

# Cytogénétiques des Myélodysplasies et classifications

V Eclache CHU Avicenne

# Myélodysplasies

- Définition :

- Affections clonales des cellules souches hématopoïétiques, moelle riche
- cytopénies et signes de dysplasie sur une ou plusieurs lignée
- <20% de blastes

3 à 5/100 000 hab/an

➤ > 70 ans 15/100 000/an

Syndrome préleucémique

# Cytogénétiques des MDS

- 30-50% des MDS de novo
- 70-80% des MDS secondaires
- Aspect clonal de la MDS
- Anomalies de type délétions del 5q; del 20q ; del 11q ;del 7q ; del 13q
- pertes chromosomiques : -7 ; -Y
- Trisomies : 8 (10-20%) , +11, +21, +6, +13
- Les translocations réciproques sont rares
- Peu de relation translocation et entité cytogénétique - morphologique
- Caryotype complexe: >ou=3 anomalies
  - 15 à 20% des MDS de novo
  - 50 % des MDS 2aires
- Taux d'anomalie augmente avec le % de blastes

# Classification OMS 2008 des SMD

## Dysmyélopoïèses sans excès de blastes

	sang	moelle
Cytopénies réfractaires (AR; NR; TR)	Une ou 2 cytopénies Abs de blaste (<1%)	Dysplasie >10% 1 lignée <5% bl; <15% r-sidéro
AR avec sidéroblastes	Anémie	> 15% sidéroblastes en couronne
<b>CRDM :Cytopénies Réfractaires dysplasies multi-lignées</b>	Bi- pancytopénie Abs de blaste Mono < 1000mm <sup>3</sup> pas de corps d'Auer	Dysplasie >10% au moins 2 lignées Blastes < 5% +/- 15% sidéroblastes
SMD non classée	Cytopénies sans blaste	Dysplasie <10% Anomalie cytogénétique
Syndrome 5q-	A. Plaques Nales ou aug	Méga hypo lobés

# Classification WHO révisée : RCUD

- Cytopénie réfractaire avec dysplasie sur une seule lignée
  - Majorité de AR: Hb < 10g/dl
  - Neutropénie isolée (NR): PNN < 1.5 G/L
  - Trombocytopénie (TR) : < 100 G/L dysmégak

**Pré requis : chronicité (6 mois)**

## **Absence de cause identifiée:**

Toxicité med, chimio-radiothérapie,  
infection virale (HIV, EBV, CMV, HCV..)

Maladie maligne autre, clonalité T

**Présence de signes de dysplasie dans > 10% des cellules**

# Cytogénétique comme marqueur de clonalité

Place de la cytogénétique dans la  
nouvelle classification OMS

## Anomalies cytogénétiques considérées comme prédictives des SMD en l'absence de dysplasie

Anomalie	Fréquence estimée	Gènes impliqués
-7/del(7q)	10% chaque	?
-5/del(5q)	40- 50% si MDS 2aires	RPS14; SPARK;RBM22...
i(17q); t(17p)	3-5%	P53
-13; del(13q)	3%	?
Del(11q)	3%	
Del(12p); t(12p)	3%	ETV6
Del(9q)	1-2%	
Idic(X)(q13)	1-2%	
t(11;16)(q23;p13)	3% MDS 2aires	MLL; CREBBP
t(3;21)(q26;q22)	2% MDS 2aires	RUNX1; EVI1
t(1; 3)(p36;q26)	<1%	PRDM16;EVI1
t(2;11)(p21;q23)	<1%	miR-125b1
Inv(3)(q21q26); t(3;3)	<1%	EVI1; RPN1 regulator
t(6;9)(p23;q34)	<1%	DEK-NUP214

-Y, +8, del(20q) isolées ne suffisent pas pour affirmer le diagnostic

# Anomalies déséquilibrées

Anomalie	Fréquence estimée	Gènes impliqués
i(17q); t(17p)	3-5%	P53
-13; del(13q)	3%	?
Del(11q)	3%	
Del(12p); t(12p)	3%	ETV6/TEL
Del(9q)	1-2%	
Idic(X)(q13)	1-2%	

## Anomalies 17p

- Présentation cytologique particulière : dysgranulopoïèse avec hypolobulation des PN ( pseudo-pelger ) et vacuoles cytoplasmiques. patients traités par HU pour un sd myéloprolifératif et développant MDS 2aires.
- Mutation de P53 sur le 2ème allèle
- Cytogénétique:
  - translocations déséquilibrées ex t(5;17) et t(7;17)
  - délétions partielles ou complètes ex: iso(17)(q10)

# Anomalies équilibrées

Anomalie	Fréquence estimée	Gènes impliqués
t(11;16)(q23;p13)	3% MDS 2aires	MLL; CREBBP
t(3;21)(q26;q22)	2% MDS 2aires	RUNX1; EVI1
t(1; 3)(p36;q26)	<1%	PRDM16;EVI1
t(2;11)(p21;q23)	<1%	miR-125b1
Inv(3)(q21q26); t(3;3)	<1%	EVI1; RPN1 regulator
t(6;9)(p23;q34)	<1%	DEK-NUP214

## Inv(3)(q21q26); t(3;3)(q21;q26)

- Associées à une perturbation de la thrombopoïèse aboutissant à une association paradoxale : conservation/augmentation du taux de plaquettes malgré la présence de blastes médullaires ou sang.
- Dystrophie mégaK : anomalies de ploïdie et de segmentation des noyaux et micromégaK
- Proposée comme anomalie de haut risque pour la survie dans l'indice révisé de Bernasconi 2007
- Nombreux partenaires décrits → surexpression EVI1

# Cytogénétique et pronostic

# Score Pronostic International IPSS

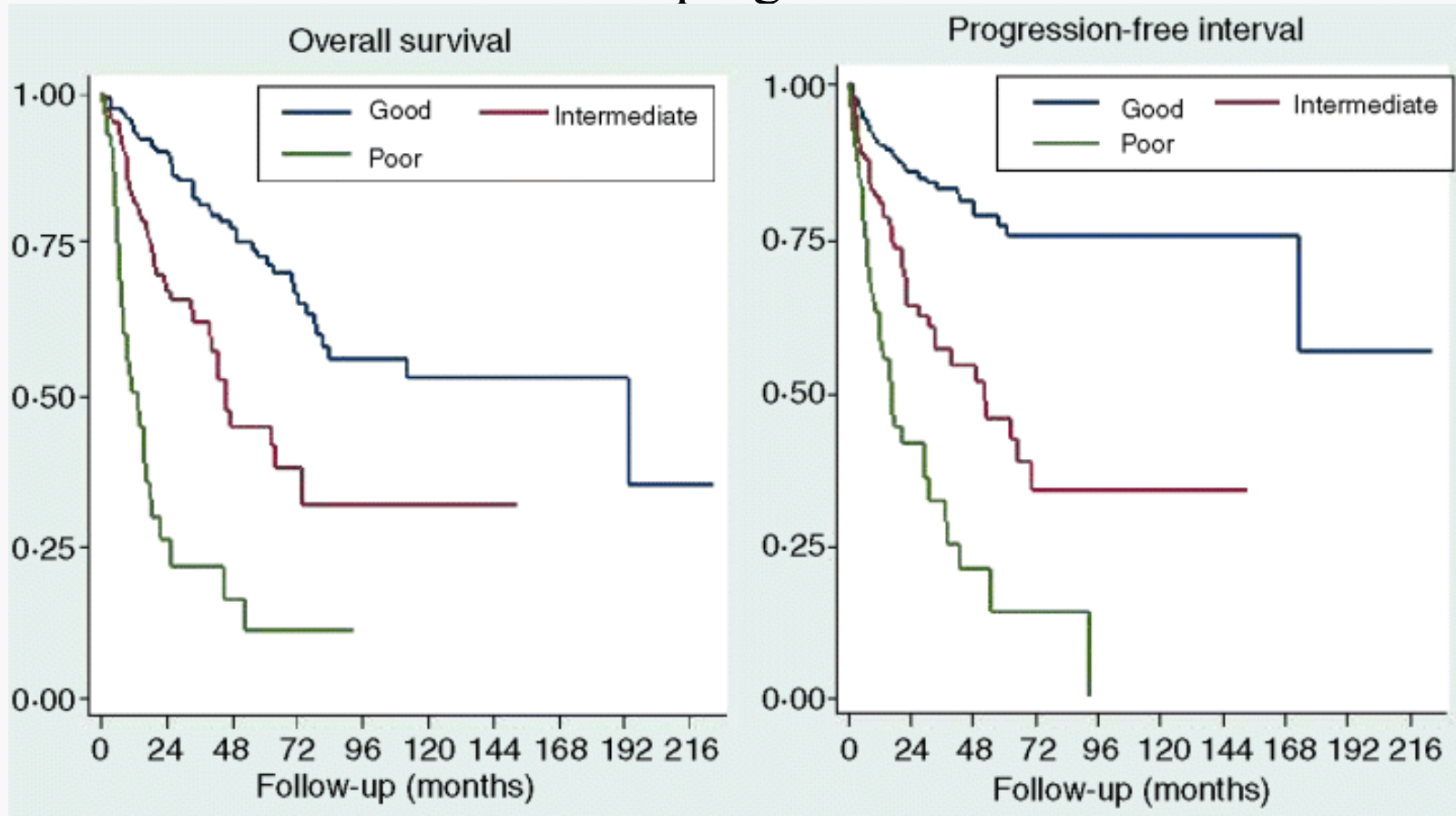
(Greenberg et al: Blood 1997,89 p 2079)

- Groupes pronostiques selon IPSS
  - cytopénies
  - blastes médullaire
  - cytogénétique
    - bon : NN, del(5q), del(20q), -Y, isolées
    - mauvais : AN 7, complexe (3 anomalies ou plus)
    - intermédiaire: +8 et autres

Score	0	0,5	1	1,5
Blastes mo	< 5%	5-10%		<b>11-20%</b>
caryotype	bon	interm	<b>mauvais</b>	
cytopénies	0 ou 1	2 ou 3		

Score permettant de définir l'évolution des patients en terme de survie (médiane 4 mois risque élevés à 68 mois risques faibles) et de transformation en LA sur la base de la classification FAB.

Selon la classification révisée OMS sur une série rétrospective de 467 patients italiens entre 1994 et 2002 confirme l'impact de la cytogénétique sur la survie globale et la survie sans progression en leucémie



# Limites de l'IPSS

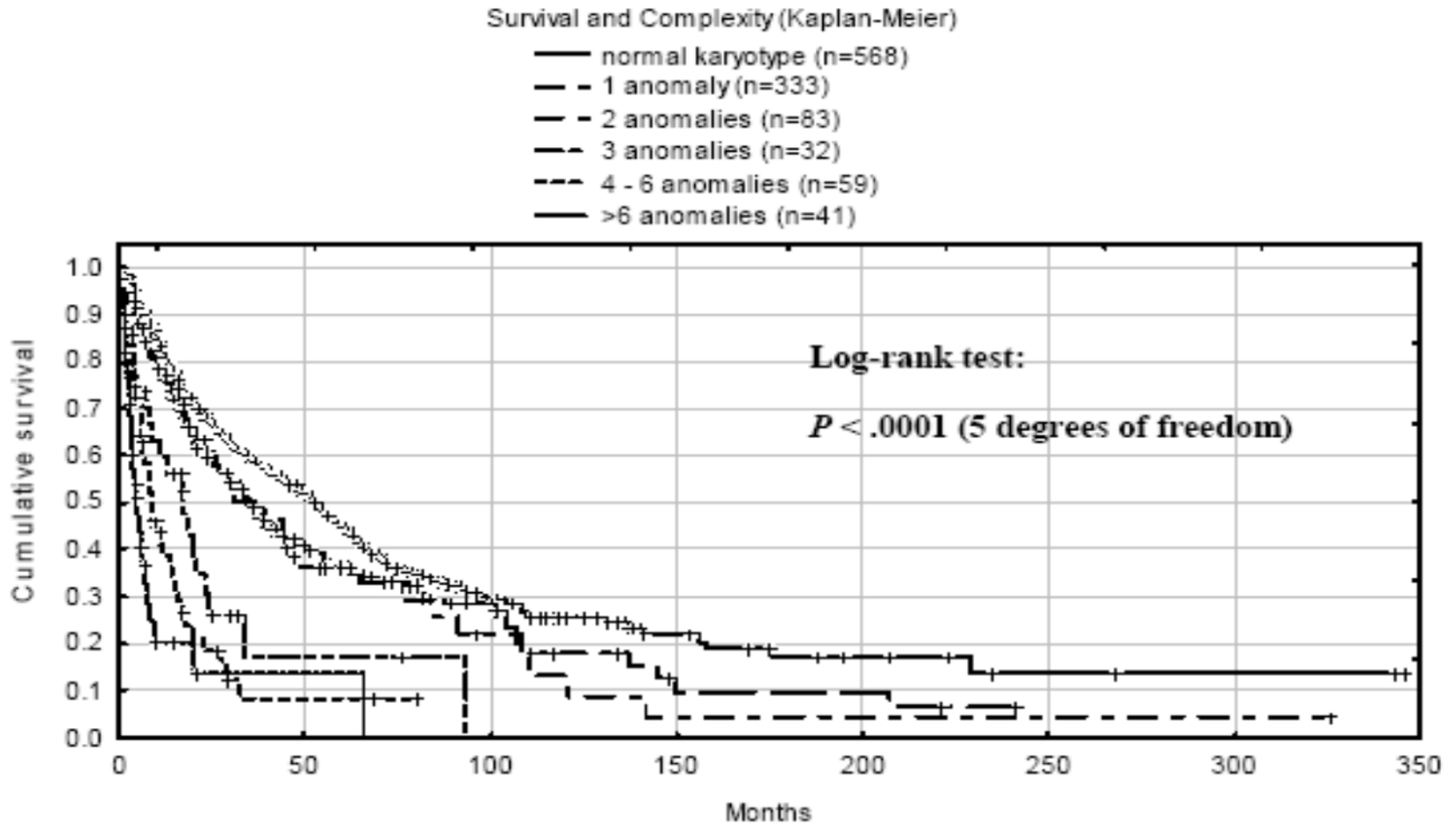
IPSS = gold standard pour évaluer le pronostic des SMD

## Cependant :

- Les données pronostiques découlant de l'IPSS s'appliquent aux anomalies cytogénétiques les plus fréquentes
- Les anomalies de type intermédiaire sont un diagnostic d'exclusion
- Poids réel d'un caryotype à risque élevé comparé au % de blastes ?
- Quel est l'impact pronostique des **anomalies chromosomiques rares (< 2% des cas)** et de leurs combinaisons? 59% des caryotypes Anormaux
- Isolées / + 1 anomalie / au sein de caryotype complexe

Nécessite l'analyse de **larges cohortes de patients**

# La survie diminue avec le nombre d'anomalies cytogénétiques



**Fréquence et médiane de survie en fonction des différentes anomalies cytogénétiques (Haase 2008 )**

<b>Cytogenetic risk</b>	<b>Cytogenetic finding</b>	<b>Number (%)</b>	<b>Median survival (months)</b>
Good	12p-	7 (0.6)	n.r.
	9q-	6 (0.5)	n.r.
	t(15q)	6 (0.5)	n.r.
	15q-	5 (0.4)	n.r.
	+21	13 (1.1)	100.8
	5q-	132 (11)	77.2
	20q-	24 (2)	71.0
	-X	6 (0.5)	56.4
	normal karyotype	622 (51.7)	53.4
	-Y	33 (2.8)	39.4
	t(1q)	7 (0.6)	34.7
	t(7q)	7 (0.6)	34.7
	t(17q)	6 (0.5)	32.1
	-21	6 (0.5)	32.0
Intermediate-I	11q-	11 (0.9)	26.1
	+8	64 (5.3)	23.0
Intermediate-II	t(11q23)	6 (0.5)	20.0
	Any 3q abnormality	16 (1.3)	19.9
	+19	5 (0.4)	19.8
	7q-	11 (0.9)	19.0
	Complex (=3 anomalies)	32 (2.7)	17.0
	-7	42 (3.5)	14.0
Poor	Complex (>3 anomalies)	134 (11.1)	8.7
	t(5q)	7 (0.6)	4.4

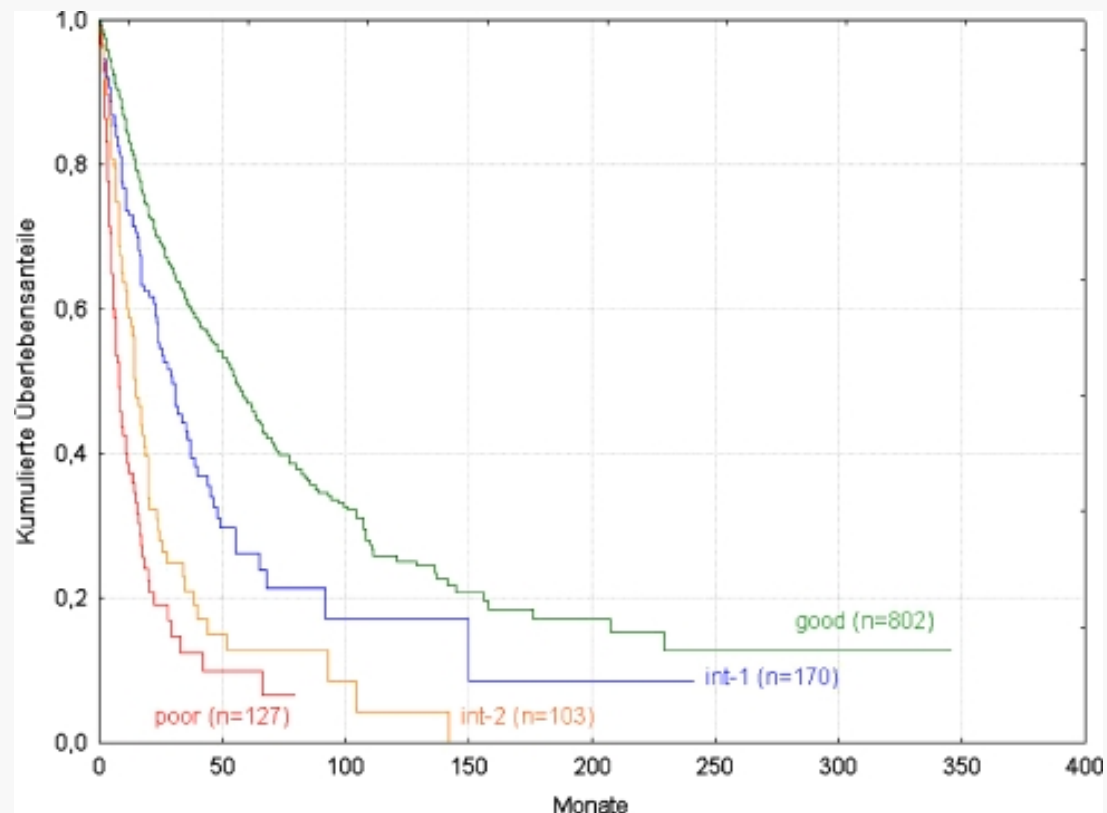
## *Nouvelles données cytogénétiques : 4 sous-groupes pronostiques*

73% faible risque (14 catégories cytogénétiques) / Survie médiane 54 mois

15.5% groupes intermédiaires I et II (8 catégories)

Survie médiane 29 mois (intermédiaire-I) et 15 mois (intermédiaire-II)

11.5% groupe à haut risque / Survie médiane 8 mois



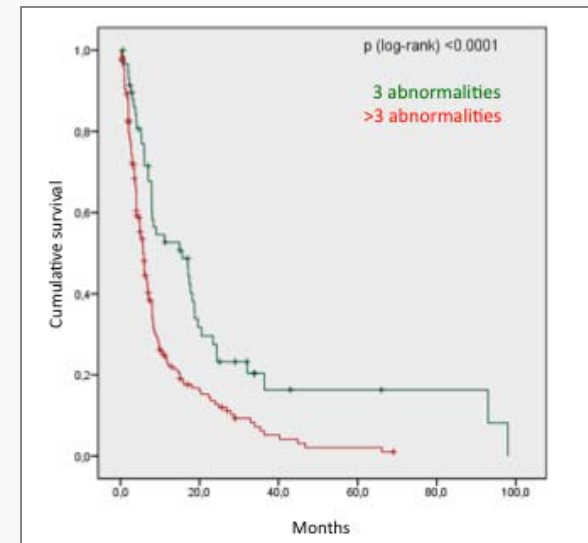
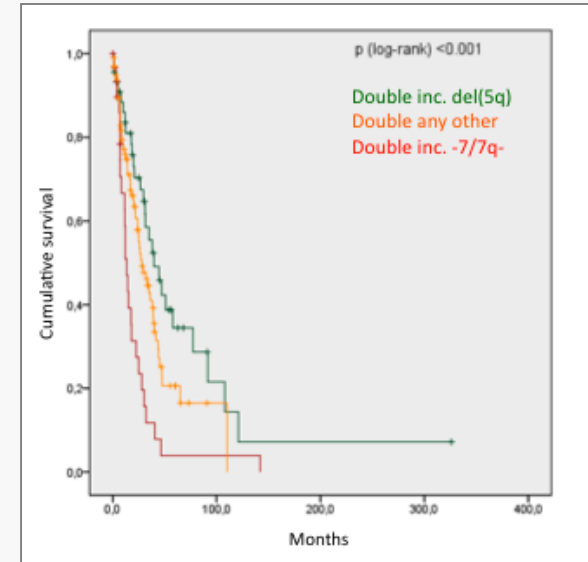
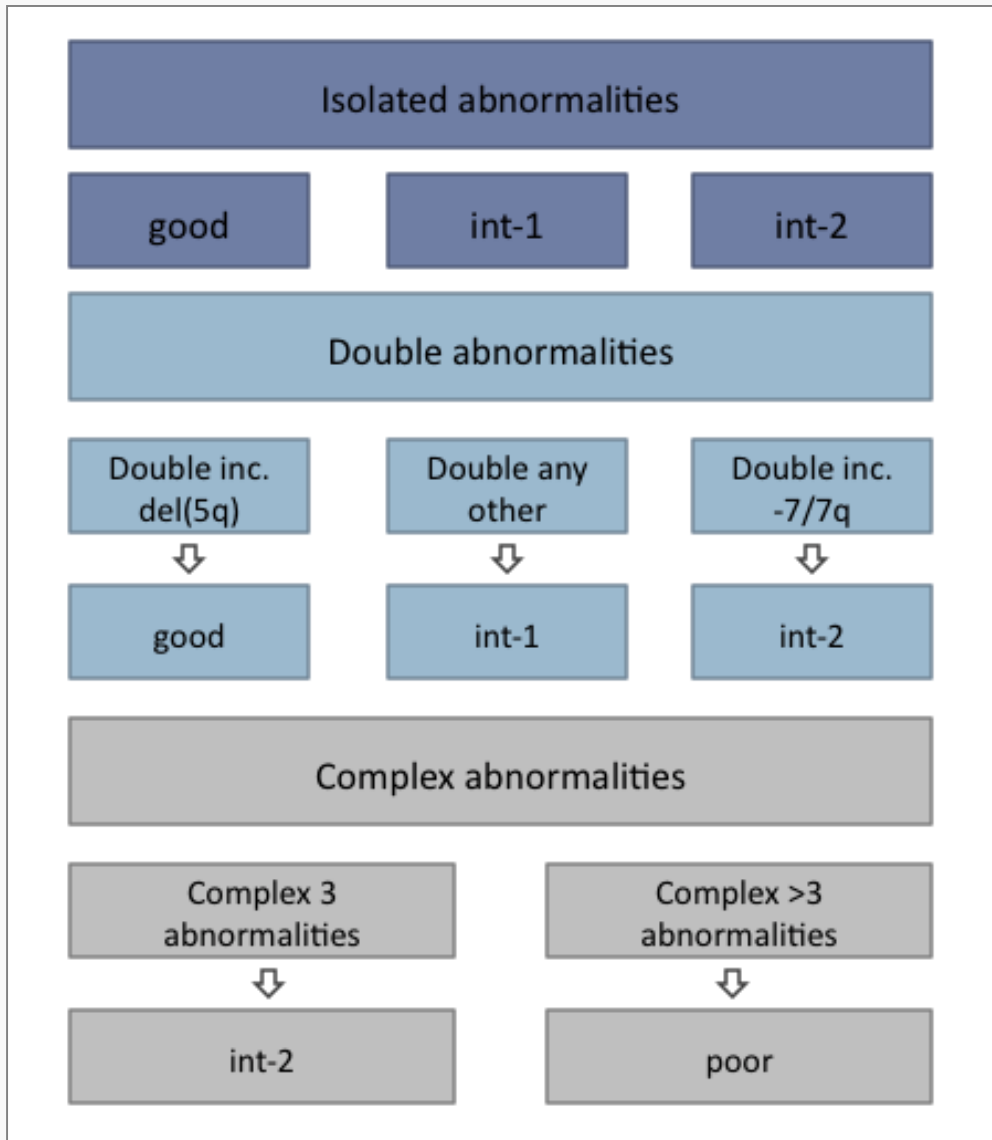
Kaplan–Meier survival curves according to the cytogenetic prognostic classification of the German–Austrian MDS Study Group.



Nouvelle stratification cytogénétique basée sur l'exploitation combinée de trois bases de données de patients SMD (base SMD austro-germanique registre espagnol et SMD, cohorte IMRAW), Schanz J,*et al.* ASH 2009

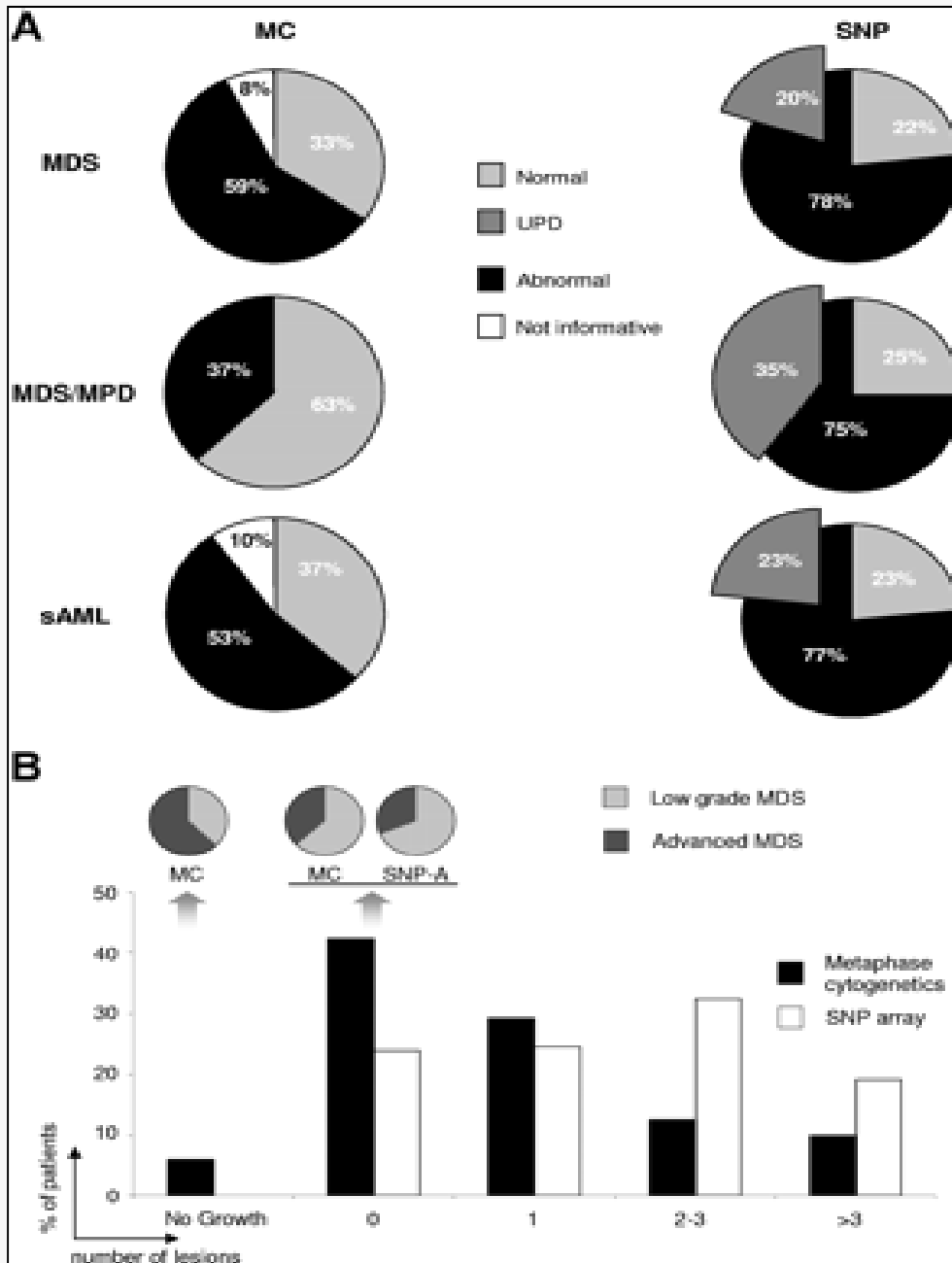
<p><b>GOOD</b></p>	<p>Normal            Single:            -1/1p-, der(1;7)/t(1;7), del(5q), t(5q), del(11q), del(12p),            -13/13q, del(16q), +19, del(20q), -Y            Double:            Double including del(5q)</p>
<p><b>INT-1</b></p>	<p>Single:            +8, -9/9q-, del(17p), iso(17q), +21, -21, -X, +mar, any other single            Double:            Double any other combination            Independent clones</p>
<p><b>INT-2</b></p>	<p>Single:            +1/+1q/dup1q, der(3)(q21/q26), -7/7q-, t(11q23), +11            Double:            Double including -7/7q-            Complex:            Complex 3 abnormalities</p>
<p><b>POOR</b></p>	<p>Complex:            Complex &gt;3 abnormalities</p>

# Cette classification intègre les anomalies combinées



Apport des nouvelles techniques  
dans la détection des anomalies du génome

<b>Méthode</b>	<b>Résolution</b> Sensibilité (% cell anormales)	<b>Détection des</b> <b>UPD</b>	<b>Nécessite</b> <b>Cellules en</b> <b>division</b>	<b>Distinction entre</b> <b>clones individuels</b>
Caryotype sur métaphases	<b>Faible</b> (10 à 15%)	Non	Oui	Oui
FISH	<b>Faible</b> (élevée)	Non	Non	Oui
CGH arrays	<b>Elevée</b> (20-30%)	Non	Non	Non
SNP arrays	<b>Très Elevée</b> (20-30%)	Oui	Non	Non



Anomalies chromosomiques et UDP détectées par SNP arrays dans 175 cas de MDS, MDS/MPD, et LAMs.

Augmentation du nombre d'anomalies détectées en particulier dans les LAMs  
Réduction du nombre de cas non informatifs

# Conclusion

- Le caryotype est indispensable à la prise en charge des SMD en 2010
- Les études collaboratives portant sur un grand nombre de patients améliorent les connaissances sur la valeur pronostique des anomalies cytogénétiques
- 30 sous groupes d'anomalies cytogénétiques dont l'impact sur la survie globale et la transformation en LAM sont établis
- 4 sous-groupes pronostiques cytogénétiques (bon, INT-1, INT-2, mauvais)
- Pronostique des anomalies chromosomiques isolées et des anomalies doubles
- Vérification statistique en analyses uni- et multivariées
- Intérêt des nouvelles technologies pour les SMD à K Nx

# Conclusion-2

Augmentation de la résolution du caryotype grâce aux techniques de SNP A et CGH-A qui sont :

- Indépendantes de la division des cellules
- Peuvent détecter les déséquilibres génétiques cryptiques et les UPD

Ne peuvent détecter les clones minoritaires (<25% cellules anormales)

L'analyse complexe doit suivre des critères strictes d'exclusion de CNV

Outil de recherche: reconnaissance de nouvelles microdélétions/ microduplications et de gènes cibles mutés

Ces techniques devraient compléter le caryotype mais sont difficiles à utiliser en routine diagnostique (plate formes dédiées)

Etudes cliniques préliminaires semblent montrer une influence de ces anomalies cryptiques sur le pronostic des patients SMD