénies		1 cytopénie		2 cytopénies		3 cytopénies		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
< 5%	30	40,5	36	48,6	8	10,8	0	0,0	74	100
> 5%	7	20,6	11	32,4	13	38,2	3	8,8	34	100
Total	37	34,3	47	43,5	21	19,4	3	2,8	108	100

Tableau 84 : Distribution des 108 SMD selon le nombre de cytopénies en utilisant les valeurs seuils définies par le score IPSS-R, d'après Greenberg P., et al. [174]

Les résultats obtenus sur les 108 SMD inclus sont similaires à ceux retrouvés dans l'étude de Greenberg et al. En utilisant les valeurs de référence du laboratoire, seul un patient ne présente pas de cytopénie (0,9%), contre 29 pour l'IPSS (27%) et 37 pour l'IPSS-R (34%). Parmi les 29 SMD ne présentant pas de cytopénies selon les critères de l'IPSS, on dénombre 5 SMD avec excès de blastes (SMD-EB-1), 8 SMD-RS-DUL, 10 SMD avec dysplasie multilignée (SMD-DML), 4 SMD-DUL et 2 SMD avec del(5q).

Ces travaux de Greenberg permettent de mettre en avant le fait que les deux principaux scores utilisés dans les SMD sont des scores pronostics. Les seuils définissant les cytopénies à

ETUDE : RESULTATS

prendre en compte lorsque qu'un SMD est suspecté seraient donc plutôt ceux du laboratoire qui correspondent aux valeurs normales de l'adulte.

C) PARAMÈTRES D'INTÉRÊTS : ANALYSE UNIVARIÉE ET MULTIVARIÉE

Afin d'établir un algorithme de dépistage des SMD à partir d'un prélèvement sanguin, il est nécessaire dans un premier temps d'identifier les paramètres d'intérêts permettant de discriminer SMD et témoins.

Une analyse univariée et multivariée a été réalisée. En univariée, l'âge ($p=0,0005$) et 6 paramètres de l'hémogramme montrent une différence significative entre les SMD et les témoins. En multivariée, les paramètres de l'hémogramme qui se sont révélés significativement différents entre les SMD et les témoins sont l'hémoglobine, le VGM, la valeur absolue des neutrophiles et le Ne-WX ($p<0,0001$) (Tableau 85).

Variable	MDS		Univariée		Multivariée	
	Non	Oui	OR [IC95%]	p	OR [IC95%]	p
Age	71.78 ± 12.86	76.35 ± 9.66	1.03 [1.01-1.05]	0.0005	-	-
PNN (G/L)	6.53 ± 5.04	3.14 ± 2.6	0.61 [0.54-0.69]	<0.0001	0,62 [0,53-0,73]	<0.0001
Ne-WX	322.54 ± 23.35	389.59 ± 71.6	1.04 [1.03-1.04]	<0.0001	1,03 [1,02-1,04]	<0.0001
Hb (g/dL)	12.45 ± 2.16	9.95 ± 1.93	0.59 [0.53-0.66]	<0.0001	0,70 [0,60-0,82]	<0.0001
VGM (fL)	91.02 ± 5.84	99.36 ± 10.62	1.17 [1.13-1.21]	<0.0001	1,13 [1,08-1,17]	<0.0001
Plaq (G/L)	248.69 ± 98.2	195.84 ± 126.53	0.99 [0.99-1]	<0.0001	-	-
Q-Flag	81.83 ± 13.88	94.95 ± 52.42	1.02 [1.01-1.03]	<0.0001	-	-

Tableau 85 : Analyse univariée et multivariée du risque de maladie

ETUDE : RESULTATS

Le paramètre « Q-Flag » correspond à une alarme déclenchée automatiquement par l'analyseur (alarme « blastes » par exemple).

Le modèle final sur lequel le score sera calculé est donc composé de l'hémoglobine et du VGM, de la valeur absolue des neutrophiles et du Ne-WX.

En plus de discriminer les patients présentant un SMD des patients témoins, il est intéressant de rechercher si certains paramètres sont susceptibles de distinguer les sous-groupes de SMD entre eux :

- l'hémoglobine et le VGM sont significativement différents des témoins ($p < 0,01$), mais ne permettant cependant pas de différencier les sous-groupes entre eux (Figures 77 et 78).
- dans le sous-groupe des patients avec SMD-RS-DUL, le nombre de plaquettes est similaire à celui des témoins et donc significativement plus élevé que celui des patients avec SMD-EB ou SMD-DML ($p < 0,01$) (Figure 79).
- par ailleurs, le taux de PNN est significativement abaissé chez les patients avec SMD-DML ou SMD-EB par rapport aux SMD-RS-DUL (Figure 80).

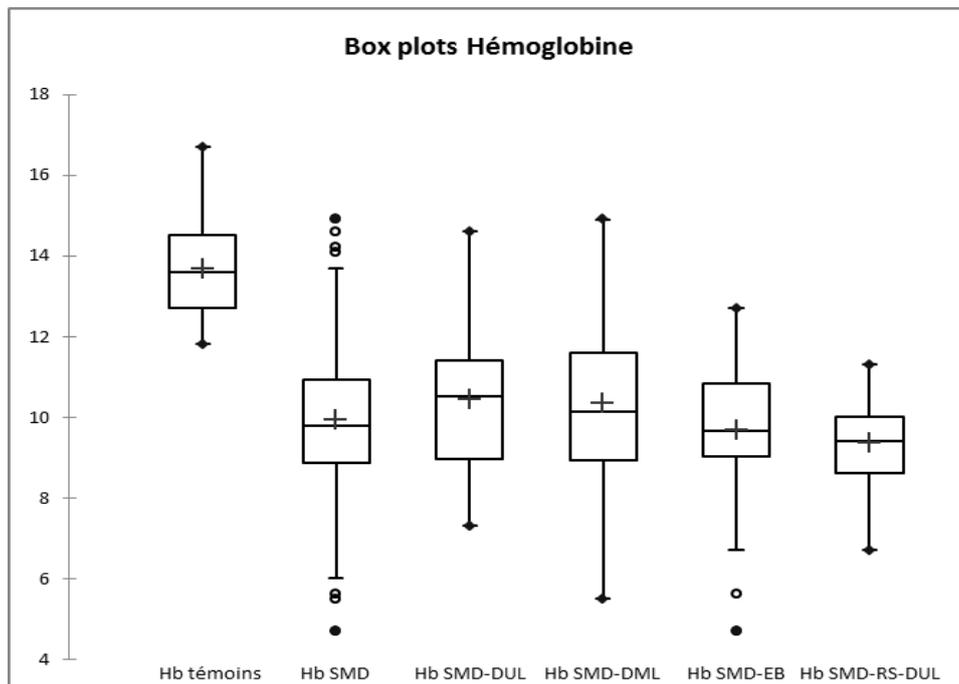


Figure 77 : Comparaison de l'hémoglobinémie entre les témoins et les 4 sous-groupes de SMD

ETUDE : RESULTATS

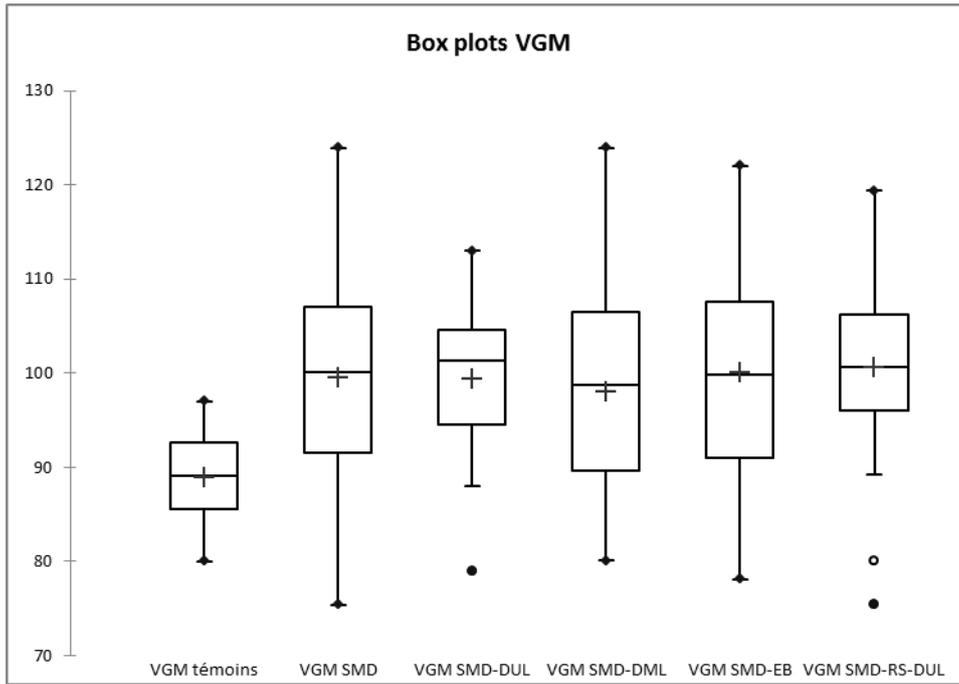


Figure 78 : Comparaison du VGM entre les témoins et les 4 sous-groupes de SMD

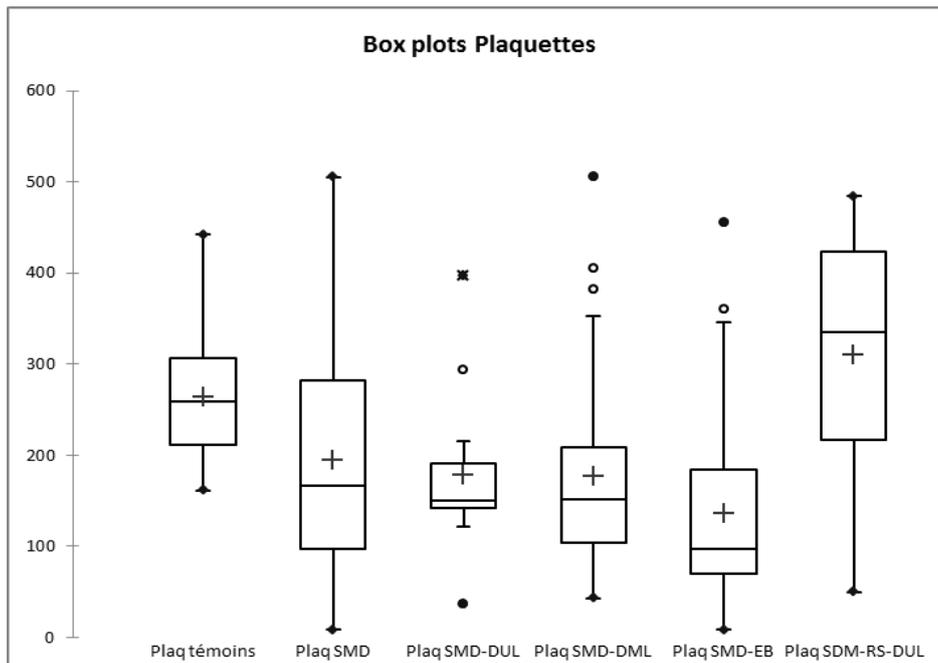


Figure 79 : Comparaison de la numération plaquettaire entre les témoins et les 4 sous-groupes de SMD

ETUDE : RESULTATS

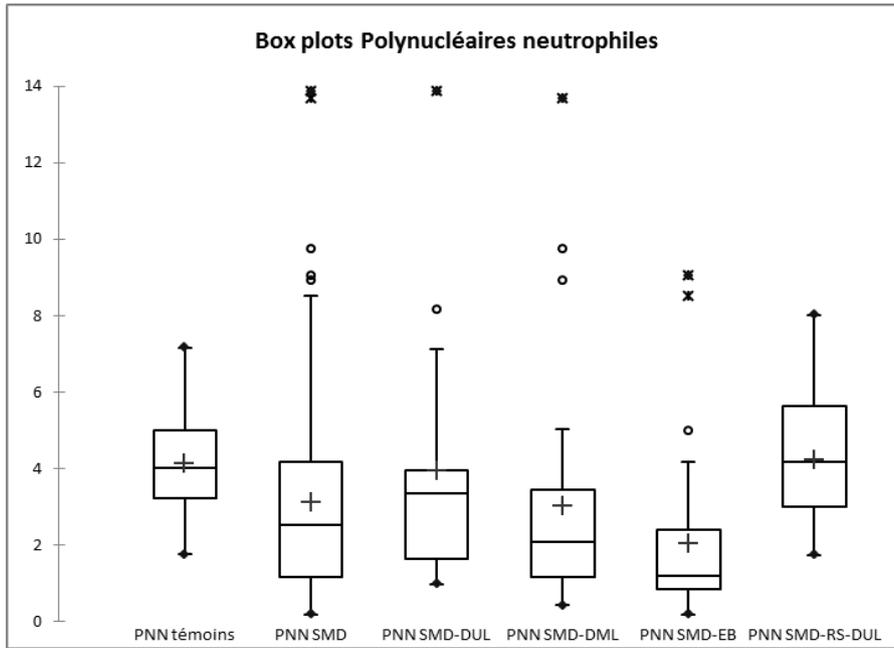


Figure 80 : Comparaison de la numération des neutrophiles entre les témoins et les 4 sous-groupes de SMD

Nous avons identifié le Ne-WX, nouveau paramètre disponible sur l'analyseur XN-10[®], comme étant un paramètre d'intérêt : il est significativement plus élevé dans les 4 sous-groupes de SMD que chez les témoins ($p < 0,01$) (Figure 81). Le seuil de discrimination est fixé à 358,5.

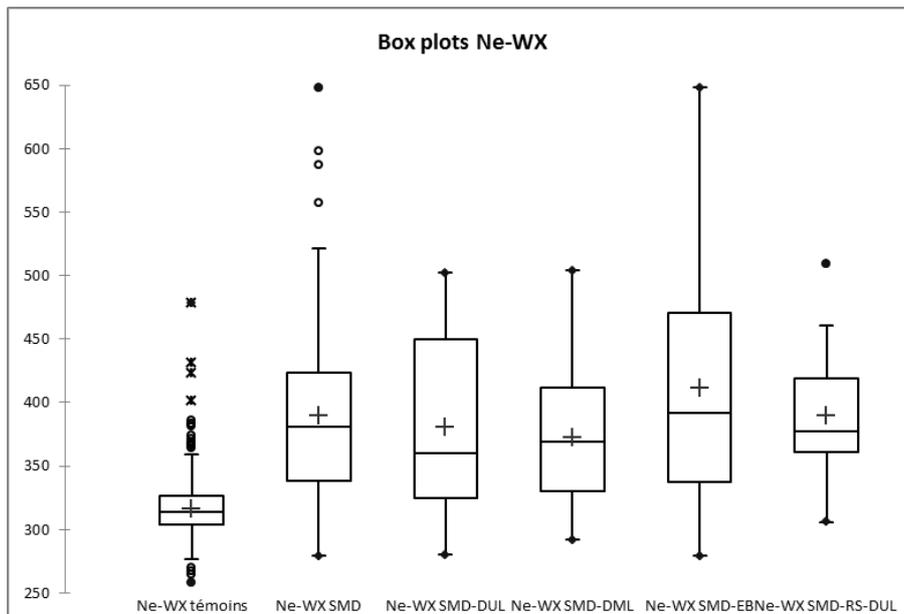


Figure 81 : Comparaison du Ne-WX entre les témoins et les 4 sous-groupes de SMD

ETUDE : RESULTATS

Conformément à ce que nous avons constaté, le NEUT-SSC s'avère moins informatif que le Ne-WX : moins de 30% des SMD ont un NEUT-SSC inférieure aux valeurs normales, contre plus de 70% pour le Ne-WX. En analyse multivariée, il n'y a pas de différence significative entre les SMD et les témoins pour le NEUT-SSC, contrairement au Ne-WX.

D) EQUATION DU MODÈLE

(A) SCORE DE DÉPISTAGE

L'étude comparative de l'ensemble des échantillons (2099 NFS de routine et 108 SMD) a permis d'établir une équation du score de dysplasie des SMD à partir d'une NFS :

$$\text{Score SMD} = 1 / (1 + \exp(- (-14.5159 - 0.4580 \times \text{PNN} + 0.0304 \times \text{Ne-WX} - 0.5618 \times \text{Hb} + 0.1044 \times \text{VGM})))$$

Le Tableau 86 représente les sensibilités et les spécificités du score en fonction du seuil : le seuil de 0,0467 permet d'avoir une meilleure sensibilité, celui de 0,112 une meilleure spécificité.

Seuil de positivité du score	Sensibilité [IC95%]	Spécificité [IC95%]
0,0467	0.935 [0.869-0.970]	0.844 [0.828-0.859]
0,112	0.861 [0.782-0.915]	0.915 [0.902-0.926]

Tableau 86 : Sensibilité et spécificité du score de dépistage en fonction du seuil fixé

Au seuil de 0,0467, le score permet de dépister 101 SMD sur 108 (94%). Dans la population témoin, 327 NFS reviennent avec un score positif (16%). Les principales caractéristiques du score au seuil de 0,0467 sont résumées dans le Tableau 87.

ETUDE : RESULTATS

Statistique	Valeur	Borne inférieure (95%)	Borne supérieure (95%)
Patients « bien classés »	0,849	0,834	0,864
Patients « mal classés »	0,151	0,136	0,166
Fraction de faux positifs	0,156	0,140	0,171
Fraction de faux négatifs	0,065	0,019	0,110
VPP (Valeur Prédictive Positive)	0,236	0,196	0,276
VPN (Valeur Prédictive Négative)	0,996	0,993	0,999
Risque relatif	59,973	28,783	124,961
Odds ratio	78,188	36,898	165,682

Tableau 87 : Caractéristiques du score de dépistage des SMD au seuil de 0,0467

Au seuil de 0,112 le score permet de dépister 93 SMD sur les 108 étudiés (86%). Chez les témoins, 178 NFS ont un score positif sur les 2099 analysées (8,5%). Les principales caractéristiques du score au seuil de 0,112 sont résumées dans le Tableau 88.

Statistique	Valeur	Borne inférieure (95%)	Borne supérieure (95%)
Bien classés	0,913	0,901	0,924
Mal classés	0,087	0,076	0,099
Fraction de faux positifs	0,085	0,073	0,097
Fraction de faux négatifs	0,139	0,075	0,203
VPP (Valeur Prédictive Positive)	0,343	0,287	0,400
VPN (Valeur Prédictive négative)	0,992	0,988	0,996
Risque relatif	44,292	26,272	74,672
Odds ratio	66,911	38,260	117,018

Tableau 88 : Caractéristiques du score de dépistage des SMD au seuil de 0,112

Le Tableau 89 décrit les caractéristiques statistiques du score « dysplasie » en fonction des sous-groupes de SMD.

ETUDE : RESULTATS

Au seuil de 0,0467, celui permettant d'obtenir la meilleure sensibilité, le score de dépistage est négatif chez 7 patients (6,5% des SMD). Les principales caractéristiques de ces 7 SMD avec score de dépistage non contributif sont résumées dans le Tableau 90.

Paramètres	Moyenne	Médiane	Min	Max
SMD-EB	0,685	0,843	0,017	1,000
SMD-DML	0,477	0,334	0,003	0,997
SMD-RS-DUL	0,586	0,632	0,055	0,984
SMD-DUL et SMD-5q-	0,441	0,403	0,035	0,989

Tableau 89 : Score de dépistage des SMD en fonction des sous-groupes

SMD	Age	Sexe	Hb (g/dl)	VGM (fL)	Plaq (G/L)	PNN (G/L)	Ne- WX	IPSS	Score
SMD-EB-1	72,4	F	12,7	89,1	259	2,14	302	0,5	0,0170
SMD-5q-	64,1	M	10,6	79,0	294	13,87	502	0	0,0351
SMD-DML	53,2	F	11,6	85,8	200	3,4	292	0	0,085
SMD-DML	79,1	F	10,3	89,4	405	8,91	322	0	0,0052
SMD-DML	53,6	M	13,6	92,2	129	3,06	330	0*	0,0198
SMD-DML	74,3	F	14,9	100,3	128	3,43	301	0	0,0079
SMD-RS- DUL	58,4	F	9,1	110,3	458	2,41	306	0	0,0026

Tableau 90 : Principales caractéristiques des SMD avec score de dépistage négatif

En s'intéressant au score des SMD avec cytopénie isolée, on constate que les 7 SMD présentant un score négatif ont des cytopénies isolées (Tableau 91).

Score dépistage	Ensemble des cytopénies isolées	Anémie isolée	Thrombopénie isolée	Neutropénie isolée
Nb	52	43	7	2
Score négatif	7 (13)	5 (12)	2 (29)	0 (0)
Moyenne	0,562	0,514	0,232	0,149
Médiane	0,497	0,585	0,160	0,149
Min	0,050	0,0026	0,0079	0,0735
Max	0,943	0,989	0,521	0,225

Tableau 91 : Score de dépistage des SMD et cytopénie isolée

ETUDE : RESULTATS

(B) SCORE COMPLÉMENTAIRE

Afin d'améliorer la spécificité du score de dépistage, nous avons décidé de tester un score complémentaire. Notre stratégie est d'utiliser ce score complémentaire dans un second temps, lorsque le score de dépistage est positif. Pour ce faire, nous avons analysé des paramètres des lignées érythrocytaire et plaquettaire : les réticulocytes (RET) et l'IRF d'une part, l'IPF et l'H-IPF d'autre part.

Ces données ne sont pas disponibles pour l'ensemble des SMD inclus, ni pour tous les témoins. En effet, l'IRF d'une part et l'IPF et l'H-IPF d'autre part nécessitent d'avoir réalisé la numération des réticulocytes et l'analyse des plaquettes fluorescentes (PLT-F). Or, ces analyses ne sont pas systématiquement réalisées, nécessitant de repasser les tubes sur l'automate dans les 6 heures suivant le prélèvement idéalement, ce qui n'a pu être réalisé pour l'ensemble des SMD : 83 SMD ont des données complètes avec réticulocytes et PLT-F (soit 77% des SMD totaux). Les témoins « complets » (avec dosage des réticulocytes et analyse des plaquettes fluorescentes) sont au nombre de 1089.

L'analyse des réticulocytes ne montre pas de différence significative entre les témoins et les SMD (Tableau 92, Figure 84).

	RET témoins	RET SMD	RET SMD- DUL	RET SMD- DML	RET SMD-EB	RET SMD- RS-DUL
RET témoins	1	0,999	0,792	0,832	0,976	0,331
RET SMD	0,999	1	0,975	0,930	0,998	0,873
RET SMD- DUL	0,792	0,975	1	0,757	0,967	1,000
RET SMD- DML	0,832	0,930	0,757	1	1,000	0,420
RET SMD- EB	0,976	0,998	0,967	1,000	1	0,929
RET SMD- RS-DUL	0,331	0,873	1,000	0,420	0,929	1

Tableau 92 : p-values des réticulocytes des témoins et des SMD

ETUDE : RESULTATS

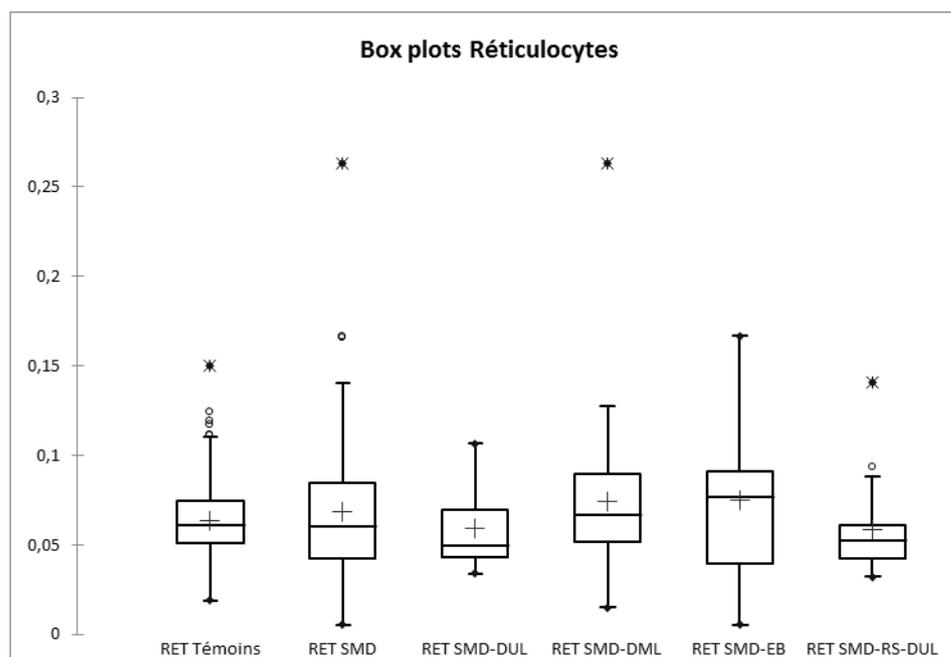


Figure 82 : Box plots des réticulocytes des témoins et des SMD

L'étude du rapport de Hb/RET montre des différences significatives entre les témoins et les SMD ($p < 0,0001$), et également entre les témoins et certains sous-groupes des SMD : SMD-DML ($p < 0,0001$) et SMD-RS-DUL ($p = 0,002$). Il n'y a pas de différence significative pour les autres sous-groupes : SMD-DUL ($p = 0,862$) et SMD-EB ($p = 0,055$).

L'analyse des IRF(%), qui représente la fraction immature des réticulocytes (Figure 48) est résumée dans le Tableau 93 et la Figure 85.

	IRF(%) Témoins	IRF(%) SMD	IRF(%) SMD-DUL	IRF(%) SMD-DML	IRF(%) SMD-EB	IRF(%) SMD- RS-DUL
Nb	576	83	12	30	21	20
Médiane	6,40	15,20	13,70	15,65	19,80	14,45
Moyenne	7,04	16,90	14,38	15,95	19,75	16,86
Min	0,50	2,40	2,80	5,30	2,40	6,80
Max	21,90	38,00	29,40	35,60	38,00	32,70
Ecart- type (n-1)	3,64	8,78	8,78	7,54	10,87	7,90

Tableau 93 : Statistiques descriptives de l'IRF(%) chez les témoins et dans les sous-groupes de SMD

ETUDE : RESULTATS

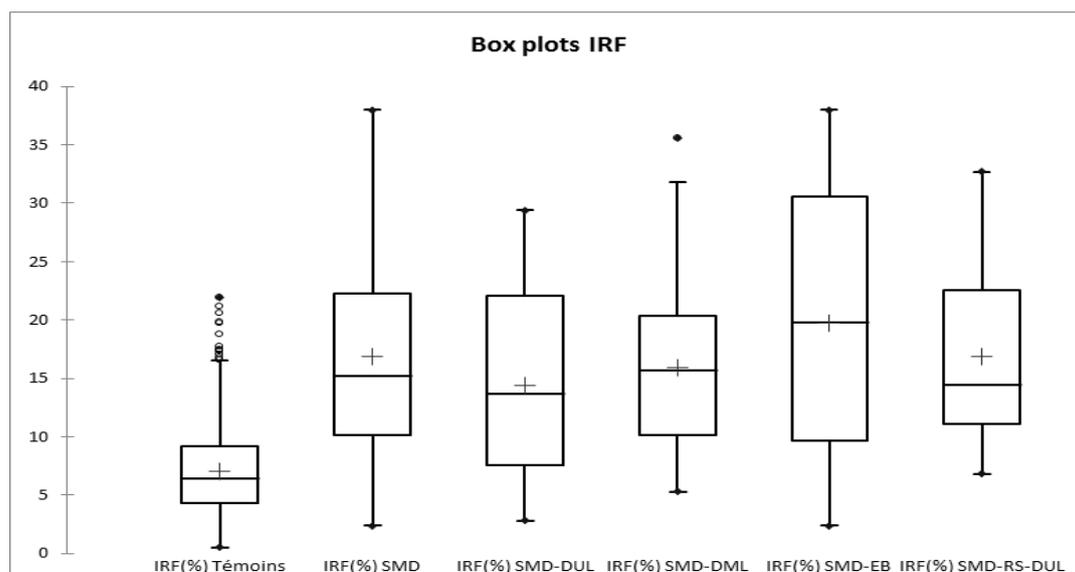


Figure 83 : Box plots IRF(%) des témoins et des SMD

L'IRF(%) se révèle plus probant que les réticulocytes, montrant une différence significative entre témoins et sous-groupes de SMD, à l'exception des SMD-DUL (Tableau 94).

	IRF(%) Témoins	IRF(%) SMD	IRF(%) SMD-DUL	IRF(%) SMD-DML	IRF(%) SMD-EB	IRF(%) SMD-RS- DUL
IRF(%) Témoins	1	<0,0001	0,025	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
IRF(%) SMD	< 0,0001	1	0,926	0,999	0,881	1,000
IRF(%) SMD-DUL	0,025	0,926	1	0,992	0,678	0,907
IRF(%) SMD-DML	< 0,0001	0,999	0,992	1	0,830	1,000
IRF(%) SMD-EB	< 0,0001	0,881	0,678	0,830	1	0,956
IRF(%) SMD-RS- DUL	< 0,0001	1,000	0,907	1,000	0,956	1

Tableau 94 : p-values de l'IRF(%) des témoins et des SMD

En considérant le rapport IRF/RET, une différence significative est retrouvée entre les témoins et les SMD-DUL ($p=0,002$). Cependant, l'AUC issu de la courbe ROC est insuffisante pour faire de l'IRF(%) seul un paramètre discriminatoire applicable ($AUC=0,823$).

ETUDE : RESULTATS

Nous avons effectué la même analyse sur la lignée plaquettaire en étudiant l'IPF(%) et l'H-IPF(%), paramètres qui renseignent sur la fraction des plaquettes réticulées, c'est-à-dire contenant encore de l'ARN. Il a été démontré que des taux élevés d'IPF traduisaient une production active de plaquettes par les mégacaryocytes médullaires. Les données de l'IPF(%) et de l'H-IPF(%) sont résumées dans les Tableaux 95 et 96.

Variable	N	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
IPF(%) témoins	576	0,500	19,300	3,211	2,076
IPF(%) SMD	83	0,040	33,400	9,296	7,341
IPF(%) SMD-DUL	12	0,048	19,400	8,544	6,255
IPF(%) SMD-DML	30	0,094	25,200	8,779	6,679
IPF(%) SMD-EB	21	2,500	33,400	13,304	9,550
IPF(%) SMD-RS-DUL	20	0,040	17,100	6,315	4,236

Tableau 95 : Statistiques descriptives de l'IPF(%) des témoins et des SMD

Variable	N	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
H-IPF (%) témoins	576	0,100	8,300	0,972	0,795
H-IPF (%) SMD	83	0,300	21,800	4,380	4,109
H-IPF (%) SMD-DUL	12	1,300	8,200	3,750	2,245
H-IPF (%) SMD-DML	30	0,600	13,300	4,067	3,300
H-IPF (%) SMD-EB	21	0,700	21,800	6,724	6,128
H-IPF (%) SMD-RS-DUL	20	0,300	10,100	2,765	2,136

Tableau 96 : Statistiques descriptives de l'H-IPF(%) des témoins et des SMD

L'analyse des p-values objective des différences significatives entre les témoins et les SMD ($p < 0,0001$), et entre les témoins et les SMD-DML et SMD-EB ($p < 0,0001$), ainsi qu'avec les SMD-RS-DUL ($p = 0,004$). La différence n'est pas significative avec les SMD-DUL ($p = 0,008$). Le rapport IPF/Plaq n'apporte pas d'avantage marquant, retrouvant toujours une différence significative entre témoins et SMD, SMD-DML, et SMD-EB ($p < 0,0001$), et une différence à la limite de la significativité pour les SMD-DUL ($p = 0,005$). Le rapport IPF/Plaq ne permet par contre pas de distinguer les témoins des SMD-RS-DUL ($p = 0,147$), ce qui est logique puisque les plaquettes de ces myélodysplasies ne diffèrent pas de celles des témoins contrairement aux autres SMD ($p = 0,430$).

L'analyse de l'H-IPF(%) permet de mettre en évidence des résultats prometteurs, en montrant des différences significatives entre les témoins et l'ensemble des sous-groupes de SMD ($p < 0,0001$) (Tableau 97, Figure 86).

ETUDE : RESULTATS

	H-IPF (%) témoins	H-IPF (%) SMD	H-IPF (%) SMD-DUL	H-IPF (%) SMD-DML	H-IPF (%) SMD-EB	H-IPF (%) SMD-RS-DUL
H-IPF (%) témoins	1	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
H-IPF (%) SMD	< 0,0001	1	1,000	1,000	0,738	0,650
H-IPF (%) SMD-DUL	< 0,0001	1,000	1	1,000	0,976	0,824
H-IPF (%) SMD-DML	< 0,0001	1,000	1,000	1	0,779	0,747
H-IPF (%) SMD-EB	< 0,0001	0,738	0,976	0,779	1	0,267
H-IPF (%) SMD-RS-DUL	< 0,0001	0,650	0,824	0,747	0,267	1

Tableau 97 : p-values de l'H-IPF(%) des témoins et des SMD

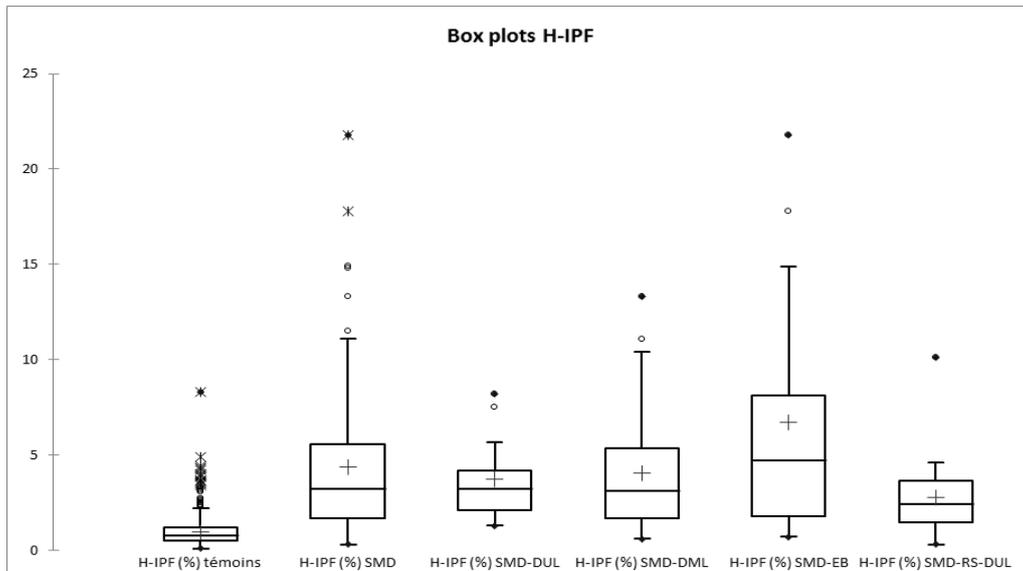


Figure 84 : Box plots H-IPF(%) des témoins et des SMD

Le meilleur paramètre de discrimination est donc l'H-IPF(%), qui n'apporte toutefois pas à lui seul une contribution suffisante (AUC=0,878).

ETUDE : RESULTATS

En combinant l'IRF(%) et l'H-IPF (%) au sein d'une seconde équation avec l'hémoglobine, le VGM, la valeur absolue des PNN et le Ne-WX, l'AUC atteint 0,983 [0,974-0,992] (vs 0,944 pour le score de dépistage) :

$$\text{Score complémentaire SMD} = 1 / (1 + \exp(-(-2.7118 - 0.3786 \times \text{PNN} + 0.0188 \times \text{Ne-WX} - 0.9848 \times \text{Hb} + 0.0573 \times \text{VGM} + 0.0775 \times \text{IRF}\% + 0.3870 \times \text{H-IPF})))$$

La sensibilité est de 0,940 [0,862-0,977] et la spécificité de 0,944 [0,929-0,956] (vs 0,935 et 0,844 respectivement pour le score de dépistage).

Les paramètres IRF(%) et H-IPF(%) semblent donc constituer une piste intéressante dans l'optique d'améliorer la spécificité du score de dépistage et donc de diminuer le nombre de faux positifs. Ce score est encore en cours d'élaboration, et devra être amélioré par un test sur une cohorte de validation issue de l'activité de routine impliquant la numération des réticulocytes et des plaquettes fluorescentes pour l'ensemble des patients ayant une NFS au CHU de Nantes.

B) PERFORMANCES DU MODÈLE

Concernant la discrimination du score de dépistage, l'AUC est de 0.944 [IC95% : 0.93-0,97] (Figure 82).

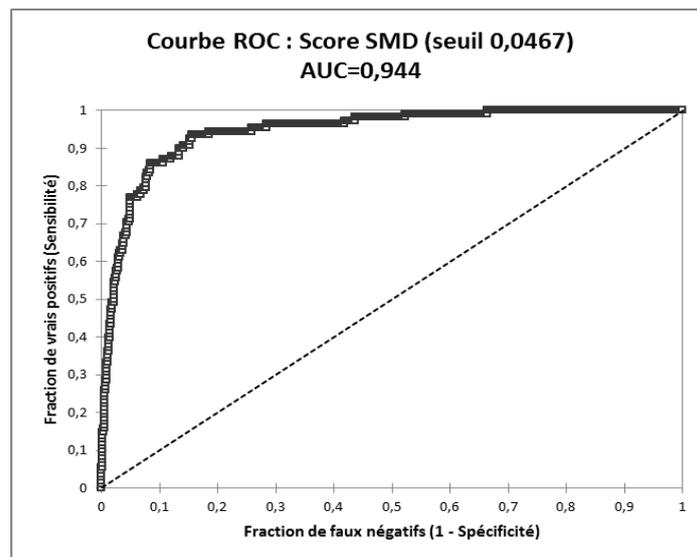


Figure 85 : Courbe ROC du score de dépistage des SMD

ETUDE : RESULTATS

La calibration du modèle est bonne, les valeurs prédites sont presque similaires aux valeurs observées. Le test de Hosmer-Lemeshow est non significatif ($p=0.82$), ce qui correspond à une bonne adéquation du modèle (Figure 83).

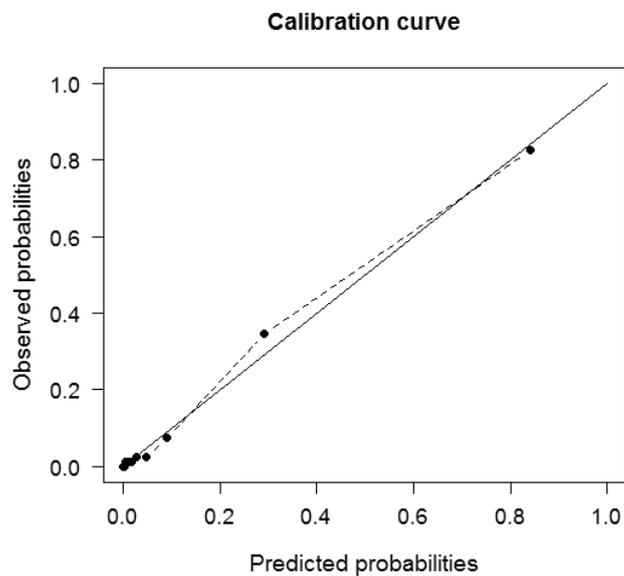


Figure 86 : Courbe de calibration du modèle

IV DISCUSSION

Dans ce travail, nous avons donc étudié une cohorte de 108 SMD au diagnostic, patients n'ayant reçu aucun traitement avant la NFS d'inclusion (à savoir pas de transfusions dans les 3 derniers mois, de chimiothérapie récente ni d'EPO). Nous avons ensuite identifié les paramètres d'intérêts de l'hémogramme, à savoir ceux montrant des différences significatives entre les patients avec un SMD et des patients témoins. Les témoins sont des patients de plus de 50 ans, hors service d'hématologie (hospitalisation et consultation), et ayant eu une NFS au CHU de Nantes réalisée sur l'automate XN-10[®]. Les hémogrammes de ces témoins sont normaux (793 patients) ou anormaux (1306 patients) selon les critères établis par Troussard et al. [173].

Il est à noter que deux myélodysplasies classées en SMD avec excès de blastes présentent une blastose médullaire < 5%. Pour le premier, on retrouve 3% de blastes sur le sang et une dysgranulopoïèse significative. Sur le prélèvement médullaire, une dysgranulopoïèse majeure, une dysmégacaryopoïèse et une dyséthropoïèse modérée sont observées. Un second myélogramme, réalisé à distance, confirmera le diagnostic de SMD-EB-1 avec cette fois la mise en évidence d'un excès de blastes médullaires. Pour le second SMD, le diagnostic a également été posé sur la présence d'un excès de blastes sur le sang (4%). Il s'agit donc d'un SMD-EB-1, pour lequel une dysérythropoïèse médullaire est retrouvée (avec 22% de sidéroblastes en couronne) ainsi qu'une trisomie 8 au caryotype. Le patient est suivi au centre de cancérologie René Gauducheau, et nous n'avons pas eu de prélèvement de confirmation.

Dans les anémies réfractaires avec sidéroblastes en couronne et dysplasie unilignée (SMD-RS-DUL), trois patients ont, sur l'hémogramme du diagnostic, des plaquettes supérieures aux normes du laboratoire (150-450 G/L). Deux d'entre eux (Plaquettes à 458 G/L et 464 G/L respectivement) ont eu une recherche de la mutation V617F de *JAK2*, revenue négative, dont un avec des mutations de *TET2* et d'*ASXL1* retrouvées en NGS. Pour le troisième (Plaquettes = 484 G/L), non suivi au CHU de Nantes, la recherche de la mutation *JAK2* n'a pas été effectuée mais la numération plaquettaire s'est normalisée sur les hémogrammes suivants. N'ayant donc pas d'arguments formels pour une ARSI-T, nous avons décidé de les inclure en tant que SMD-RS-DUL.

ETUDE : DISCUSSION

Les données biochimiques montrent, pour la ferritine et la CRP, des valeurs très élevées nécessitant de faire le diagnostic différentiel avec des cytopénies et des dysmyélopoïèses d'origine inflammatoire. Les valeurs « extrêmes » de ferritine (2899 µg/L, 2735 µg/L, 2730 µg/L, 1915 µg/L) correspondent à 3 SMD-EB-2 et 1 SMD-RS-DUL. La valeur la plus forte de CRP (132,4 mg/L) correspond à un SMD-EB-2. Les patients incluent dans la cohorte présentant des ferritines et/ou CRP élevées ont des SMD dont la cytologie (SMD-EB-2 et SMD-EB-1, SMD-RS-DML, SMD-RS-DUL) et le caryotype (caryotype complexe avec del(5q), del(7q) avec réarrangement d'*EVI-1*) ont permis de poser le diagnostic. Un patient avec une ferritine à 1124 µg/L a eu un diagnostic de SMD-DUL confirmé sur un second prélèvement médullaire, à distance.

L'analyse des données de l'hémogramme nous a permis de dégager 4 paramètres significativement différents entre les témoins et les SMD en analyse multivariée : l'hémoglobine, le VGM, la valeur absolue des neutrophiles et le Ne-WX ($p < 0,0001$). Le Ne-WX est un paramètre de dispersion des neutrophiles qui a été étudié pour la première fois dans ce travail et a montré des résultats significatifs dans l'évaluation de la dysgranulopoïèse. Nous avons donc établi, à partir de ces 4 paramètres de l'hémogramme, un algorithme multiparamétrique permettant de dépister les myélodysplasies avec une sensibilité de 94% et une spécificité de 84% au seuil retenu.

Le choix du seuil est influencé par la politique du laboratoire : choisir un seuil plus bas permet de dépister davantage de SMD mais génère un nombre de faux positifs et donc de lames à relire en microscopie optique plus important. Nous avons décidé de retenir le seuil de 0,0467, qui permet d'obtenir la meilleure sensibilité et donc les meilleures « performances » du point de vue du dépistage (odds ratio = 78,2). Ce choix de la sensibilité s'intègre dans la politique d'un laboratoire de CHU travaillant avec un service d'hématologie clinique de référence, et ne sera pas obligatoirement le même dans un centre hospitalier périphérique ou dans un laboratoire privé. Toutefois, quelque soit le seuil choisi, le score de dysplasie est contributif pour la détection des SMD en pratique de routine, et ce même pour les SMD de faible risque. Le score permet d'alerter le biologiste et les techniciens d'hématologie en générant une alarme « dysplasie ».

Sur les 108 SMD étudiés dans notre étude, le score de dépistage est négatif chez 7 patients, soit 6,5% des SMD totaux. Parmi ces faux négatifs, on dénombre 1 SMD avec excès de

ETUDE : DISCUSSION

blastés (SMD-EB-1), 1 SMD avec del(5q), 1 SMD-RS-DUL et 4 SMD avec dysplasie multilignée (Tableau 83). On constate que les patients avec un score de dépistage négatif sont plus jeunes que dans la cohorte globale (médiane de 68,3 ans), avec 3 patients âgés de moins de 60 ans dont 2 de moins de 55 ans. Les scores IPSS sont faibles pour 6 SMD et intermédiaire-1 pour le dernier. On observe également que parmi ces 7 SMD, 1 ne présente aucune cytopénie (aux seuils du laboratoire et de l'IPSS), 4 une anémie isolée (au seuil du laboratoire, 1 seule selon l'IPSS) et 2 une thrombopénie isolée (mais 0 selon l'IPSS).

- Le SMD avec del(5q) se caractérise du point de vue cytologique par une dysplasie multilignée au niveau médullaire et une dysgranulopoïèse majeure sur le frottis sanguin, objectivée notamment par un Ne-WX augmenté. Le caryotype médullaire montre une del(5q) associée à une t(20 ;21) et l'analyse moléculaire un variant du gène *RUNX1* de signification indéterminée. Le diagnostic de cette dysplasie est donc aisé, de par la cytologie et la cytogénétique informatrices.
- Le SMD avec excès de blastés s'accompagne d'un clone de LGL T dans la moelle (17% des lymphocytes médullaires). Le myélogramme montre 7,5% de blastés et une dysérythropoïèse significative > 10%. Le patient est en abstention thérapeutique et bénéficie d'un suivi régulier de l'hémogramme.
- Pour les 4 SMD avec dysplasie multilignée, on remarque que 3 correspondent à des myélodysplasies débutantes. Une a été découverte sur une thrombopénie isolée avec une macrocytose, une dysgranulopoïèse et une dysérythropoïèse significatives et 3,5% de blastés sur le myélogramme. Il a été conclu à un SMD associé à une thrombopénie périphérique. La seconde myélodysplasie a été confirmée sur un deuxième prélèvement médullaire, montrant des résultats similaires et confirmant donc le diagnostic. Le troisième SMD-DML a été découvert lors d'un bilan pré-transplantation sur une exploration d'une thrombopénie isolée. Le myélogramme a montré une dysmégacaryopoïèse et une dysgranulopoïèse significatives. Ces 3 patients ont donc des SMD de faible risque (IPSS = 0), en abstention thérapeutique et bénéficient d'une simple surveillance biologique. Le dernier SMD-DML présentant un score de dépistage non contributif se présentait avec une anémie normocytaire peu régénérative et le myélogramme montrait des images compatibles avec une myélodysplasie (dysgranulopoïèse, dysérythropoïèse et mégacaryocytes aux noyaux

hypolobés). Le patient présentait une tumeur vésicale avec saignements associés. Le contrôle sur un second myélogramme n'a pas retrouvé ces signes de dysplasie, et il a alors été conclu à une anémie par carence martiale sur saignement vésical.

- Le SMD-RS-DUL présentait une cytologie pathognomonique, avec un myélogramme montrant une dysérythropoïèse majeure associée à 60% de sidéroblastes en couronne sur la coloration de Perls.

Ces faux négatifs sont des SMD de score IPSS $\leq 0,5$ et de score IPSS-R très faible (1 SMD) et faible (6 SMD). Les 7 SMD négatifs au score de dépistage correspondent donc à des myélodysplasies de faible risque, toutes restées en abstention thérapeutique. Parmi ces 7 SMD, un n'en est en fait pas un, ce qui nous laisse donc 6 faux négatifs, soit 5,6% des SMD totaux. On peut estimer que le diagnostic est aisé pour au moins la moitié d'entre eux (SMD-5q- grâce au caryotype informatif, SMD-EB et SMD-RS-DUL de par la cytologie évocatrice).

La fraction de faux positifs est de 15,6% au seuil retenu. Notre prochain objectif est donc d'améliorer la spécificité du score et de diminuer le nombre de faux positifs afin de réduire au maximum la génération de lames « inutiles », c'est-à-dire pour des patients ne présentant pas de SMD. En effet, une part trop importante de faux positifs engendrerait une surcharge de lames à relire en microscopie optique. Pour ce faire, notre stratégie est de disposer d'un algorithme de dépistage et de le compléter, en cas de positivité et dans un second temps, par un score complémentaire permettant d'améliorer la spécificité. En se basant sur les données de la littérature et sur la physiopathologie des SMD, nous avons étudié des paramètres de la lignée érythrocytaire (réticulocytes, rapport réticulocytes/hémoglobine, IRF) et des paramètres de la lignée plaquettaire (IPF, H-IPF). En effet, dans la phase précoce de la maladie, les SMD se caractérisent par un excès d'apoptose qui entraîne un avortement intramédullaire des précurseurs myéloïdes et donc une hématopoïèse inefficace avec une prolifération d'aspect dysplasique. Les fractions immatures des réticulocytes (IRF) et des plaquettes (IPF et H-IPF) correspondent aux cellules jeunes venant d'être relarguées dans la circulation et sont considérées comme des indicateurs de la régénération médullaire.

Cette seconde analyse a été réalisée sur un groupe restreint par rapport au groupe initial, avec 83 SMD sur les 108 inclus au total dans la cohorte. En effet, les données des réticulocytes et des plaquettes fluorescentes ne sont pas disponibles pour tous les patients.

ETUDE : DISCUSSION

Nous avons observé qu'il n'y avait pas de différence significative entre les SMD et les témoins sur les réticulocytes ($p=1$), ni sur le rapport réticulocytes/hémoglobine. Nous avons par contre constaté une différence significative entre SMD et témoins sur le paramètre IRF(%) ($p<0,0001$). De plus, tous les sous-groupes, hormis les SMD-DUL ($p=0,07$), ont un IRF(%) significativement différent des témoins ($p<0,0001$ pour les SMD avec excès de blastes, les SMD avec dysplasie multilignée et les SMD avec sidéroblastose en couronne significative et dysplasie unilignée). Des IRF élevés, associés à des réticulocytes en nombre normal ou diminué, sont retrouvés chez des patients présentant des dysérythropoïèses ou une érythropoïèse inefficace, comme c'est le cas dans les SMD. De la même manière, l'étude plaquettaire a permis d'identifier l'H-IPF(%) comme étant le meilleur paramètre de discrimination : il permet de distinguer non seulement les SMD des témoins, mais aussi chacun des sous-groupes de SMD avec les témoins ($p<0,0001$).

Pris séparément, IRF(%) et H-IPF(%) ne peuvent constituer à eux seuls des paramètres discriminants (AUC de 0,823 et 0,878 respectivement). Toutefois, combinés au sein d'un algorithme multiparamétrique avec l'hémoglobine, le VGM, la valeur absolue des neutrophiles et le Ne-WX, l'AUC atteint 0,983 avec une sensibilité de 94% et une spécificité de 94%. Pour la population étudiée, ce « score de confirmation » permet d'obtenir 94% de vrais négatifs, 94% de vrais positifs, 6% de faux positifs et 6% de faux négatifs.

Cette stratégie en deux étapes apparaît donc prometteuse en faisant passer la fraction de faux positifs de 15,6% pour le score de dépistage à moins de 6% lorsque sont ajoutés l'IRF(%) et l'H-IPF(%). La réalisation de ce score n'est toutefois pas envisageable en première intention, les réactifs nécessaires à la numération des réticulocytes et des plaquettes fluorescentes étant relativement coûteux et non disponibles dans tous les laboratoires. Il semble néanmoins intéressant de le développer pour les laboratoires de CHU où le nombre de lames générées par les automates et nécessitant une relecture au microscope optique est déjà très important.

Nous nous sommes également intéressés aux SMD avec dysplasie unilignée. Ces myélodysplasies constituent un sous-groupe de SMD dont le diagnostic peut être difficile à établir avec certitude. Il est intéressant de noter que sur les 11 SMD-DUL de notre cohorte, tous ont un score de dépistage positif au seuil choisi (et 9/11 au second seuil moins sensible).

La moitié des SMD inclus dans notre cohorte présente une cytopénie isolée, dont 81% une anémie isolée. Nous nous sommes intéressés plus en détail à ces myélodysplasies, d'une part

ETUDE : DISCUSSION

en raison de leur fréquence, et d'autre part car il peut être difficile dans certains cas d'affirmer avec certitude leur diagnostic. Seules 7 thrombopénies (5 femmes et 2 hommes) et 2 neutropénies isolées (2 femmes) sont retrouvées, soit 2% des SMD totaux pour les neutropénies isolées (4,1% des SMD avec cytopénie isolée) et 7 % pour les thrombopénies isolées (soit 14,3% des SMD avec cytopénie isolée).

La neutropénie y est modérée (Tableau 77), la thrombopénie également sauf pour un patient présentant des plaquettes à 50 G/L (Tableau 78). Il est sans doute utile pour ces patients présentant une thrombopénie marquée et isolée de rechercher une part périphérique, comme c'est le cas pour ce patient où la découverte d'un SMD avec dysplasie multilignée s'est faite en 2014 sur une bicytopénie initiale (anémie normocytaire qui s'est corrigée par la suite, et thrombopénie modérée à 120 G/L).

Pour ces 9 cas de thrombopénies/neutropénies isolées, on retrouve 5 SMD-DML (56%), 2 SMD-EB (22%) et 2 SMD-DUL (22%). Ces résultats sont en accord avec ce qui a été décrit dans la littérature sur les cytopénies isolées [20]. L'OMS 2008 individualisait ces SMD en tant que « cytopénie réfractaire avec dysplasie unilignée (CRDU) », en y intégrant les anémies réfractaires (AR) qui étaient déjà présentes dans les classifications FAB (Tableau 2) et OMS 2002 (Tableau 3), mais aussi les thrombopénies réfractaires (TR) et les neutropénies réfractaires (NR) (Tableau 4). Ces entités étaient définies par une dysplasie unilignée et une ou deux cytopénies périphériques.

Sur les 1910 patients inclus dans le registre du GFM avant 2010, 29 neutropénies (NI) (PNN < 1,5 G/L, soit 1,5% des SMD) et 38 thrombopénies isolées (TI) (Plaq < 100 G/L, soit 2% des SMD) ont été recensées. En comparaison et en utilisant les mêmes seuils de cytopénie (ceux de l'IPSS), notre cohorte comporte 12 NI (11% des SMD totaux) et 4 TI (4%).

Gyan et al. ont étudié 1445 SMD avec une cytopénie isolée, retrouvant 79% d'anémies isolées, 9% de neutropénies et 12% de thrombopénies (Tableau 97, [20]). Les SMD les plus fréquemment diagnostiqués dans ces cytopénies isolées sont, comme dans notre cohorte, les SMD-DML (48% de l'ensemble des patients), les SMD-RS-DUL (20%), et les SMD-EB-1 (10%). Les SMD-DUL sont beaucoup plus rares : les AR représentent 10% des patients avec anémie isolée, les NR 7% des neutropénies isolées et les TR seulement 2% des thrombopénies isolées. La classification 2016 de l'OMS (Tableau 5) n'inclut d'ailleurs plus ces entités. Les

SMD avec dysplasie multilignée et avec excès de blastes associés à une neutropénie ou une thrombopénie isolée sont associés à un meilleur pronostic [20].

Les SMD avec cytopénie isolée ne sont donc pas rares, et notre score pourrait représenter une aide au diagnostic de cette hémopathie chez des patients présentant des cytopénies inexplicables, et notamment lorsqu'elles sont isolées.

Le score présente également un intérêt en considérant les critères de revue microscopique du frottis sanguin établis par le GFHC [178], sur lesquels se basent en partie nombre de laboratoires d'hématologie dans leur stratégie de relecture au microscope optique des NFS anormales. Il est intéressant de noter que sur les 108 SMD de notre cohorte, 33 sont négatifs aux critères de revues microscopiques proposées par le GFHC, soit près de 31%. Un tiers des SMD ne bénéficierait donc pas de relecture en microscopie optique en utilisant ces critères, ce qui renforce notre conviction que les seuils à utiliser sont ceux définis par les valeurs normales chez l'adulte [173]. L'absence actuelle de génération « d'alarmes dysplasie » par les automates d'hématologie cellulaire s'explique en partie par le fait que les SMD peuvent se caractériser par des anomalies relativement discrètes mais conjuguées, et ont donc tendance à « se diluer » dans la routine et à passer entre les mailles des règles établies pour la relecture en microscopie. Ces constatations montrent donc l'intérêt de disposer d'un algorithme multiparamétrique combinant des données des trois lignées myéloïdes.

D'autres industriels commercialisent des analyseurs d'hématologie cellulaire, notamment les sociétés Beckman Coulter[®], Siemens[®] et Bayer[®]. L'intérêt de ces automates dans les syndromes myélodysplasiques a également été étudié [179] [180].

V CONCLUSION

Notre étude montre qu'à partir d'un d'hémogramme réalisé sur l'analyseur XN-10[®], et en utilisant un algorithme multiparamétrique combinant l'hémoglobine, le VGM, la valeur absolue des neutrophiles et le Ne-WX, il est possible d'utiliser un score prédictif de SMD présentant une sensibilité de 94% et une spécificité de 84%.

Ce score nécessite, pour pouvoir constituer un véritable outil d'aide au diagnostic des SMD, d'être validé sur une cohorte d'un autre centre. Le Pr Platzbecker, hématologue au sein de l'hôpital de Dresde (Allemagne), s'est proposé de valider notre algorithme sur ses patients. Cette cohorte de validation doit permettre de confirmer les résultats obtenus sur la cohorte de 108 SMD, et est une étape indispensable dans l'optique d'une utilisation en routine.

En plus d'un rôle de dépistage, ce score pourrait constituer une aide au diagnostic notamment dans les SMD débutants ou de faible risque où ni la cytologie, ni la cytogénétique ne permettent au clinicien de pouvoir poser formellement le diagnostic de myélodysplasie. Une analyse en NGS est alors souvent réalisée chez ces patients pour obtenir un faisceau d'arguments en faveur d'un SMD. En parallèle de l'analyse moléculaire discutée durant les Réunions de Concertation Pluridisciplinaire myéloïdes, il pourrait s'avérer intéressant d'étudier les scores de ces patients, et ainsi voir s'il peut être utile et informatif. Une étude sur des patients (n=30) avec des cytopénies inexplicables, sans arguments cytologiques et cytogénétiques suffisants pour affirmer un SMD et devant bénéficier d'une analyse en NGS est en cours de réalisation pour étendre la portée de l'algorithme.

L'objectif est de disposer d'un outil d'aide au diagnostic des SMD fiable et accessible. L'accessibilité est effective, dans la mesure où la prise de sang est un examen simple. Le score de dépistage permet d'avoir une bonne sensibilité, il génère toutefois un nombre encore trop important de faux positifs. Notre travail devra donc également s'attacher à améliorer le « score complémentaire » en recueillant davantage de données sur des patients de routine ayant un hémogramme au CHU de Nantes et ce afin de l'affiner. Les résultats préliminaires sont encourageants, faisant passer la spécificité du score à plus de 94%.

Nous disposons donc de plusieurs axes de travail pour améliorer et développer ce score de dépistage des SMD. Le but est bien sûr de diagnostiquer cette hémopathie plus précocement

ETUDE : CONCLUSION

et ainsi permettre une prise en charge plus rapide des patients présentant des cytopénies inexplicées [ANNEXES II, III, IV, V, VI].

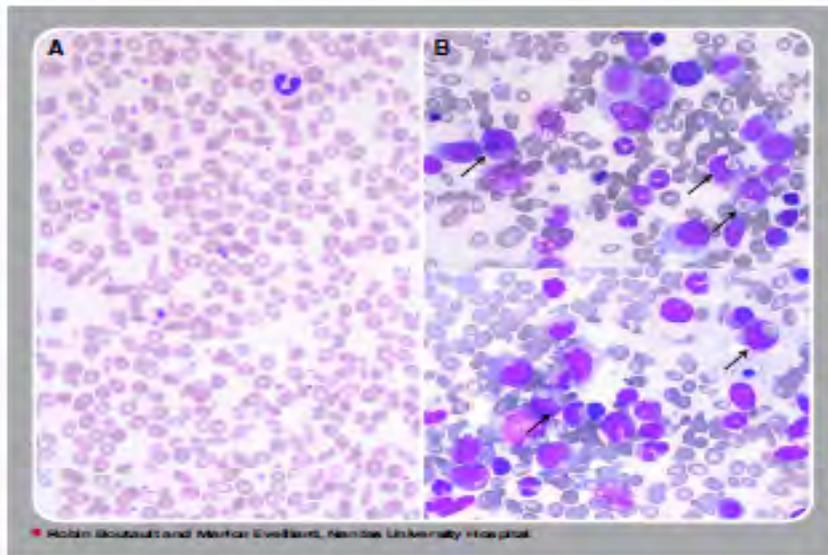
VI ANNEXES

ANNEXE I : Acquired elliptocytosis in the setting of a refractory anemia with excess blasts and del(20q), Blood 2016

From www.bloodjournal.org by guest on May 16, 2017. For personal use only.

bloodwork
IMAGES IN HEMATOLOGY

Acquired elliptocytosis in the setting of a refractory anemia with excess blasts and del(20q)



A 67-year-old woman was diagnosed in 2009 with refractory anemia with excess blasts-1 after being referred for mild anemia and neutropenia without hemolysis or abnormal erythrocyte morphology. Marrow karyotype was normal. She was not treated for 6 years, but had regular checks of her complete blood count (CBC), showing fluctuating thrombocytosis, and bone marrow (BM) aspiration yearly. She remained stable and in good general condition until December 2015, when she complained of fatigue.

Her CBC showed mild normocytic hypochromic anemia (hemoglobin, 92 g/dL) and no neutropenia, but marked thrombocytosis. Molecular analyses showed no mutation of JAK2, CALR, or MPL. The blood smear disclosed new significant elliptocytosis (panel A), and laboratory studies found undetectable haptoglobin. BM aspiration showed 10.5% blast cells (ie, refractory anemia with excess blasts-2). The neutrophils appeared hypogranular and hypolobulated and frequently displayed erythrophagocytosis (panel B, arrows). Karyotypic examination disclosed a del(20q). More interestingly, the deleted chromosomal section contained the gene encoding erythrocyte membrane protein band 4.1-like 1 in region 20q11.2-q12 (karyotype 46,XX,del(20)(q11q13)[20]). This new chromosomal anomaly may be responsible for the development of elliptocytosis.



For additional images, visit the **ASH IMAGE BANK**, a reference and teaching tool that is continually updated with new slides and case study images. For more information visit <http://imagebank.hematology.org>.

DOI: 10.1182/blood-2016-05-703076

© 2016 by The American Society of Hematology

2646

BLOOD, 26 MAY 2016 • VOLUME 127, NUMBER 21

ANNEXE II : Abstract SFH 2017

Dépistage des syndromes myélodysplasiques à partir d'une numération formule sanguine : intérêt de l'automate XN-10*

Robin Boutault^{1*}, Pierre Peterlin, MD², Sébastien Tremblais^{1*}, Mathilde De Oliveira Lopes^{1*}, Catherine Godon², MD^{1*}, Olivier Theisen, MD^{1*}, Yannick Le Bris, PharmD¹, Marie C Bene, PharmSciD, PhD^{1*} and Marion Eveillard, PharmD, PhD^{1*}

¹Hematology Laboratory, Nantes University Hospital, Nantes, France; ²Department of Hematology, Nantes University Hospital, Nantes, France

Introduction. Les syndromes myélodysplasiques (SMD) sont des pathologies hétérogènes du sujet âgé, caractérisés notamment par une ou plusieurs cytopénies à l'hémogramme. La numération formule sanguine (NFS) reste un examen de routine rapide, non invasif et idéal pour un dépistage. L'objectif principal de cette étude était de discriminer, à partir d'un hémogramme réalisé sur automate XN-10* (Sysmex, Kobe, Japon), les patients potentiellement atteints de SMD des autres patients admis au CHU. L'objectif secondaire était de distinguer les sous-catégories de SMD : dysplasie uni- ou multi-lignée, avec ou sans excès de blastes, avec ou sans sidéroblastes en couronne selon l'OMS 2016.

Patients, matériel et méthodes.

Cent treize patients pour lesquels le diagnostic de SMD de novo a été confirmé par les données combinées de la NFS, du myélogramme, du caryotype médullaire et de la biologie moléculaire ont été inclus de façon prospective dans l'étude. Ces patients n'avaient reçu aucun traitement lors de l'inclusion. Au total, 63 hommes et 50 femmes ont été inclus, avec une médiane d'âge de 82 ans (36-96 ans). Les NFS réalisées sur l'automate XN-10®, incluent les paramètres classiques de l'hémogramme (hémoglobine, Volume Globulaire Moyen (VGM), formule sanguine, réticulocytes), l'analyse fluorocytométrique des plaquettes (PLT-F), la mesure des fractions immatures des réticulocytes et des plaquettes ainsi que l'indice de dispersion des polynucléaires neutrophiles (Neut-WX). Au final, la cohorte comprend 37 SMD avec excès de blastes (SMD-EB-1 et SMD-EB-2) (33%), 35 SMD avec dysplasie multilignée avec ou sans sidéroblastes en couronne (31%), 26 SMD avec dysplasie unilignée et sidéroblastes en couronne (21%) et 15 SMD avec dysplasie unilignée ou avec une délétion 5q- (13%). Soixante-deux patients présentaient un caryotype normal (55%), 24 un caryotype avec des anomalies fréquemment retrouvées dans les SMD, 8 avaient un caryotype complexe (dont 7 associés à un SMD-EB). Une cohorte de 1247 patients, ayant eu une NFS réalisée sur XN-10* sans alarmes déclenchées par l'automate, a été utilisée comme témoin.

Résultats. L'âge est significativement différent entre les deux cohortes (74.74±11.96 ans, p<0.0001). Parmi les paramètres de la numération, on retient comme significativement discriminants le taux d'hémoglobine (9.92±1.96 g/dL, p<0.0001), le VGM (99.24±10.56 fL, p<0.0001), les plaquettes (194±128 G/L, p<0.0001), la valeur absolue des polynucléaires neutrophiles, (Neut, 3.08±2.58 G/L, p<0.0001) ainsi que le Neut-WX (387.41±71.04, p<0.0001). La combinaison de cinq paramètres (âge, Neut, Neut-WX, hémoglobine, VGM), au sein d'une équation permet d'établir un score dépistant, avec une sensibilité de 91% et une spécificité de 85%, les patients présentant un SMD.

En comparant les 4 sous-groupes de SMD entre eux, l'hémoglobine, le VGM et les neutrophiles étaient significativement différents des témoins, sans permettre de différencier ces sous-groupes.

Dans le sous-groupe des patients avec dysplasie unilignée, le nombre de plaquettes était similaire à celui des témoins et donc significativement plus élevé que celui des patients avec excès de blastes ou avec dysplasie multilignée (p=0.004 et 0.029 respectivement).

Conclusion. Cette étude montre qu'à partir d'un hémogramme réalisé sur l'analyseur XN-10®, et en utilisant un algorithme multiparamétrique combinant l'âge, l'hémoglobine, le VGM, les neutrophiles, et le Neut-WX, il est possible de calculer un score prédictif de SMD avec une bonne sensibilité et une bonne spécificité. Ce score pourrait constituer une aide au diagnostic des SMD, et ainsi permettre une prise en charge plus précoce des patients présentant des cytopénies inexplicables.

ANNEXE III : Poster SFH 2017

Dépistage des syndromes myélodysplasiques à partir d'une numération formule sanguine : intérêt de l'automate XN-10*

R. Boutault¹, P. Peterlin², M. Boubaya³, S. Tremblais¹, M. De Oliveira Lopes¹, C. Godon¹, O. Theisen¹, Y. Le Bris¹, M.C. Béné¹, M. Eveillard¹



¹ Service d'Hématologie Biologique, CHU Hôtel Dieu, Nantes
² Service d'Hématologie, CHU Hôtel Dieu, Nantes
³ Service de recherche clinique, Hôpital Avicenne, AP-HP, Bobigny



INTRODUCTION

Les syndromes myélodysplasiques (SMD) constituent un groupe de pathologies hétérogènes du sujet âgé, caractérisé notamment par une ou plusieurs cytopénies à l'hémogramme. La numération formule sanguine (NFS) est un examen de routine rapide, non invasif et idéal pour un dépistage. L'objectif principal de cette étude était de discriminer, à partir d'un simple hémogramme réalisé sur automate XN-10* (Sysmex*, Kobe, Japon), les patients potentiellement atteints de SMD des autres patients admis au CHU. L'objectif secondaire était de distinguer les sous-catégories de SMD : avec dysplasie uni- ou multi-lignée, avec ou sans excès de blastes, avec ou sans sidéroblastes en couronne selon l'OMS 2016.



PATIENTS, MATERIEL ET METHODES

COHORTE

Cent treize patients (63 hommes et 50 femmes) avec un diagnostic de SMD confirmé par les données combinées de la NFS, du myélogramme, du caryotype médullaire et de la biologie moléculaire, d'une médiane d'âge de 82 ans (36-96 ans) et n'ayant reçu aucun traitement, ont été inclus de façon prospective.

Selon la classification OMS 2016, les patients étaient répartis en 37 SMD avec excès de blastes (SMD-EB-1 et SMD-EB-2), 35 SMD avec dysplasie multilignée (SMD-DML) avec ou sans sidéroblastes en couronne, 26 SMD avec dysplasie unilignée et sidéroblastes en couronne (SMD-U-SIDc) et 15 SMD avec dysplasie unilignée (SMD-U) ou avec une délétion Sq- (Figure 1). Soixante-deux patients présentaient un caryotype normal, 24 un caryotype avec des anomalies fréquemment retrouvées dans les SMD, 8 avaient un caryotype complexe (dont 7 associés à un SMD-EB) (Figure 2).

Les témoins étaient 701 patients de plus de 50 ans analysés au CHU de Nantes, ne présentant pas d'hémopathie ni d'alarme déclenchée par l'automate.

ANALYSEUR XN10*

Les paramètres relevés étaient les mesures de l'hémoglobine par spectrophotométrie, du nombre de plaquettes par technique d'impédancétrie et la formule leucocytaire par technique de fluorocytométrie.

- Canal RET : Comptage des réticulocytes, des fractions LFR (faible fluorescence), MFR (moyenne fluorescence), HFR (forte fluorescence) et de l'IRF (MFR+HFR) (Figure 3)
- Canal PLT-F : Numération plaquettaire par fluorocytométrie, détermination de l'IPF (fraction des plaquettes hyper-fluorescentes) (Figure 4)
- Canal DIFF : Détermination du paramètre Neut-WX (Figure 5), identifiant la dispersion du nuage de polynucléaires neutrophiles.

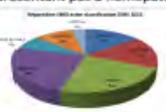


Figure 1

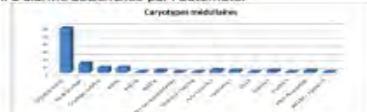


Figure 2

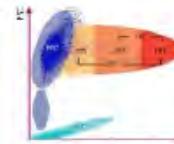


Figure 3

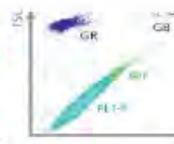


Figure 4

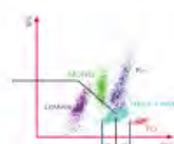
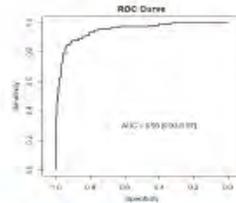


Figure 5

RESULTATS

Parmi les paramètres de la numération des patients, sont apparus comme significativement discriminants le taux d'hémoglobine (9.92±1.96 g/dL, p<0.0001), le VGM (99.24±10.56 fl, p<0.0001) et le taux de plaquettes (194±128 G/L, p<0.0001), la valeur absolue des polynucléaires neutrophiles, (Neut, 3.08±2.58 G/L, p<0.0001) ainsi que le Neut-WX (387.41±71.04, p<0.0001) (Figures 6 & 7).

En ne considérant que les sujets de plus de 50 ans, la combinaison de quatre paramètres (Neut, Neut-WX, hémoglobine, VGM), permet d'établir un score dépistant, avec une sensibilité de 92% et une spécificité de 81%, les patients présentant un SMD (Figure 8) par rapport à la cohorte témoin.



Paramètre	Sensibilité (95% CI)	Spécificité (95% CI)
Hémoglobine	0.92 (0.88-0.96)	0.81 (0.78-0.84)
VGM	0.92 (0.88-0.96)	0.81 (0.78-0.84)
Neutrophiles	0.92 (0.88-0.96)	0.81 (0.78-0.84)
Neut-WX	0.92 (0.88-0.96)	0.81 (0.78-0.84)

Figure 8

Parmi les 4 sous-groupes de SMD, l'hémoglobine et le VGM, significativement différents des témoins, ne permettent cependant pas de différencier les sous-groupes.

Dans le sous-groupe des patients avec SMD-U-SID-c, le nombre de plaquettes est similaire à celui des témoins et donc significativement plus élevé que celui des patients avec SMD-EB ou SMD-DML (Figure 9).

Par ailleurs, le taux de neutrophiles est significativement abaissé chez les patients SMD-DML ou SMD-EB par rapport aux SMD-U-SIDc (Figure 10).

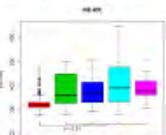


Figure 6

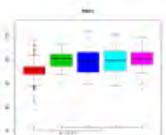


Figure 7

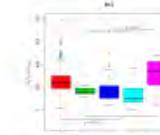


Figure 9

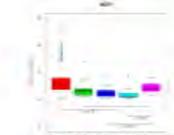


Figure 10

CONCLUSIONS

Cette étude montre qu'à partir d'un hémogramme réalisé sur l'analyseur XN-10*, et en utilisant un algorithme multiparamétrique combinant l'hémoglobine, le VGM, les neutrophiles, et le Neut-WX, il est possible de calculer un score prédictif de SMD avec une bonne sensibilité et une bonne spécificité.

Ce score pourrait constituer une aide au diagnostic des SMD, et ainsi permettre une prise en charge plus précoce des patients présentant des cytopénies inexpliquées.

On estime en effet qu'un patient sur trois avec un SMD évoluera en LAM sans prise en charge adaptée.

ANNEXE IV : Abstract ISLH 2017

Interest of the XN-10[®] Analyzer to Screen for Myelodysplastic Syndromes on Complete Blood Count

Robin Boutault¹, Pierre Peterlin², Sebastien Tremblais¹, Mathilde De Oliveira Lopes¹, Yannick Le Bris¹, Catherine Godon¹, Olivier Theisen¹, Marouane Boubaya³, Marie C Bene¹ and Marion Eveillard¹

Introduction

A prospective study was performed in order to investigate whether suspected myelodysplastic syndromes (MDS) could be detected on a complete blood count (CBC) using the recently developed XN-10[®] analyzer (Sysmex, Kobe, Japan). The primary end-point was to discriminate MDS patients from a cohort of 776 healthy samples and the secondary end-point was to segregate MDS with excess blasts (EB), multilineage dysplasia (MLD) or single lineage dysplasia (SLD) \pm ring sideroblast (RS) within the MDS group as well as separating them from controls as described by the WHO2016 classification.

Methods

The study enrolled 113 untreated patients (63 men/50 women, median age 82 yo) for whom a diagnosis of MDS was concluded based on CBC, bone marrow smears examination and karyotype. CBC included classical parameters (hemoglobin level, Mean Corpuscular Volume (MCV), reticulocytes, platelets, neutrophils) and extra-parameters (platelets by fluorescence (PLT-F), immature platelets fraction (IPF%), immature reticulocytes fraction (IRF%) and the neutrophils median position on the three axes as well as their dispersion (Neut-WX)). According to the WHO, 37 patients in the cohort had MDS-EB, 35 MDS-MLD-RS, 26 MDS-SLD-RS, 12 MDS-SLD without RS and 3 MDS with isolated del(5q). Sixty-two patients had a normal karyotype, 24 displayed anomalies classically reported in MDS and 8 had complex karyotypes in the MDS-EB subgroup.

Results

Among the whole group of MDS patients, several classical parameters were statistically different: hemoglobin median level ($9,92 \pm 1,96$ g/dL; $p < 0,0001$), median MCV ($99,24 \pm 10,56$ fL; $p < 0,0001$), reticulocyte counts ($44,3 \times 10^9/L$; $p = 0,041$) and IRF% (16,7%; $p < 0,0001$). The median platelet count was $194 \pm 128 \times 10^9/L$ ($p < 0,0001$) and median IPF% (8,8%; $p < 0,0001$). For leukocytes, MDS median neutrophil count was significantly lower at $3,08 \pm 2,58 \times 10^9/L$ ($p < 0,001$) while Neut-WX was significantly higher (387 ± 71 ; $p < 0,0001$). The latter, by itself, allowed to discriminate MDS (sensitivity 73,1%; specificity 96,9%). The combination of Neut, Neut-WX, hemoglobin and MCV in a diagnosis score thus allows to diagnose MDS (sensitivity 91%; specificity 85%).

Although each WHO-MDS subgroup was significantly different from controls for hemoglobin, MCV, IRF% and neutrophil counts ($p < 0,0001$), these parameters could not discriminate between them. In the subgroup of MDS-SLD, platelet counts were similar to those of controls, yet significantly higher than for MDS-EB ($p = 0,004$) or MDS-MLD ($p = 0,029$).

Conclusion

Overall, this study demonstrates that a simple CBC allows to screen for MDS using a multiparameter score including Neut-WX. Blood smear examination should be performed in this situation even if the XN-10[®] analyzer does not raise any alarm, especially in patients older than 50 without known antecedents.

ANNEXE V : Poster ISLH 2017

Interest of the XN-10[®] Analyzer to Screen for Myelodysplastic Syndromes on Complete Blood Counts (CBC)



R. Boutaut¹, P. Peterlin², M. Boubaya³, S. Tremblais¹, M. De Oliveira Lopes¹, C. Godon¹, O. Theisen¹, Y. Le Bris¹, M.C. Béné¹, M. Eveillard¹
¹Hematology Laboratory, CHU, Nantes, France
²Department of Hematology, CHU, Nantes, France
³Department of Clinical Research, Avicennes Hospital, Bobigny, France



INTRODUCTION

A prospective study was performed over one year in order to investigate whether suspected myelodysplastic syndromes (MDS) could be detected on a complete blood counts (CBC), the fastest laboratory investigation, performed on the recently developed XN-10[®] (Sysmex, Koba, Japan). The primary end point was to discriminate MDS patients from normal samples and the secondary end-point was to distinguish MDS with excess blasts (MDS-EB), MDS with multilineage dysplasia (MDS-MLD), MDS with single lineage dysplasia (MDS-SLD) and MDS with ring sideroblasts and single lineage dysplasia (MDS-RS-SLD) within the MDS group and by comparison with controls as described by the WHO 2016 classification.



PATIENTS, MATERIALS AND METHODS

Patients

One hundred and thirteen patients were enrolled in the study, for whom a diagnosis of MDS was concluded based on CBC, bone marrow smears examination and karyotype. All patients were free of treatment, including transfusions, at inclusion. They were 63 men and 50 women with a median age of 82 years [range 36-96 yo]. For comparison with normal values, results from 701 healthy subjects over 50 years old, for whom CBC were performed on the same analyzer and generated no flag, were used. All had parameters within the normal range according to age. According to the WHO, 37 patients in the cohort had MDS-EB, 35 MDS-MDL (among whom 7 had ring sideroblasts [RS]), 26 MDS-SLD-RS, 12 MDS-SLD without RS and 3 MDS with isolated del[5q](Figure 1). Sixty-two patients had a normal karyotype, 24 displayed anomalies classically reported in MDS, and 8 had complex karyotypes. Among the latter, 7 were associated with MDS-EB (Figure 2).

XN10[®] Analyzer

CBC were performed on a Sysmex analyzer XN-10[®], including classical parameters (hemoglobin level, Mean Corpuscular Volume [MCV], reticulocytes (Figure 3), platelets, neutrophils and extra-parameters i.e. platelets by fluorescence (PLT-F, Figure 4), immature platelets fraction (IPF%), immature reticulocytes fraction (IRF%) and the neutrophils median position on the three axes as well as their dispersion (Neut-WX, Figure 5).

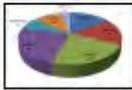


Figure 1



Figure 2

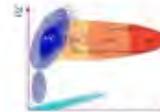


Figure 3

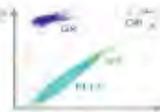


Figure 4

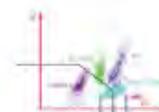


Figure 5

RESULTS

Both classical and extra parameters indeed showed significant differences between the subgroups tested. Among the whole group of MDS patients, a number of parameters of all lineages were statistically different from the healthy cohort. The median level of hemoglobin was $9,92 \pm 1,96$ g/dL ($p < 0,0001$), the median MCV $99,24 \pm 10,56$ fl, (Figure 7), reticulocyte counts $44,3 \times 10^9/L$ (range 8-165,9; $p = 0,041$) and IPF% 16,7% (range 2,4-50,9; $p < 0,0001$). The median platelet count was $194 \pm 128 \times 10^9/L$ ($p < 0,0001$) and the median IPF% 8,8% (1,2-42; $p < 0,0001$). Among leukocyte parameters, the MDS median neutrophil count was significantly lower at $3,08 \pm 2,58 \times 10^9/L$ ($p < 0,001$) while Neut-WX was significantly higher (387 ± 71 , Figure 6). The latter, by itself, allowed to predict a diagnosis of MDS with a sensitivity of 73,1% and a specificity of 96,9%. Considering patients over 50 years old, a combination of 4 parameters (Neut, Neut-WX, hemoglobin level and MCV) is a score allows to diagnose MDS with a sensitivity of 92% and a specificity of 81% (Figure 8).

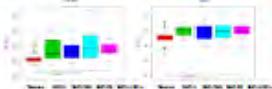


Figure 6



Figure 7

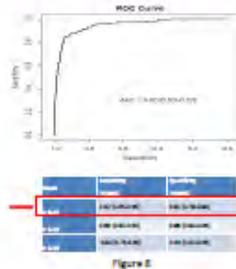


Figure 8

When considering MDS subgroups (MDS-EB, multilineage or single lineage dysplasia and RS), although each of them was significantly different from controls for hemoglobin levels, MCV and IPF% and ($p < 0,0001$), they could not be discriminated by these parameters. In the subgroup of MDS with single lineage dysplasia and ring sideroblasts, platelet counts were similar to those of controls, yet significantly higher than for MD-EB or MDS-MLD (Figure 9). Moreover, neutrophils counts were significantly lower in MDS-MDL or MDS-EB than in MDS-SLD-RS (Figure 10).

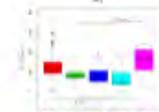


Figure 9

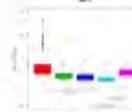


Figure 10

CONCLUSION

This study demonstrates that a simple CBC allows to screen for MDS using a multiparameter score including Neut-WX. Blood smear examination should be performed in this situation even if the XN-10[®] analyzer does not raise any alarm, especially in unknown patients older than 50.

ANNEXE VI : Interest of the XN-10 Analyzer to Screen for Myelodysplastic Syndromes on Complete Blood Count (CBC) Especially with Hemoglobin Levels and Neut-WX, Blood online

Interest of the XN-10[®] Analyzer to Screen for Myelodysplastic Syndromes on Complete Blood Count (CBC) Especially with Hemoglobin Levels and Neut-WX

Robin Boutault^{1*}, Sebastien Tremblais^{1*}, Mathilde De Oliveira Lopes^{1*}, Pierre Peterlin, MD^{2*}, Yannick Le Bris, PharmD^{1*}, Catherine Godon, MD^{1*}, Olivier Theisen, MD^{1*}, Marie C Bene, PharmSciD, PhD^{1*} and **Marion Eveillard, PharmD, PhD^{1*}**

¹Hematology Laboratory, Nantes University Hospital, Nantes, France; ²Department of Hematology, Nantes University Hospital, Nantes, France

A prospective study was performed over one year at Nantes University Hospital in France, in order to investigate whether suspected myelodysplastic syndromes (MDS) could be detected on a complete blood count (CBC), the most rapid laboratory investigation. Indeed, the recently developed XN-10[®] (Sysmex, Kobe, Japan), provides novel CBC parameters which could be useful to discriminate such patients from normal samples or from cytopenia of other etiology.

One hundred and thirteen patients were enrolled in the study, for whom a diagnosis of MDS was concluded based on CBC, bone marrow smears examination, karyotype and molecular analysis. All patients were free of treatment, including transfusions, at inclusion. They were 63 men and 50 women with a median age of 82.0 years (range 36.4-96.8). CBC were performed on a Sysmex analyzer XN-10[®], including investigation of reticulocytes and fluorimetric analysis of platelets. For comparison with normal values, results from 776 healthy samples, for which CBC were performed on the same analyzer and generated no flag, were used. All had parameters within the normal range according to age (1). The classical parameters of hemoglobin level, Mean Corpuscular Volume (MCV), reticulocytes, platelets and neutrophil counts were recorded. In addition, the extra-parameters, immature reticulocytes fraction (IRF%), platelets by fluorescence (PLT-F) and immature platelets fraction (IPF%), were taken into account. The neutrophils median position on the three axes as well as their dispersion (Neut-WX) were also measured by the analyser.

The primary end-point was to discriminate between MDS and healthy patients and the secondary end-

ANNEXES

point was to distinguish MDS with excess blasts, MDS with multilineage dysplasia and MDS with single lineage dysplasia within the MDS group and by comparison with controls. According to the WHO 2016 classification, 37 patients in the cohort had MDS with excess blasts, 35 MDS with multilineage dysplasia (among whom 8 had ring sideroblasts [RS], group 2), 26 MDS-RS and single lineage dysplasia, 11 MDS with single lineage dysplasia and 4 MDS with isolated del(5q). Sixty-two patients had a normal karyotype (55%) and 51 displayed anomalies classically reported in MDS, including 8 complex karyotypes (7%). Among the latter, 7 were associated with MDS with excess blasts.

Both classical and extra parameters indeed showed significant differences between the subgroups tested. Among the whole group of MDS patients, a number of parameters of all lineages were statistically different from the healthy cohort. The median level of hemoglobin was 11.1 g/dL (range 4.7-14.9), ($p < 0,0001$), the median MCV 101,2 fL (range 75,4-123,9; $p < 0,0001$), reticulocyte counts 42.0 G/L (range 8-296.0; $p = 0,041$) and IRF% 11.3% (range 2,4-50,9; $p < 0,0001$). An hemoglobin value below 11,5 g/dL was strongly suggestive of MDS with a sensitivity of 81% and specificity of 100%. The median platelet count was $148 \cdot 10^9/L$ (range 8-505; $p < 0,0001$) and median IPF% 9,1% (0.04-41.0; $p < 0,0001$). Among leukocyte parameters, the MDS median neutrophil count was significantly lower at $2,05 \cdot 10^9/L$ (range 0,17-13,87; $p < 0,001$) and the Neut-WX value increased above 350. The latter, by itself, allowed to make a diagnosis of MDS with a sensitivity of 73,1% and a specificity of 96,9%.

When considering the three MDS subgroups of MDS with excess blasts, multilineage or single lineage dysplasia, although each of them was significantly different from controls for hemoglobin levels, MCV, IRF% and neutrophil counts ($p < 0,0001$), they could not be discriminated by these parameters. In the subgroup of MDS with single lineage dysplasia, platelet counts were similar to those of controls, yet significantly higher than for MDS with excess blast or with multilineage dysplasia ($p = 0,004$ and $p = 0,029$ respectively).

Taken together, this study demonstrates that a simple CBC allows to screen for MDS using thresholds of 11,5 g/dL for hemoglobin and of 350 for Neut-WX. Blood smear examination should be performed in this situation even if the XN- 10® analyzer does not raise an alarm, especially in unknown older patients.

BIBLIOGRAPHIE

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1) Arber D.A., Orazi A., Hasserjian R., et al. ; The 2016 revision to the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016 ; 1-45
- 2) Tefferi A., Vardiman J.W.; Myelodysplastic syndromes. *N Engl J Med*. 2009 ; 361 (19) : 1872-1885
- 3) Maynadie M., Verret C., Moskovtchenko P., et al. ; Epidemiological characteristics of myelodysplastic syndrome in a well-defined French population. *Br J Cancer*. 1996 ; 74 : 288-290
- 4) Neukirchen J., Schoonen W.M., Strupp C., et al. ; Incidence and prevalence of myelodysplastic syndromes : Data from the Düsseldorf SMD-registry. *Leuk Res*. 2011 ; 35(12) : 1591-1597
- 5) Guralnik J.M., Eisenstaedt R.S., Ferrucci L., et al. ; Prevalence of anemia in persons 65 years and older in the United States : evidence for a high rate of unexplained anemia. *Blood*. 2004 ; 104 : 2263-2268
- 6) Hebbbar M., Kozlowski D., Wattel E., et al. ; Association between myelodysplastic syndromes and inflammatory bowel diseases. Report of seven cases and review of the literature. *Leukemia*. 1997 ; 11 : 2188-2191
- 7) Fain O., Braun T., Stirnemann J., et al. ; Manifestations systémiques et AI des SMD. *La revue de Médecine Interne*. 2011 ; 32(9) :552-559
- 8) Pedersen-Bjergaard J., Andersen M.K., Christiansen D.H., et al. ; Genetic pathways in therapy-related myelodysplasia and acute myeloid leukemia. *Blood*. 2002 ; 99 :1909-1912
- 9) Kiladjian J.J., Chevret S., Dosquet C., et al. ; Treatment of Polycythemia Vera With Hydroxyurea and Pipobroman: Final Results of a Randomized Trial Initiated in 1980. *J Clin Oncol*. 2011 ; 29(29) : 3907-3913
- 10) Sterkers Y., Preudhomme C., Lai J.L., et al. ; Acute myeloïd leukemia and myelodysplastic syndromes following essential thrombocythemia treated with hydroxyurea : high proportion of cases with 17p deletion. *Blood*. 1998 ; 91(2) : 616-622

BIBLIOGRAPHIE

- 11) Pedersen-Bjergaard J., Andersen M.K., Christiansen D.H. et al. ; Therapy-related acute myeloid leukemia and myelodysplasia after high-dose chemotherapy and autologous stem cells transplantation. *Blood*. 2000 ; 95 : 3273-3279
- 12) Rheinhold-Keller E., Beuge N., Latza U., et al. ; An interdisciplinary approach to the care of patients with Wegener's granulomatosis : long-term outcome in 155 patients. *Arthr Rheum*. 2000 ; 43 : 1020-1032
- 13) McCarthy C.J., Sheldon S., Ross C.W., et al. ; Cytogenetic abnormalities and therapy-related myelodysplastic syndromes in rheumatic disease. *Arthr Rheum*. 1998 ; 41 : 1493-1499
- 14) Side L., Taylor B., Cayouette M., et al. ; Homozygous inactivation of the *NFI* gene in bone marrow cells from children with neurofibromatosis type 1 and malignant myeloid disorders. *N Engl J Med*. 1997 ; 336 : 1713-1720
- 15) Fenaux P., Ades L., Fontenay M., et al. ; Consensus français sur les syndromes myélodysplasiques et la leucémie myélomonocytaire chronique : diagnostic, classifications, traitement. Groupe Francophone des Myélodysplasies (GFM)
- 16) Bennett J.M., Catovsky D., Daniel M.T., et al. ; Proposals for the classification of the myelodysplastic syndromes. *BJH*. 1982 ; 51(2) : 189-199
- 17) Vardiman J.W., Harris N.L., Brunning R.D., et al. ; The WHO classification of the myeloid neoplasms. *Blood*. 2002 ; 100(7) : 2292-2302
- 18) Vardiman J.W., Thiele J., Arber D.A., et al. ; The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia : rationale and important changes. *Blood*. 2009 ; 114(5) : 937-951
- 19) Germing U., Strupp C., Kuendgen A., et al. ; Prospective validation of the WHO proposals for the classification of myelodysplastic syndromes. *Haematologica*. 2006 ; 91(12) : 1596-1604
- 20) Gyan E., Andrieu V., Sanna A., et al. ; Myelodysplastic syndromes with single neutropenia or thrombocytopenia are rarely refractory cytopenias with unilineage dysplasia by World Health Organization 2008 criteria and have favourable prognosis. *BJH*. 2016 ; 175 : 967-985
- 21) Valent P., Horny H.P., Bennett J.M., et al. ; Definitions and standards in the diagnosis and treatment of the myelodysplastic syndromes : Consensus statements and report from a working conference. *Leukemia Research*. 2007 ; 31(7) : 727-736

BIBLIOGRAPHIE

- 22) Bain B.J. ; The bone marrow aspirate of healthy subjects. *BJH*. 1996. 94(1) : 206-209
- 23) Parmentier S., Schetelig J., Lorenz K., et al. ; Assessment of dysplastic hematopoiesis : lessons from healthy bone marrow donors. *Haematologica*. 2012 ; 97(5) : 723-730191
- 24) Fontenay M., Ettou S., Kosmider O., et al. ; Syndromes myélodysplasiques : actualités clinico-biologiques
- 25) Walter M.J., Shen D., Ding L., et al. ; Clonal architecture of secondary acute myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2012 ; 366 : 1090-1098
- 26) Nilsson L., Astrand-Grundstrom I. Anderson C., et al. ; Involvement and functional impairment of the CD34+CD38- Thy-1+ hematopoietic stem cell pool in myelodysplastic syndromes with trisomy 8. *Blood*. 2002 ; 100 : 259-267
- 27) Mohrin M., Bourke E., Alexander D., et al. ; Hematopoietic stem cell quiescence promotes error-prone DNA repair and mutagenesis. *Cell Stem Cell*. 2010 ; 7(2) : 174-185
- 28) Cluzeau T., Kosmider O. ; Quoi de neuf dans la physiopathologie des syndromes myélodysplasiques. *Correspondances en Onco-Hématologie*. 2017. Vol. XII (1) : 16-21
- 29) Claessens Y.E., Park S., Dubart-Kupperschmitt A., et al. ; Rescue of early-stage myelodysplastic syndrome-deriving erythroid precursors by the ectopic expression of a dominant-negative form of FADD. *Blood*. 2005 ; 105(10) : 4035-4042
- 30) Frisan E., Vandekerckhove J., de Thonel A., et al. ; Defective nuclear localization of Hsp70 is associated with dyserythropoiesis and *GATA-1* cleavage in myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2012 ; 119(6) : 1532-1542
- 31) Haase D., Germing U., Schanz J., et al. ; New insights into the prognostic impact of the karyotype in SMD with subtypes : evidence from a core dataset of 2124 patients. *Blood*. 2007; 110(13) : 4385-4395
- 32) Ebert B.L., Pretz J., Bosco J., et al. ; Identification of *RPS14* as a 5q- syndrome gene by RNA interference screen. *Nature*. 2008 ; 451 : 335-344
- 33) Genovese G. Kälher A.K., Rose S.A., et al. ; Clonal hematopoiesis and blood-cancer risk inferred from blood DNA sequence. *N Engl J Med*. 2014 ; 371(26) : 2477-2487

BIBLIOGRAPHIE

- 34) Steensma D.P., Bejar R., Jaiswal S., et al. ; Clonal hematopoiesis of indeterminate potential and its distinction from myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2015 ; 126(1) : 9-16
- 35) Welch J.S., Ley T.J., Link D.C., et al. ; The origin and evolution of mutations in acute myeloid Leukemia. *Cell*. 2013 ; 150(2) : 264-278
- 36) Sperling A.S., Gibson C.J., Ebert B.L. ; The genetics of myelodysplastic syndromes : from clonal haematopoiesis to secondary leukemia. *Nature Reviews Cancer*. 2016 ; 112(17) : 5-19
- 37) Valent P., Horny H.P. ; Minimal diagnostic criteria for myelodysplastic syndromes and separation from *ICUS* and *IDUS* : update and open questions. *EJCI*. 2009 ; 39(7) : 548-553
- 38) Kwok B., Reddy P., Lin K., et al. ; Next-generation sequencing (NGS)-based profiling of idiopathic cytopenia of undetermined significance (*ICUS*) identifies a subset of patients with genomic similarities to lower-risk myelodysplastic syndrome (SMD). *Blood*. 2014 ; 124(21).Abstract 166
- 39) Kwok B., Hall J.M., Witte J.S., et al. ; SMD-associated somatic mutations and clonal hematopoiesis are common in idiopathic cytopenias of undetermined significance. *Blood*. 2015 ; 126(21) : 2355-2361
- 40) Valent P., Jäger E., Mitterbauer-Hohendanner G., et al. ; Idiopathic bone marrow dysplasia of unknown significance (*IDUS*) : definition, pathogenesis, follow up, and prognosis. *Am J Cancer Res*. 2011 ; 1(4) : 531-541
- 41) Wimazal F., Fonatsch C., Thalhammer R., et al. ; Idiopathic cytopenia of undetermined significance (*ICUS*) versus low risk MDS: the diagnostic interface. *Leuk Res*. 2007 ; 31(11) : 1461-1468
- 42) Papaemmanuil E., Gerstung M., Malcovati L., et al. ; Chronic Myeloid Disorders Working Group of the International Cancer Genome Consortium. Clinical and biological implications of driver mutations in myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2013 ; 122(22) : 3616-3627
- 43) Haferlach T., Nagata Y., Grossmann V., et al. ; Landscape of genetic lesions in 944 patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia*. 2014 ; 28: 241-247
- 44) Papaemmanuil E., Cazzola M., Caughey B., et al. ; Chronic myeloid disorders working group of the international cancer genome consortium. Somatic *SF3B1*

BIBLIOGRAPHIE

- mutation in myelodysplasia with ring sideroblasts. *N Engl J Med.* 2011 ; 365(15) : 1384-1395
- 45) Steensma D.P., Higgs D.R., Fisher C.A., et al. ; Acquired somatic *ATRX* mutations in myelodysplastic syndrome associated with alpha thalassemia (ATSMD) convey a more severe hematologic phenotype than germline *ATRX* mutations. *Blood.* 2014 ; 103(6) : 2019-2026
- 46) Gelsi-Boyer V., Trouplin V., Adelaide J., et al. ; Mutations of polycomb-associated gene *ASXL1* in myelodysplastic syndromes and chronic myelomonocytic leukemia. *BJH.* 2009 ; 145(6) : 788-800
- 47) Ernst T., Chase A.J., Score J., et al. ; Inactivating mutations of the histone methyltransferase gene *EZH2* in myeloid disorders. *Nature Genetics.* 2010 ; 42 : 722-726
- 48) Quesnel B., Guillermin G., Vereecque R., et al. ; Methylation of the *p15INK4b* gene in myelodysplastic syndromes is frequent and acquired during disease progression. *Blood.* 1998 ; 91 : 2985-90
- 49) Jiang Y., Dunbar A., Gondek L.P., et al. ; Aberrant DNA methylation is a dominant mechanism in SMD progression to AML. *Blood.* 2009 ; 113 : 1315-1325
- 50) Viguie F., Aboura A., Bouscary D., et al. ; Common 4q24 deletion in four cases of hematopoietic malignancy: early stem cell involvement? *Leukemia.* 2005 ; 19(8) : 1411-1415
- 51) Delhommeau F., Dupont S., Della Valle V., et al. ; Mutations of *TET2* in myeloid cancers. *N Engl J Med.* 2009 ; 360(22) : 2289-230
- 52) Tefferi A., Lim K.H., Abdel-Wahab O., et al. ; Detection of mutant *TET2* in myeloid malignancies other than myeloproliferative neoplasms : CMML, MDS, MDS/MPN and AML. *Leukemia.* 2009 ; 23(7) : 1343-1345
- 53) Abdel-Wahab O., Mullally A., Hedvat C., et al. ; Genetic characterization of *TET1*, *TET2* and *TET3* alteration in myeloid malignancies. *Blood.* 2009 ; 114 : 144-147
- 54) Jankowska A.M., Szpurka H., Tiu R.V., et al. ; Loss of heterozygosity 4q24 and *TET2* mutations associated with myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms. *Blood.* 2009 ; 113 : 6403-6410
- 55) Langemeijer S.M.C., Kuiper R.P., Berends M., et al. ; Acquired mutations in *TET2* are common in myelodysplastic syndromes. *Nature Genetics.* 2009 ; 41 : 838-842

BIBLIOGRAPHIE

- 56) Abdel-Wahab O., Levine R.L. ; Mutations in epigenetic modifiers in the pathogenesis and therapy of acute myeloid leukemia. *Blood*. 2013 ; 121 : 3563-3572
- 57) Yoshida K., Sanada M., Shiraishi Y., et al. ; Frequent pathway mutations of splicing machinery in myelodysplasia. *Nature*. 2011 ; 478 : 64-69
- 58) Graubert T.A., Shen D., Ding L., et al. ; Recurrent mutations in the *U2AF1* splicing factor in myelodysplastic syndromes. *Nature Genetics*. 2012 ; 44 : 53-57
- 59) Saif M.W., Hopkins J.L., Gore S.D., et al. ; Autoimmune phenomena in patients with myelodysplastic syndromes and chronic myelomonocytic leukemia. *Leuk Lymphoma*. 2002 ; 43 : 2083-2092
- 60) Berthier S., Magy N., Gil H., et al. ; Myélodysplasies et maladies systémiques : une association non fortuite. *Rev Med Interne*. 2001 ; 22 : 428-432
- 61) Hamidou M., Derenne S., Audrain M., et al. ; Prevalence of rheumatic manifestations and antineutrophil cytoplasmic antibodies in haematological malignancies. A prospective study. *Rheumatology*. 2000 ; 39 : 417-420
- 62) Piette J.C., Papo T., Chavanon P., et al. ; Myelodysplasia and relapsing polychondritis. *J Rheumatol*. 1995 ; 22 : 1208-1209
- 63) Steensma D.P. ; Dysplasia has a differential diagnosis : Distinguishing Genuine Myelodysplastic Syndromes from mimics, imitators, copycats and impostors. *Current Hematologic Malignancy Reports*. 2012 ; 7(4) : 310-320
- 64) Wagner-Ballon O., Imbert M. ; Dysmyélopoïèse et syndromes myélodysplasiques : description - démarche diagnostique. *Revue Francophone des laboratoires*. 2009
- 65) Boutault R., Eveillard M. ; Acquired elliptocytosis in the setting of a refractory anemia with excess blasts and del(20q). *Blood*. 2016 ; 127 : 2646
- 66) Gupta R., Soupir C.P., Johari V., et al. ; Myelodysplastic syndrome with isolated deletion of chromosome 20q : an indolent disease with minimal morphological dysplasia and frequent thrombocytopenic presentation. *Br J Haematol*. 2007 ; 139 : 265-268
- 67) Braun T., De Botton S., Taksin A.L., et al. ; Characteristics and outcome of myelodysplastic syndromes MDS with isolated del(20q) : a report on 62 cases. *Leuk Res*. 2011 ; 35 : 863-867
- 68) Lai J.L., Zandecki M., Fenaux P., et al. ; Translocations (5;17) and (7;17) in patients with de novo or therapy-related myelodysplastic syndromes or acute nonlymphocytic

BIBLIOGRAPHIE

- leukemia: A possible association with acquired pseudo-Pelger-Huët anomaly and small vacuolated granulocytes. *Cancer Genetics and cytogenetics*. 1990 ; 46(2) : 173-183
- 69) Jary L., Mossafa H., Fourcade C., et al. ; The 17p-Syndrome: A Distinct Myelodysplastic Syndrome Entity ? *Leukemia and Lymphoma*. 1997 ; 25 : 163-168
- 70) Kosenow W., Scupin R. ; Die Bestimmung des Geschlechts mit Hilfe einer Kernanhangsformel der Leukocyten. *Acta Haematologica*. 1956 ; 15 : 349
- 71) Hast R., Nilsson I., Widell S., et al. ; Diagnostic significance of dysplastic features of peripheral blood polymorphs in myelodysplastic syndromes. *Leukemia Research*. 1989 ; 13(2) : 173-175
- 72) Mufti G.J., Bennett J.M., Goasguen J., et al. ; Diagnosis and classification of myelodysplastic syndrome : International Working Group on Morphology of Myelodysplastic Syndrome (IWGM-SMD) consensus proposals for the definition and enumeration of myeloblasts and ring sideroblasts. *Haematologica*. 2008 ; 93 : 1712-1717
- 73) Haase D., Fonatsch C., Freund M., et al. ; Cytogenetic findings in 179 patients with myelodysplastic syndromes. *Annals of Hematology*. 1995 ; 70(4) : 171-187
- 74) Le Beau M.M., Albain K.S., Larson R.A., et al. ; Clinical and cytogenetic correlations in 63 patients with therapy-related myelodysplastic syndromes and acute nonlymphocytic leukemia : further evidence for characteristic abnormalities of chromosomes no. 5 and 7. *JCO*. 1986 ; 4(3) : 325-370
- 75) Climent M. ; Incidence, characterization and prognostic significance of chromosomal abnormalities in 640 patients with primary myelodysplastic syndromes. *BJH*. 2000 ; 108(2) : 346-356
- 76) Sole F., Luno E., Sanzo C., et al. ; Identification of novel cytogenetic markers with prognostic significance in a series of 968 patients with primary myelodysplastic syndromes. *Haematologica*. 2005 ; 90(9) : 1168-1178
- 77) Greenberg P., Cox C. LeBeau M., et al. ; International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. *Blood*. 1997 ; 89(6) : 2079-2088
- 78) Dreyfus F., Bouscary D., Melle J., et al. ; Expression of *EVI-1* gene in myelodysplastic syndromes. *Leukemia*. 1995 ; 9 : 203-205

BIBLIOGRAPHIE

- 79) Van de Loosdrecht A.A., Alhan C., Bene M.C., et al. ; Standardization of flow cytometry in myelodysplastic syndromes : report from the first European LeukemiaNet working conference on flow cytometry in SMD. *Haematologica*. 2009 ; 94(8) : 1124-1134
- 80) Westers T.M., Ireland R., Kern W., et al. ; Standardization of flow cytometry in myelodysplastic syndromes : a report from an international consortium and the European LeukemiaNet Working group. *Leukemia*. 2012 ; 26(7) : 1730-1741
- 81) Maynadié M., Picard F., Husson B., et al. ; Immunophenotypic clustering of myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2002 ; 100(7) : 2349-2356
- 82) Ogata K., Della Porta M.G., Malcovati L., et al. ; Diagnostic utility of flow cytometry in low-grade myelodysplastic syndromes : a prospective validation study. *Haematologica*. 2009 ; 94(8) : 1066-1074
- 83) Mathis S., Chapuis N., Debord C., et al. ; Flow cytometric detection of dyserythropoiesis: a sensitive and powerful diagnostic tool for myelodysplastic syndromes. *Leukemia*. 2013 ; 27(10) : 1981-1987
- 84) Papaemmanuil E., Gerstung M., Malcovati L., et al. ; Clinical and biological implications of driver mutations in SMD. *Blood*. 2013 ; 122(22) : 3616-3627
- 85) Malcovati L., Karimi M., Papaemmanuil E., et al. ; *SF3B1* mutation identifies a distinct subset of myelodysplastic syndrome with ring sideroblasts. *Blood*. 2015 ; 126(2) : 233-241
- 86) Kosmider O., Gelsi-Boyer V., Cheek M., et al. ; *TET2* mutation is an independent favorable prognostic factor in myelodysplastic syndromes (MDSs). *Blood*. 2012 ; 114(15) : 3285-3291
- 87) Thol F., Friesen I., Damm F., et al. ; Prognostic significance of *ASXL1* mutations in patients with myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol*. 2011 ; 29(18) : 2499-2506
- 88) Bejar R., Stevenson K., Abdel-Wahab O., et al. , Clinical Effect of Point Mutations in Myelodysplastic Syndromes. *N Engl J Med*. 2011 ; 364(26) : 2496-2506
- 89) Wattel E., Preudhomme C., Hecquet B., et al. ; *p53* mutations are associated with resistance to chemotherapy and short survival in hematologic malignancies. *Blood*. 1994 ; 84(9) : 3148-3157

BIBLIOGRAPHIE

- 90) Bejar R., Stevenson K.E., Caughey B.A., et al. ; Validation of a prognostic model and the impact of mutations in patients with lower-risk myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol.* 2012 ; 30 : 3376-3382
- 91) Malcovati L., Karimi M., Papaemmanuil E., et al. ; *SF3B1* mutation identifies a distinct subset of myelodysplastic syndrome with ring siderolasts ; *Blood.* 2015 ; 126(2) : 233-241
- 92) Santini V. ; Treatment of low-risk myelodysplastic syndromes. *ASH Education Program Book.* 2016 ; 462-469
- 93) Kosmider O., Passet M., Santini V., et al. ; Are somatic mutations predictive of response to erythropoiesis stimulating agents in lower risk myelodysplastic syndromes? *Haematologica.* 2016 ; 101(7) : 280-283
- 94) Kosmider O., Gelsi-Boyer V., Cheek M., et al. ; *TET2* mutations is an independent favorable prognostic factor in myelodysplastic syndromes. *Blood.* 2009 ; 114 : 3285-329
- 95) Bejar R., Stevenson K.E., Caughey B., et al. ; Somatic mutations predict poor outcome in patients with myelodysplastic syndrome after hematopoietic stem-cell transplantation. *J Clin Oncol.* 2014 ; 32(25) : 2691-2698
- 96) Naqvi K., Jabbour E., Bueso-Ramos C., et al. ; Implications of discrepancy in morphologic diagnosis of myelodysplastic syndrom between referral and tertiary care centers. *Blood.* 2011 ; 118(17) : 4690-4693
- 97) Sauntharajah Y., Molldrem J.J., Rivera M., et al. ; Coincident myelodysplastic syndrome and T-cell large granular lymphocytic disease : clinical and pathophysiological features. *BJH.* 2001 ; 112(1) : 195-200
- 98) Hue Y.O., Medeiros L.J., Ravandi F., et al.; T-cell large granular lymphocyte leukemia associated with myelodysplastic syndrome : a clinicopathologic study of nine cases. *AJCP.* 2009 ; 131(3) : 347-356
- 99) Toyama K., Ohyashiki K., Yoshida Y., et al.; Clinical and cytogenetic findings of myelodysplastic syndromes showing hypocellular bone marrow or minimal dysplasia, in comparison with typical myelodysplastic syndromes. *Int J Hematol.* 1993 ; 58(1-2) : 53-61

BIBLIOGRAPHIE

- 100) Della Porta M.G., Malcovati L., Boveri E., et al. ; Clinical Relevance of Bone Marrow Fibrosis and CD34-Positive Cell Clusters in Primary Myelodysplastic Syndromes. *J Clin Oncol.* 2008 ; 27(5) : 754-762
- 101) Rochant H. ; Myelodysplastic syndromes : unusual and mild forms. *Pathol Biol.* 1997 ; 45 : 579-586
- 102) Sashida G., Takaku T.I., Shoji N., et al. ; Clinico-hematologic features of myelodysplastic syndromes presenting as isolated thrombocytopenia : an entity with a relatively favorable prognosis. *Leuk Lymphoma.* 2003 ; 44 : 653-658
- 103) Cotter P.D., May A., Fitzsimons E.J., et al. ; Late-onset X-linked sideroblastic anemia. Missense mutations in the erythroid delta-aminulevulinate synthase (*ALAS2*) gene in two pyridoxine-responsive patients initially diagnosed with acquired refractory anemia and ringed sideroblasts. *JCI.* 1995 ; 96(4) : 2090-2096
- 104) Latvala J., Parkkila S., Niemalä O. ; Excess alcohol consumption is common in patients with cytopenia : studies in blood and bone marrow cells. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research.* 2004 ; 28(4) : 619-624
- 105) Ballard H.S. ; The hematological complications of alcoholism. *Alcohol Health and Research World.* 1997
- 106) Schanz J., Tüchler H., Solé F., et al. ; New comprehensive Cytogenetic scoring system for primary SMD and oligoblastic acute myeloid leukemia after SMD derived from an international database merge. *J Clin Oncol.* 2012 ; 30(8) : 820-829
- 107) Schanz J., Steidl C., Fonatsch C., et al. ; Coalesced multicentric analysis of 2351 patients with myelodysplastic syndromes indicates an underestimation of poor-risk cytogenetics of myelodysplastic syndromes in the International Prognostic Scoring System. *J Clin Oncol.* 2011 ; 29(15) : 1963-1970
- 108) Greenberg P., Tuechler H., Schanz J., et al. ; Revised International Prognostic Scoring System for myelodysplastic syndromes. *Blood.* 2012 ; 120(12) : 2454-2465
- 109) Valcarcel D., Sanz G., Ortega M., et al. ; Use of a newer prognostic indices for patients with myelodysplastic syndromes in the low and intermediate-1 risk categories : a population-based study. *Lancet Haematol.* 2015 ; 2(6) : 260-266
- 110) Pfeilstöcker M., Tüchler H., Schönmetzler A., et al. ; Time changes in predictive power of established and recently proposed clinical, cytogenetical and comorbidity scores for myelodysplastic syndromes. *Leuk Res.* 2012 ; 36(2) : 132-139

BIBLIOGRAPHIE

- 111) Malcovati L., Germing U., Kuendgen A., et al. ; Time-dependant prognostic scoring system for predicting survival and leukemic evolution in myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol.* 2007 ; 25(23) : 3503-3510
- 112) Estey E.H., Thall P.F., Wang X., et al. ; Effect of circulating blasts at time of complete remission on subsequent relapse-free survival time in newly diagnosed AML. *Blood.* 2003 ; 102(3) : 3097-3099
- 113) Germing U., Hildebrandt B., Pfeilstöcker M., et al. ; Refinement of the international prognostic scoring system (IPSS) by including LDH as an additional prognostic variable to improve risk assessment in patients with primary myelodysplastic syndromes (MDS). *Leukemia.* 2005 ; 19(12) : 2223-2231
- 114) Della Porta M.G., Malcovati L., Boveri E., et al. ; Clinical Relevance of Bone Marrow Fibrosis and CD34-Positive Cell Clusters in Primary Myelodysplastic Syndromes. *J Clin Oncol.* 2008 ; 27(5) : 754-762
- 115) Della Porta M.G., Malcovati L., Strupp C., et al. ; Risk stratification based on both disease status and extra-hematologic comorbidities in patients with myelodysplastic syndrome. *Haematologica.* 2011 ; 96(3) : 441-449
- 116) Hellström-Lindberg E.; Approach to anemia associated with myelodysplastic syndromes. *Curr Hematol Rep.* 2003 ; 2 : 122-129
- 117) Hellström-Lindberg E., Gulbrandsen N., Lingberg G., et al. ;A validated decision model for treating the anaemia of myelodysplastic syndromes with erythropoietin + granulocyte colony-stimulating factor:significant effect on quality of life. *BJH.* 2003 ; 120(6) : 1037-1046
- 118) Park S., Kelaidi C., Dreyfus F., et al. ; Le traitement des syndromes myélodysplasiques de faible grade. *Les syndromes myélodysplasiques de l'adulte. JLE.* 2006 ; 80-93
- 119) Santini V. ; Anemia as the main manifestation of myelodysplastic syndromes. *Semin Hematol.* 2015 ; 52(4) : 348-356
- 120) Park S., Grabar S., Kelaidi C., et al. ; Predictive factors of response and survival in myelodysplastic syndrome treated with erythropoietin and G-CSF: the GFM experience. *Blood.* 2008 ; 111(2) : 574-582

BIBLIOGRAPHIE

- 121) Santini V., Schemenau J., Levis A., et al. ; Can the revised IPSS predict response to erythropoietic-stimulating agents in patients with classical IPSS low or intermediate-1 SMD ? *Blood*. 2013 ; 122(13) : 2286-2288
- 122) Park S., Kelaidi C., Sapena R., et al. ; Early introduction of ESA in low risk SMD patients may delay the need for RBC transfusion : a retrospective analysis on 112 patients. *Leuk Res*. 2010 ; 34(11) : 1430-1436
- 123) Komrokji R.S., List A.F. ; Short- and long-term benefits of lenalidomide treatment in patients with lower-risk del(5q) myelodysplastic syndromes. *Ann Oncol*. 2016 ; 27(1) : 62-68
- 124) Fenaux P., Giagounidis A., Selleslag D., et al. ; A randomized phase III study of lenalidomide versus placebo in RBC transfusion dependant patients with low-/intermediate-1-risk myelodysplastic syndromes with del(5q). *Blood*. 2011 ; 118(14) : 3765-3775
- 125) Kulasekararaj A.G., Smith A.E., Mian S.A., et al. ; *TP53* mutations in myelodysplastic syndromes are strongly correlated with aberrations of chromosome 5, and correlated with adverse prognosis. *BJH*. 2013 ; 160(5) : 660-672
- 126) Tehranchi R., Woll P.S., Anderson K., et al. ; Persistent malignant stem cells in del(5q) myelodysplasia in remission. *N Engl J Med*. 2010 ; 363 : 1025-20137
- 127) Tehranchi R., Fadeel B., Forsblom A.M., et al. ; Granulocyte colony-stimulating factor inhibits spontaneous cytochrome c release and mitochondria-dependent apoptosis of myelodysplastic syndrome hematopoietic progenitors. *Blood*. 2003; 101 : 1080-1086
- 128) Garcia-Manero G., Jabbour E., Borthakur G., et al. ; Randomized open-label phase II study of decitabine in patients with low- or intermediate-risk myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol*. 2013 ; 31(20) : 2548-2553
- 129) Tobiasson M., Dybedahl I., Holm M.S., et al. ; Limited clinical efficacy of azacitidine in transfusion-dependent, growth factor-resistant, low- and Int-1-risk SMD : results from the nordic NSMDG08. A phase II trial. *Blood Cancer J*. 2014 ; 4 : e189
- 130) Thépot S., Ben Abdelali R., Chevret S., et al. ; Groupe Francophone des Myélodysplasies (GFM). A randomized phase II trial of azacitidine +/- epoietin- β in lower risk myelodysplastic syndromes resistant to erythropoietic stimulating agents. *Haematologica*. 2016 ; 101(8) : 918-925

BIBLIOGRAPHIE

- 131) Toma A., Kosmider O., Chevret S., et al. ; Lenalidomide with or without erythropoietin in transfusion-dependant erythropoiesis-stimulating agent-refractory lower-risk SMD without 5q deletion. *Leukemia*. 2016 ; 30(4) : 897-905
- 132) Giagounidis A., Platzbecker U., Germing U., et al. ; Luspatercept treatment leads to long term increases in hemoglobin and reductions in transfusion burden in patients with low or intermediate-1 risk myelodysplastic syndromes (SMD) : preliminary results from the phase 2 PACE-SMD extension study. *Blood*. 2015 ; 126(23). Abstract 92
- 133) Itzykson R., Ayari S., Vassilief D., et al. ; Is there a role for all-trans retinoic acid in combination with recombinant erythropoetin in myelodysplastic syndromes ? A report on 59 cases ; *Leukemia*. 2009 ; 23(4) : 673-678
- 134) Vey N., Bosly A., Guerci A., et al. ; Arsenic Trioxide in Patients With Myelodysplastic Syndromes : A Phase II Multicenter Study. *J Clin Oncol*. 2006 ; 24(16) : 2465-2471
- 135) Nachtkamp K., Stark R., Strupp C., et al. ; Causes of death in 2877 patients with myelodysplastic syndromes. *Ann Hematol*. 2016 ; 95(6) : 937-944
- 136) Sekeres M.A., Kantarjian H., Fenaux P., et al. ; Subcutaneous or intravenous administration of romiplostim in thrombocytopenic patients with lower risk myelodysplastic syndromes. *Cancer*. 2011 ; 117(5) : 992-1000
- 137) Della Porta M.G., Alessandrino E.P., Bacigalupo A., et al. ; Predictive factors for the outcome of allogeneic transplantation in patients with SMD stratified according to the revised IPSS-R. *Blood*. 2014 ; 123(15) : 2333-2342
- 138) Sierra J., Perez W.S., Rozman C., et al. ; Bone marrow transplantaion from HLA-identical siblings as treatment for myelodysplasia. *Blood*. 2002 ; 100 : 1997-2004
- 139) Yacoub-Agha I., Deeg J.; Are hypomethylating agent replacing induction-type chemotherapy before allogeneic stem cell transplantation in patients with myelodysplastic syndrome. *BBMT*. 2014 ; 20 : 1885-1890
- 140) Schmid C., Schleuning M., Schwerdtfeger R., et al. ; Long term survival in refractory acute myeloid leukemia after sequential treatment with chemoterapy and reduced-intensity conditionning for allogeneic stem cell transplantation. *Blood*. 2006 ; 108 : 1092-1099

BIBLIOGRAPHIE

- 141) Anasetti C., Logan B.R., Lee S.J., et al. ; Peripheral-blood stem cells versus bone marrow from unrelated donors. *N Engl J Med.* 2012 ; 367 (16) : 1487-1496
- 142) Nevill T.J., Fung H.C., Sheperd J.D., et al. ; Cytogenetic abnormalities in primary myelodysplastic syndrome are highly predictive of outcome after allogeneic bone marrow transplantation. *Blood.* 1998 ; 92 : 1910-1917
- 143) Saillard C., Vey N. ; Traitement des syndromes myélodysplasiques de haut risque. *Correspondances en onco-hématologie.* 2017 ; 12(1) : 41-44
- 144) Malcovati L.; Diagnosis and treatment of primary myelodysplastic syndromes in adults : recommendations from the European LeukemiaNet. *Blood.* 2013 ; 122 : 2943-2964
- 145) Kantarjian H., Beran M., Cortes J., et al. ; Long-term follow-up results of the combination of topotecan and cytarabine and other intensive chemotherapy regimens in myelodysplastic syndrome. *Cancer.* 2006 ; 106(5) : 1099-1109
- 146) Von Hoff D.D., Slavik M., Muggia F.M. ; 5-Azacytidine. A new anticancer drug with effectiveness in acute myelogenous leukemia. *Ann Intern Med.* 1976 ; 85(2) : 237-245
- 147) Quintás-Cardama A., Santos F.P.S., Garcia-Manero G.; Therapy with azanucleosides for myelodysplastic syndromes. *Nat Rev Clin Oncol.* 2010 ; 7(8) : 433-444
- 148) Issa J.P., Kantarjian H.M., Kirkpatrick P., et al. ; Azacitidine. *Nature Reviews Drug Discovery.* 2005 ; 4(4) : 275-276
- 149) Silverman L.R., Demakos E.P., Peterson B.L., et al. ; Randomized, controlled trial of azacitidine in patients with the myelodysplastic syndrome : a study of the Cancer and Leukemia Group. *J Clin Oncol.* 2002 ; 20(10) : 2429-2440
- 150) Fenaux P., Mufti G.J., Hellstrom-Lindberg E., et al. ; Efficacy of azacitidine compared with with that of conventional care regimens in the treatment of higher-risk myelodysplastic syndromes : a randomised, open-label, phase III study. *Lancet Oncol.* 2009 ; 10(3) : 223-232
- 151) Itzykson R., Thépot S., Quesnel B., et al. ; Prognostic factors for response and overall survival in 282 patients with higher-risk myelodysplastic syndromes treated with azacitidine. *Blood.* 2011 ; 117 (2) : 403-411

BIBLIOGRAPHIE

- 152) Itzykson R., Kosmider O., Cluzeau T., et al. ; Impact of *TET2* mutations on response rate to azactidine in myelodysplastic syndromes and low blast count acute myeloid leukemias. *Leukemia*. 2011 ; 25(7) : 1147-1152
- 153) Komrokji R.S., Sekeres M.A., Prébet T., et al. ; Impact of cytogenetics and cytogenetic response on outcome in myelodysplastic syndromes treated with azacitidine. A collaborative study in 878 patients. *Blood*. 2013 ; 122(21) ; Abstract 389
- 154) Kantarjian H., Issa J.P., Rosenfeld C.S., et al. ; Decitabine improves patient outcome in myelodysplastic syndromes. *Cancer*. 2006 ; 106(8) : 1794-1803
- 155) Prébet T., Gore S.D., Esterni B., et al. ; Outcome of high- risk myelodysplastic syndrome after azacitidine treatment failure. *J Clin Oncol*. 2011 ; 29(24) : 3322-3327
- 156) Bejar R., Lord A., Stevenson K., et al. ; *TET2* mutations predict response to hypomethylating agents in myelodysplastic syndrome patients. *Blood*. 2014 ; 124(17) : 2705-2712
- 157) Yang H., Bueso-Ramos C., DiNardo C., et al. ; Expression of PD-L1, PD-L2, PD1 and CTLA4 in myelodysplastic syndromes is enhanced by treatment with hypomethylating agents. *Leukemia*. 2012 ; 28(6) : 1280-1288
- 158) Cheson B.D., Greenberg P.L., Bennett J.M., et al. ; Clinical application and proposal for modification of the International Working Group (IWG) response criteria in myelodysplasia. *Blood*. 2006 ; 108(2) : 419-425
- 159) Cheson B.D., et al. ; Report of an international working group to standardize response criteria for myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2000 ; 96 : 3671-3674
- 160) Coulter W.H. ; High speed automatic blood cell counter and cell size analyzer. *Proc Natl Electron Conf*. 1956
- 161) Henriot I., Launay E., Boubaya M., et al. ; New parameters on the hematology analyzer XN-10 (SysmexTM) allow to distinguish childhood bacterial and viral infections. *Int J Lab Hematol*. 2016 ; 39(1) : 14-20
- 162) Le Roux G., Vlad A., Eclache V., et al. ; Routine diagnostic procedures of myelodysplastic syndromes : value of a structural blood cell parameter (NEUT-X) determined by the Sysmex XE-2100. *Int J Lab Hematol*. 2010 ; 32(6) : 237-243
- 163) Zimmermann M., Steenhuis P., Linssen J., et al. ; Detection and quantification of hypo-and hypergranulated on the new Sysmex XN hematology analyzer :

BIBLIOGRAPHIE

- establishment of an adapted reference interval for the neutrophil granularity-intensity compared to XE-technology in adult patients. *Clin Lab.* 2015 ; 61 : 235-241
- 164) Furundarena J.R., Araiz M., Uranga M., et al. ; The utility of the Sysmex XE-2100 analyzer's NEUT-X and NEUT-Y parameters for detecting neutrophil dysplasia in myelodysplastic syndromes. *Int J Lab Hematol.* 2010 ; 32(3) : 360-366
- 165) Ruzicka K., Veitl M., Thalhammer-Scherrer R., et al. ; The new hematology analyzer Sysmex XE-2100 : performance evaluation of a novel white blood cell differential technology. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine.* 2001 ; 125(3) : 391-396
- 166) Boutault R., Tremblais S., Lopes M., et al.; Interest of the XN-10 Analyzer to screen for Myelodysplastic Syndromes on Complete Blood Count (CBC) Especially with Hemoglobin Levels and Neut-WX. *Blood.* 2016 ; 128(22) : 5518
- 167) Onofrio G., Kuse R., Foures C., et al. ; Reticulocytes in haematological disorders. *Clinical & Laboratory Haematology.* 1996 ; 18(1) : 29-34
- 168) Seo J.Y., Lee S.T., Kim S.H. ; Performance evaluation of the new hematology analyzer Sysmex XN-series. *Int J Lab Hematol.* 2015 ; 37(2) : 155-164
- 169) Watanabe K., Kawai Y., Takeuchi K., et al. ; Reticulocyte maturity as an indicator for estimating qualitative abnormality of erythropoiesis. *Journal of Clinical Pathology.* 1994 ; 47(8) :736-739
- 170) Bowen D., Williams K., Phillips I., et al. ; Cytometric analysis and maturation characteristics of reticulocytes from myelodysplastic patients. *Clinical & Laboratory Haematology.* 1996 ; 18(3) : 155-160
- 171) Ko Y.J., Hur M., Kim H., et al. ; Reference interval for immature platelet fraction on Sysmex XN hematology analyzer : a comparison study with Sysmex XE-2100. *CCLM.* 2014 ; 53(7) : 1091-1097
- 172) Sakuragi M., Hayashi S., Maruyama M., et al. ; Clinical significance of IPF% or RP% measurement in distinguishing primary immune thrombocytopenia from aplastic thrombocytopenic disorders. *IJH.* 2015 ; 101(4) : 369-375
- 173) Troussard X., Vol S., Cornet E., et al. ; Full blood count normal reference values for adults in France. *Journal of Clinical Pathology.* 2013 ;

BIBLIOGRAPHIE

- 174) Greenberg P., Tuechler H., Schanz J., et al. ; Cytopenia levels for aiding establishment of the diagnosis of myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2016 ; 128(16) : 2096-2097
- 175) Beutler E., Waalen J. ; The definition of anemia : what is the lower limit of normal of the blood hemoglobin concentration ? *Blood*. 2006 ; 107(5) : 1747-1750
- 176) Segal J.B., Moliterno A.R. ; Platelets counts differ by sex, ethnicity, and age in the United States. *Annals of Epidemiology*. 2006 ; 16(2) : 123-13
- 177) Biino G., Santimone I., Minelli C., et al. ; Age- and sex-related variations in platelet count in Italy : a proposal of reference ranges based on 40987 subjects' data. *PloS one*. 2013 ; 8(1) : 1-7
- 178) Genevieve F., Galois A.C., Mercier-Bataille D., et al. ; Revue microscopique du frottis sanguin : propositions du Groupe Francophone d'Hématologie Cellulaire (GFHC). *Feuillets de Biologie*. 2014 ; 317 : 7-16
- 179) Raess P., Van de Geijn G., Njo T., et al. ; Automated screening for myelodysplastic syndromes through analysis of complete blood count and cell population data parameters. *Am J Hematol*. 2014 ; 89 : 369-374
- 180) Ljung T., Back R., Hellstrom-Lindberg E. ; Hypochromic red blood cells in low-risk myelodysplastic syndromes : effects of treatment with hematopoietic growth factors. *Haematologica*. 2004 ; 89 : 1446-1556

SERMENT DE GALIEN



Je jure, en présence des maîtres de la faculté et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Vu, le Président du jury,

Marie-Christine BENE

Vu, le Directeur de thèse,

Marion EVEILLARD

Vu, le Directeur de l'UFR,

Nom - Prénoms : BOUTAULT Robin, Guillaume

Titre de la thèse : Intérêt de l'analyseur SYSMEX XN-10[®] dans le dépistage des syndromes myélodysplasiques à partir d'une numération formule sanguine.

Résumé de la thèse : Cent huit patients pour lesquels le diagnostic de SMD de novo a été confirmé par les données combinées de la NFS, du myélogramme et du caryotype médullaire ont été inclus de façon prospective dans cette étude. Un hémogramme a été réalisé pour chacun de ces patients sur l'analyseur XN-10[®], incluant les paramètres classiques de l'hémogramme (hémoglobine, VGM, plaquettes, polynucléaires neutrophiles) ainsi que des paramètres de recherche (Ne-WX pour la lignée neutrophile, IRF pour la lignée érythrocytaire et H-IPF pour les plaquettes). En combinant ces paramètres au sein d'un algorithme multiparamétrique, cette étude montre qu'il est possible de calculer un score prédictif de SMD avec une sensibilité de 94% et une spécificité de 94%. Ce score doit faire l'objet d'une validation sur une seconde cohorte de patients, afin de confirmer son intérêt dans le dépistage et l'aide au diagnostic des SMD.

Mots-clés : SYNDROMES MYELODYSPLASIQUES, DEPISTAGE, SYSMEX XN-10[®], SANG, HEMOGRAMME, Ne-WX

JURY :

Président :

Mme Marie-Christine BENE, Professeur des Universités – Praticien Hospitalier, Laboratoire d'Hématologie Biologique, Faculté de Médecine, CHU de Nantes

Asseseurs :

Mr Jean-Marie BARD, Professeur des Universités – Praticien Hospitalier, Laboratoire de Biochimie, Faculté de Pharmacie, Institut de Cancérologie de l'Ouest

Mr Marc MAYNADIE, Professeur des Universités – Praticien Hospitalier, Laboratoire d'Hématologie Biologique, Faculté de Médecine, CHU de Dijon

Mr Pierre PETERLIN, Praticien Hospitalier, Service d'Hématologie Clinique, CHU de Nantes

Directeur de thèse :

Mme Marion EVEILLARD, Praticien Hospitalier, Laboratoire d'Hématologie Biologique, Faculté de Pharmacie, CHU de Nantes

Adresse de l'auteur : 4, place des jacobins – 44000 NANTES