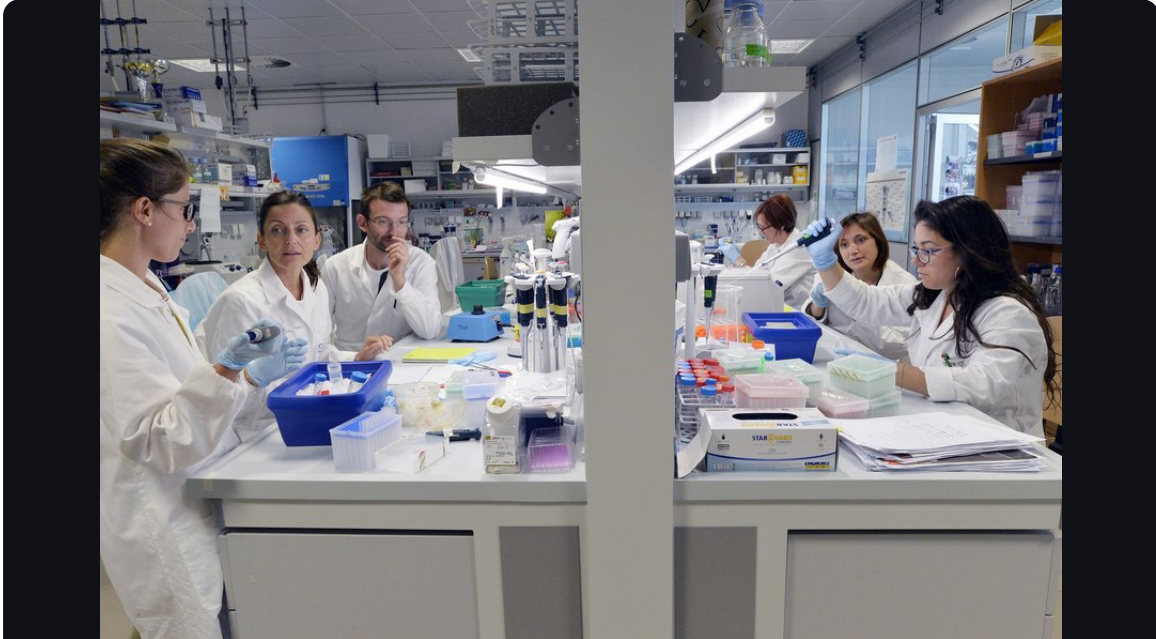


#001

Généralités — la biologie moléculaire au service du diagnostic



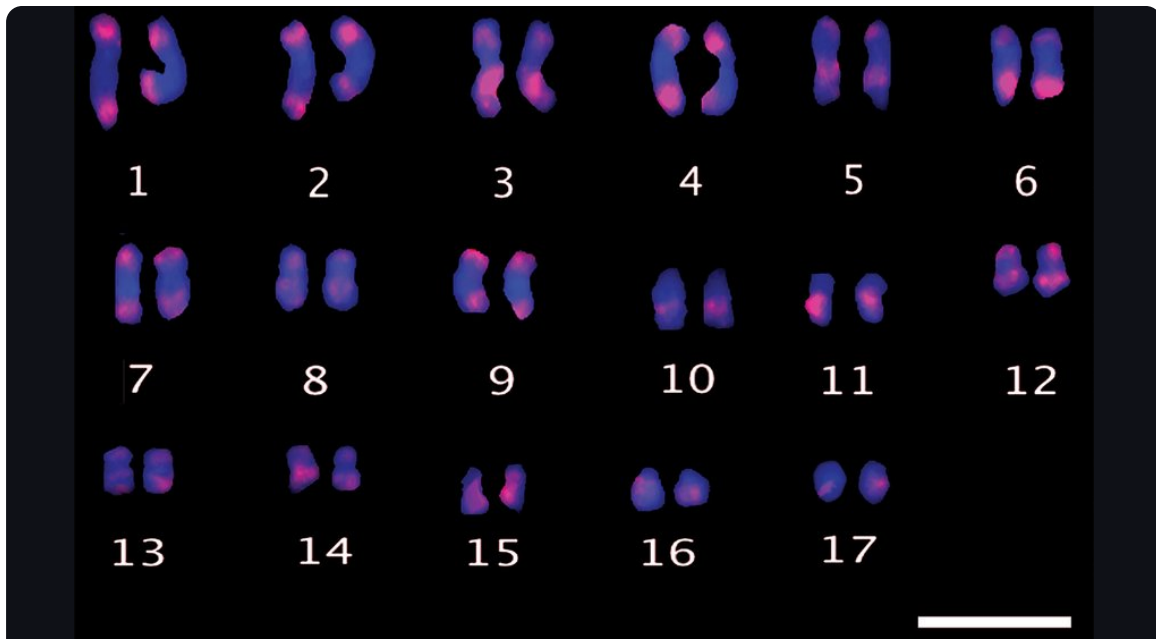
La caractérisation cytogénétique et moléculaire des hémopathies est devenue indissociable du diagnostic, du pronostic et du choix thérapeutique, au point que la classification OMS/ICC intègre désormais directement les anomalies génétiques.

Wikimedia Commons (CC)

- Trois niveaux d'analyse complémentaires et non substituables :
cytogénétique conventionnelle (caryotype), cytogénétique moléculaire (FISH) et biologie moléculaire (PCR, NGS) — chacun avec sa résolution et ses indications propres.
- Ces analyses guident le diagnostic précis de l'entité, la stratification pronostique (risque favorable/intermédiaire/défavorable), le choix du traitement ciblé et la définition de la maladie résiduelle mesurable.
- Prélèvement de référence : moelle osseuse fraîche sur tube hépariné (cytogénétique) et EDTA (biologie moléculaire), le sang périphérique pouvant suppléer en cas de blastose circulante suffisante.

#002

Caryotype conventionnel



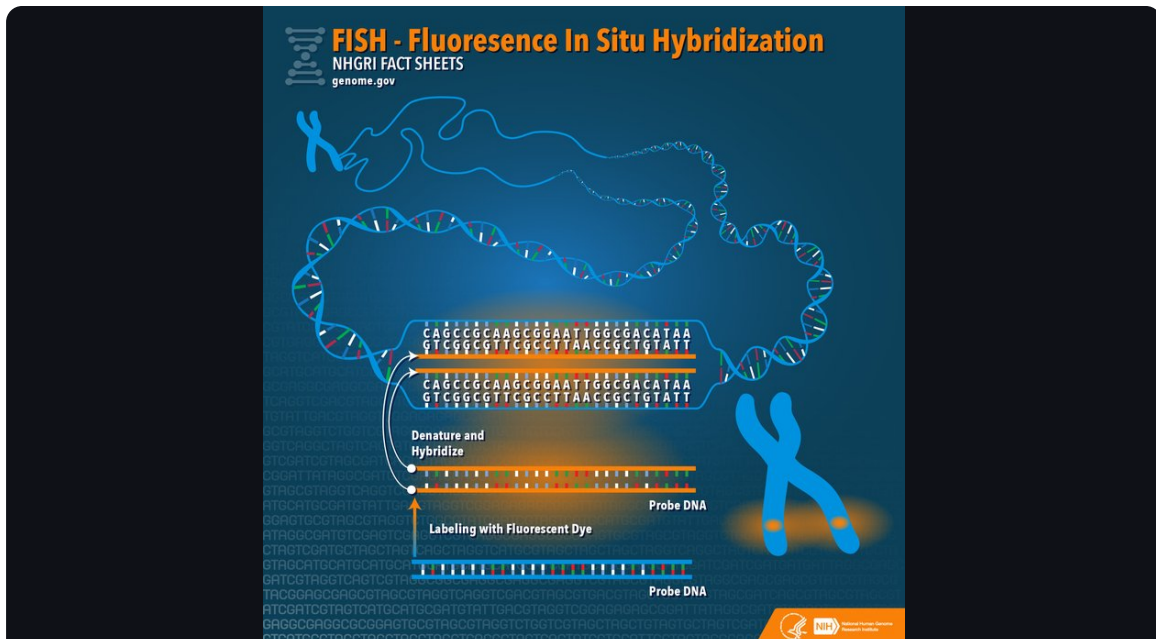
Le caryotype analyse l'ensemble des 46 chromosomes sur des cellules en métaphase après culture, offrant une vue d'ensemble irremplaçable du génome tumoral malgré une résolution limitée à environ 5-10 mégabases.

Wikimedia Commons (CC)

- Nécessite une mise en culture cellulaire de 24 à 96 heures avant blocage en métaphase — délai de rendu de plusieurs jours, contrainte à anticiper lors de la prescription initiale.
- Seul examen capable de détecter simultanément toutes les anomalies de nombre (aneuploïdies) et de structure (translocations, délétions, inversions, marqueurs) sans a priori diagnostique.
- Limite majeure : nécessite des cellules en division active, échec possible en cas de faible index mitotique ou de culture non informative (caryotype normal par défaut de cellules pathologiques cultivées).
- Nomenclature internationale ISCN normalisée (exemple : 46,XY,t(9;22)(q34;q11)) permettant une communication univoque entre laboratoires et une comparabilité des données à l'échelle mondiale.

#003

FISH — hybridation in situ fluorescente



La FISH utilise des sondes fluorescentes ciblant des régions chromosomiques spécifiques, permettant de détecter des anomalies infra-caryotypiques et de s'affranchir de la nécessité d'une culture cellulaire active.

Wikimedia Commons (CC)

- Réalisable sur cellules en interphase (non en division), donnant un résultat rapide en 24 à 48 heures, précieux lorsque le contexte clinique impose une décision thérapeutique urgente.
- Trois types de sondes : sondes de fusion (détection de translocation, ex. BCR-ABL), sondes de délétion et sondes de dénombrement centromérique (aneuploïdie d'un chromosome donné).
- Panel FISH ciblé indispensable au diagnostic initial des hémopathies lymphoïdes B (del17p, del13q, trisomie 12 dans la LLC ; t(11;14), t(4;14), del17p dans le myélome).
- Limite intrinsèque : ne détecte que les anomalies ciblées par les sondes choisies, contrairement au caryotype ou au NGS qui explorent le génome sans hypothèse préalable.

#004

PCR et RT-PCR quantitative



La PCR quantitative en temps réel permet de détecter et de quantifier un transcrit de fusion ou une mutation avec une sensibilité très supérieure au caryotype ou à la FISH, jusqu'à une cellule pathologique parmi 100 000 à 1 million.

Wikimedia Commons (CC)

- Technique de référence pour le suivi quantitatif du transcrit BCR-ABL dans la leucémie myéloïde chronique, exprimé en pourcentage international standardisé (IS) permettant la comparaison inter-laboratoires.
- Recherche de mutations ponctuelles récurrentes par PCR allèle-spécifique ou séquençage Sanger ciblé (NPM1, FLT3-ITD par PCR fragment-length, JAK2 V617F) en complément du caryotype.
- La RT-PCR nécessite un ARN de bonne qualité, extrait rapidement après prélèvement (dégradation rapide de l'ARN) — contrainte pré-analytique stricte pour un résultat interprétable.

#005

Séquençage nouvelle génération (NGS)



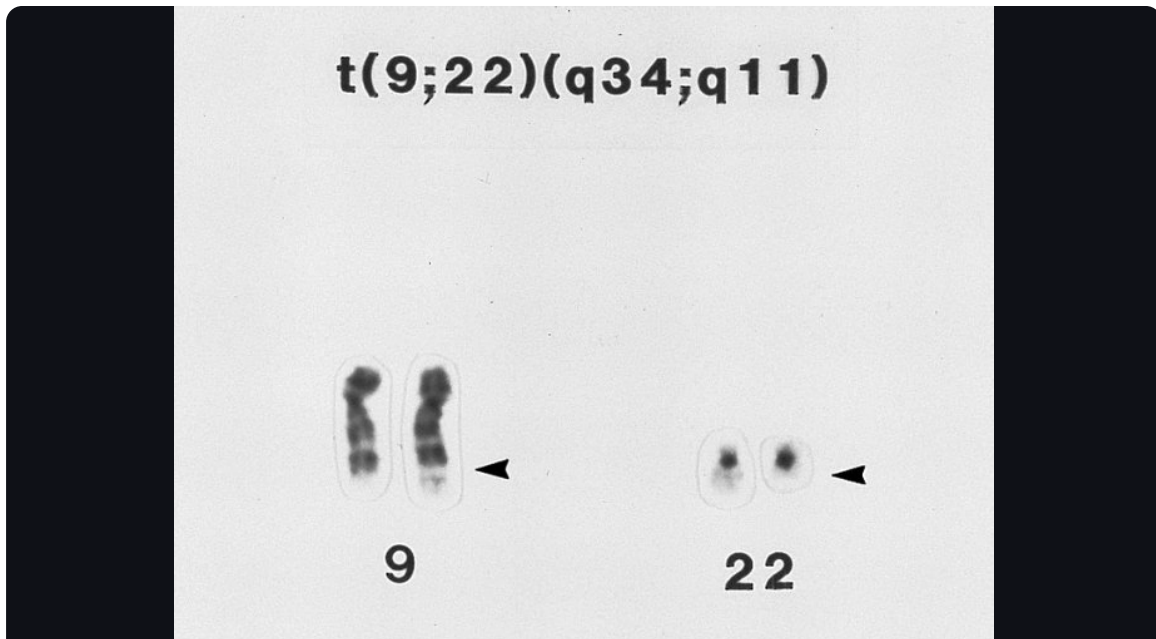
Le séquençage nouvelle génération permet l'analyse simultanée de dizaines à centaines de gènes à partir d'un seul échantillon, révolutionnant la caractérisation moléculaire des hémopathies malignes en pratique courante.

Wikimedia Commons (CC)

- Panels ciblés myéloïdes (30 à 50 gènes récurrents : FLT3, NPM1, DNMT3A, TET2, ASXL1, TP53...) devenus indispensables au bilan initial des leucémies aiguës myéloïdes et des syndromes myélodysplasiques.
- Sensibilité de détection typique de 1 à 5 % de fréquence allélique variante, permettant d'identifier les clones minoritaires et sous-clones, contrairement au séquençage Sanger classique (seuil ~15-20 %).
- Interprétation complexe nécessitant de distinguer mutation driver pathogène, variant de signification incertaine (VUS) et hématopoïèse clonale liée à l'âge (CHIP) sans traduction leucémique.
- Le séquençage du génome ou de l'exome entier reste réservé à la recherche ou aux situations diagnostiques complexes, le coût et le délai d'analyse limitant encore son usage en routine.

#006

Le réarrangement BCR-ABL1 et la LMC

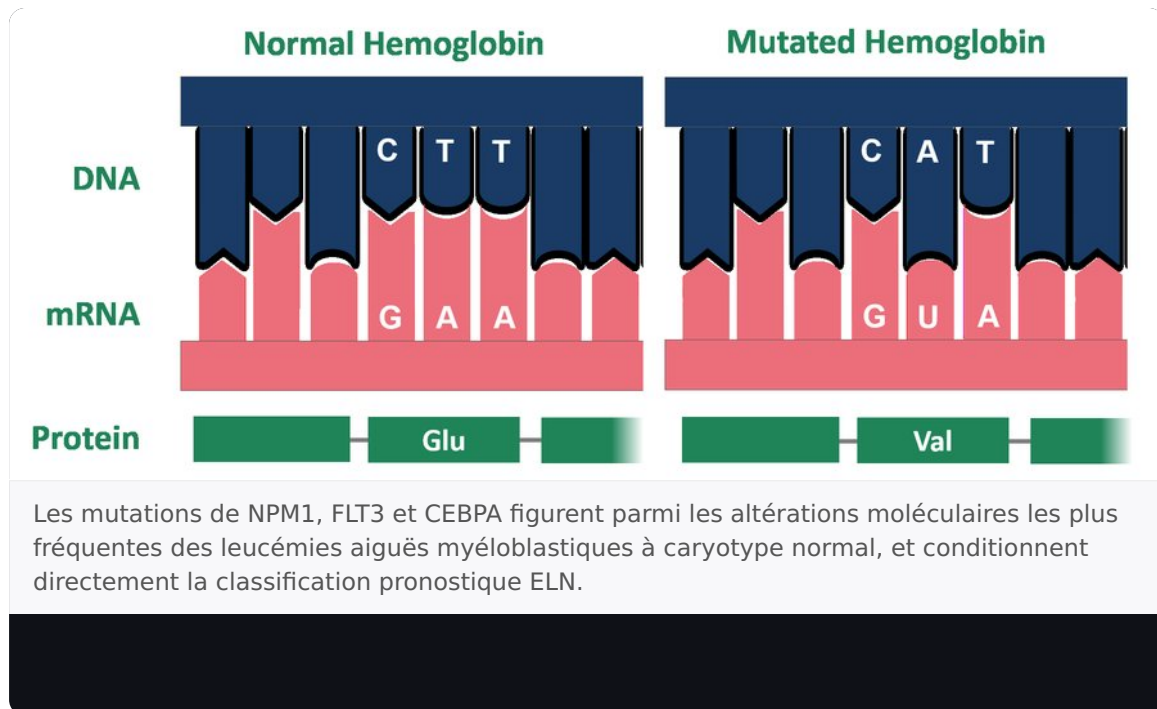


La translocation t(9;22) fusionnant les gènes BCR et ABL1 fut la première anomalie génétique récurrente identifiée en hématologie, aboutissant au développement des inhibiteurs de tyrosine kinase qui ont transformé le pronostic de la LMC.

Wikimedia Commons (CC)

- Le chromosome Philadelphie (chromosome 22 raccourci) résulte de l'échange réciproque de matériel entre les chromosomes 9 et 22, créant un gène de fusion codant une tyrosine kinase constitutivement active.
- Trois transcrits principaux selon le point de cassure (e13a2/e14a2 majeur dans la LMC, e1a2 mineur dans certaines LAL) — l'identification du transcrit conditionne le choix de la cible de suivi en PCR.
- Le suivi moléculaire quantitatif (BCR-ABL1 IS) définit les seuils de réponse thérapeutique (réponse moléculaire majeure à 0,1 %, réponse moléculaire profonde à 0,01 % ou moins) guidant la conduite thérapeutique.

Mutations NPM1, FLT3 et CEBPA dans la LAM

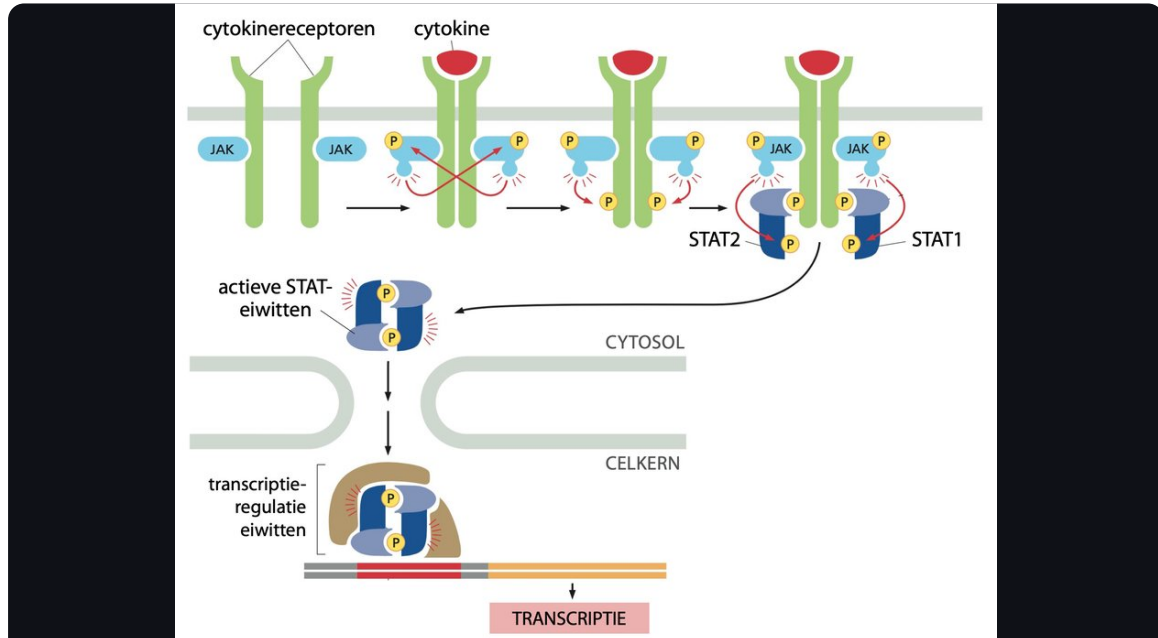


Wikimedia Commons (CC)

- NPM1 muté isolément (sans FLT3-ITD) : pronostic favorable, associé à une bonne réponse à la chimiothérapie standard, devenu une cible privilégiée du suivi de maladie résiduelle mesurable par PCR.
- FLT3-ITD (duplication interne en tandem) : mutation de mauvais pronostic, particulièrement à ratio allélique élevé, justifiant l'adjonction d'un inhibiteur de FLT3 (midostaurine, gilteritinib) au traitement.
- CEBPA muté biallélique : pronostic favorable comparable à celui du NPM1 muté, à distinguer de la mutation monoallélique dont l'impact pronostique est neutre.
- L'association des trois marqueurs (statut NPM1, ratio allélique FLT3-ITD, statut CEBPA) est désormais systématiquement requise au diagnostic pour stratifier le risque selon la classification ELN 2022.

#008

JAK2, CALR et MPL dans les syndromes myéloprolifératifs

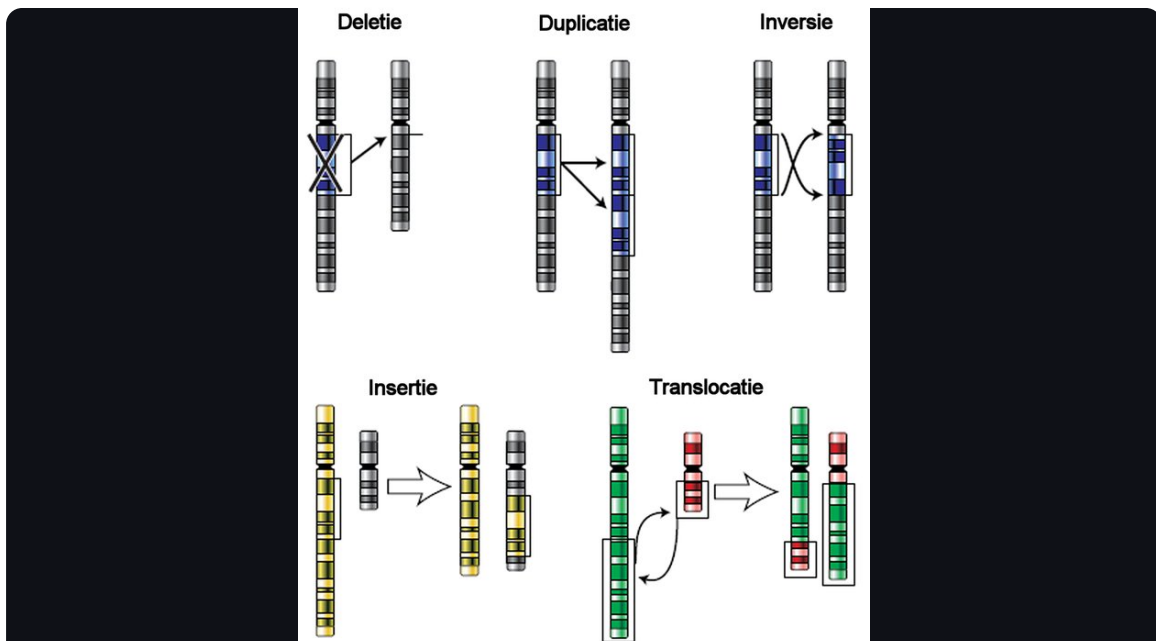


Les mutations de JAK2, CALR et MPL activent de façon constitutive la voie de signalisation JAK-STAT en aval des récepteurs de cytokines, expliquant la prolifération myéloïde excessive caractéristique des néoplasies myéloprolifératives.

Wikimedia Commons (CC)

- JAK2 V617F : présente dans plus de 95 % des polyglobulies de Vaquez et environ 50-60 % des thrombocythémies essentielles et myélofibroses primitives — recherche de première intention devant toute suspicion de SMP.
- Mutations de l'exon 12 de JAK2 : à rechercher spécifiquement si suspicion clinique de polyglobulie de Vaquez avec JAK2 V617F négatif, ne pas conclure à tort à l'absence d'anomalie moléculaire.
- Mutations de CALR (exon 9) : deuxième marqueur en fréquence dans la thrombocythémie essentielle et la myélofibrose, associées à un pronostic globalement plus favorable que JAK2 muté.
- Mutations de MPL (exon 10) : plus rares, retrouvées principalement dans la myélofibrose et la thrombocythémie essentielle triple négative (JAK2, CALR et MPL non mutés) restant une entité à ne pas négliger.

Cytogénétique des syndromes myélodysplasiques



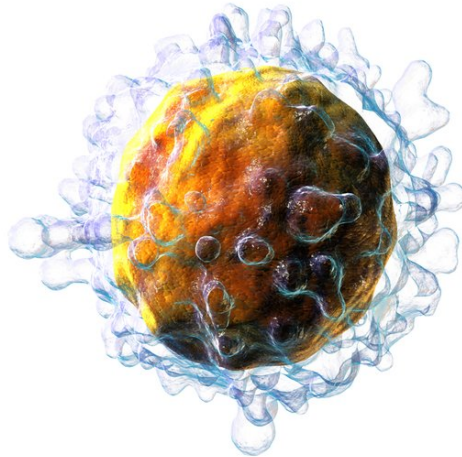
Le caryotype constitue un pilier du score pronostique IPSS-R des syndromes myélodysplasiques, la del(5q) isolée bénéficiant d'un traitement ciblé spécifique par le lénalidomide.

Wikimedia Commons (CC)

- Del(5q) isolée : entité à part entière de la classification OMS, pronostic favorable, réponse spécifique et durable au lénalidomide chez la majorité des patients.
- Monosomie 7 et del(7q) : anomalies de pronostic défavorable, plus fréquentes dans les formes secondaires post-chimiothérapie, orientant vers une prise en charge plus agressive incluant l'allogreffe.
- Caryotype complexe (≥ 3 anomalies) : facteur pronostique défavorable majeur, souvent associé à des mutations de TP53 — combinaison de très mauvais pronostic nécessitant une prise en charge rapide.
- L'ajout du statut mutationnel (TP53, SF3B1, ASXL1 notamment) au score IPSS-R clinique a donné naissance à l'IPSS-M, affinant significativement la stratification pronostique par rapport à la cytogénétique seule.

#010

Anomalies moléculaires des syndromes lymphoprolifératifs (1/2)



Lymphocyte
T cell

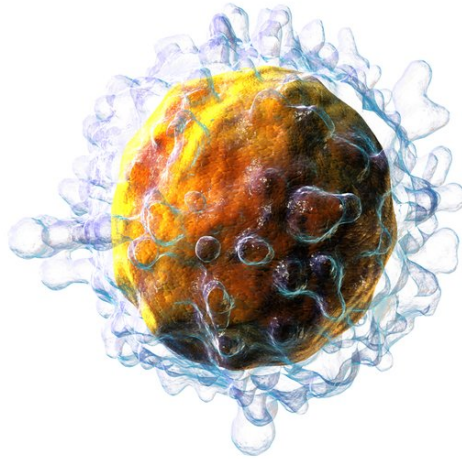
Le profil cytogénétique et moléculaire des syndromes lymphoprolifératifs B conditionne directement les décisions thérapeutiques, la del(17p) et la mutation de TP53 constituant l'anomalie la plus redoutée à rechercher systématiquement.

Wikimedia Commons (CC)

- Del(17p) et mutation TP53 dans la LLC : anomalie de plus mauvais pronostic, résistance relative à la chimio-immunothérapie classique, indication formelle des inhibiteurs de BTK ou de BCL2 en première ligne.
- Statut mutationnel des gènes IGHV (muté versus non muté) dans la LLC : marqueur pronostique indépendant majeur, distinct des anomalies cytogénétiques, à déterminer une seule fois (statut stable dans le temps).
- t(14;18)(q32;q21) juxtaposant BCL2 à l'IGH : anomalie caractéristique du lymphome folliculaire, retrouvée dans environ 85-90 % des cas, entraînant une surexpression anti-apoptotique de BCL2.
- t(11;14)(q13;q32) juxtaposant la cycline D1 à l'IGH : anomalie signature du lymphome à cellules du manteau, quasi constante et utilisée comme critère diagnostique de confirmation.

#011

Anomalies moléculaires des syndromes lymphoprolifératifs (2/2)



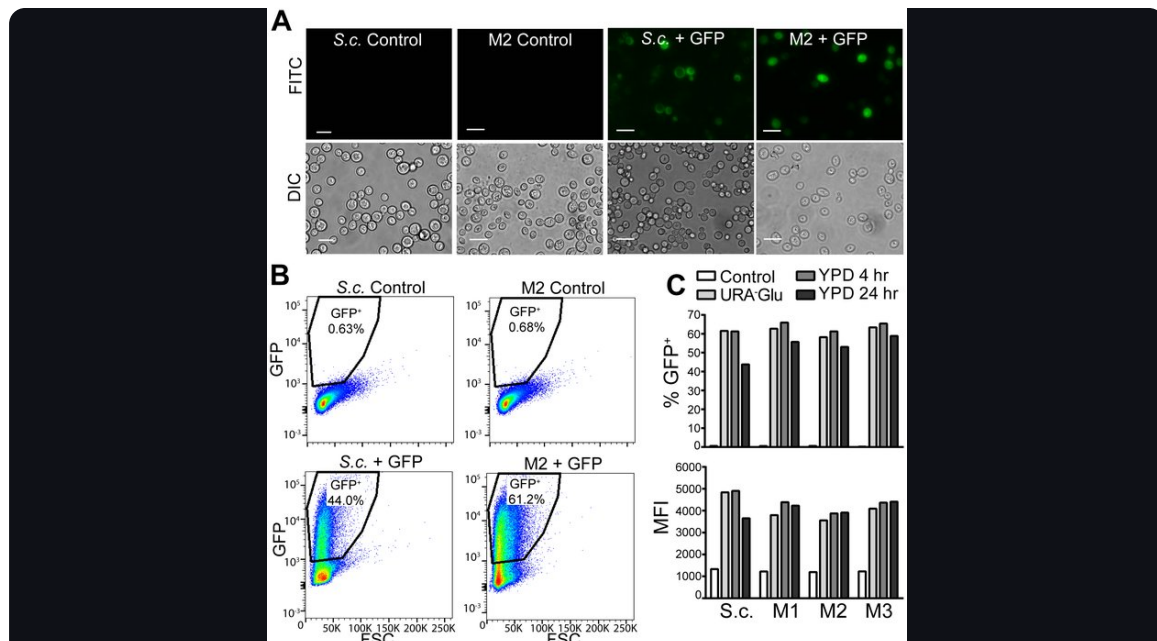
Lymphocyte
T cell

Le profil cytogénétique et moléculaire des syndromes lymphoprolifératifs B conditionne directement les décisions thérapeutiques, la $\text{del}(17p)$ et la mutation de TP53 constituant l'anomalie la plus redoutée à rechercher systématiquement.

Wikimedia Commons (CC)

- Réarrangement de MYC ($t(8;14)$ et variantes) : caractéristique du lymphome de Burkitt, sa présence associée à celle de BCL2 et/ou BCL6 ('double hit' ou 'triple hit') définissant une entité de très haut grade agressif.

Maladie résiduelle mesurable (MRD)

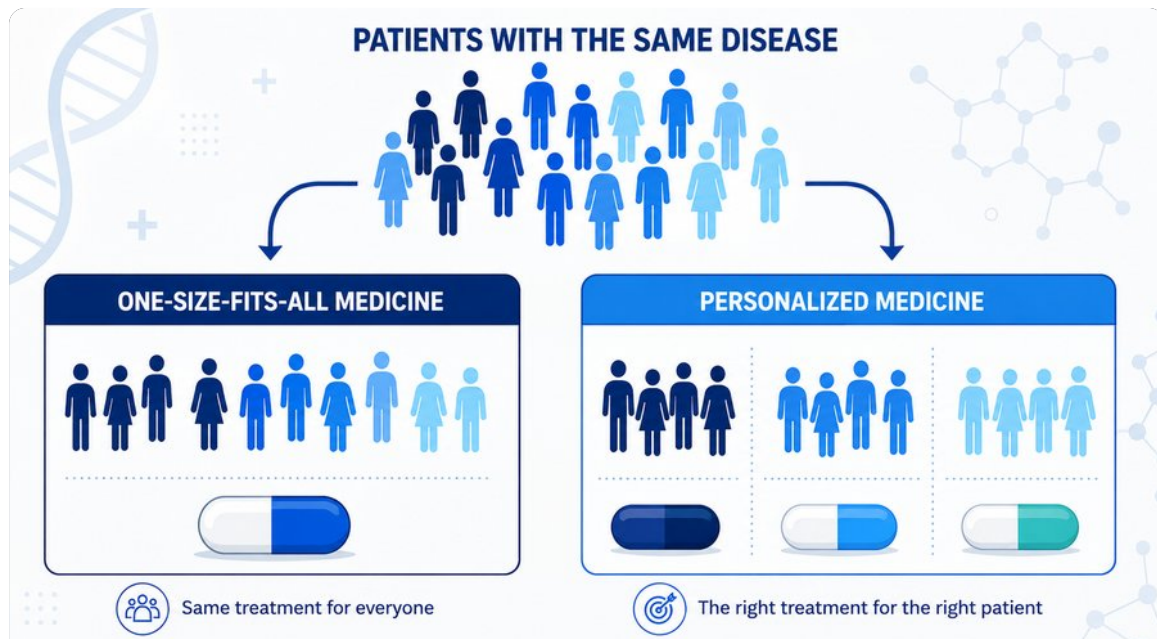


La maladie résiduelle mesurable, quantifiée par cytométrie en flux multiparamétrique, PCR ou NGS, est devenue un objectif thérapeutique à part entière et un facteur pronostique plus puissant que la simple obtention d'une rémission morphologique.

Wikimedia Commons (CC)

- Trois techniques principales selon le contexte : cytométrie en flux multiparamétrique (phénotype aberrant, sensibilité $\sim 10^{-4}$), PCR spécifique d'un marqueur moléculaire (sensibilité $\sim 10^{-5}$ - 10^{-6}), NGS (sensibilité intermédiaire, applicable largement).
- Dans la LAM, une MRD positive après traitement d'induction (persistance de NPM1 muté ou d'un phénotype aberrant) prédit fortement la rechute et peut justifier une intensification thérapeutique ou une allogreffe.
- Dans la LLC, la MRD indétectable (moins d'une cellule leucémique pour 10 000 leucocytes) après traitement est associée à une survie sans progression significativement prolongée, devenue critère d'évaluation des essais cliniques.
- Dans le myélome, la MRD par cytométrie de nouvelle génération ou séquençage (seuil 10^{-6}) est désormais intégrée aux critères de réponse de l'IMWG et guide la durée du traitement d'entretien.

Applications pronostiques et médecine de précision



L'intégration systématique des données cytogénétiques et moléculaires dans les classifications OMS 2022 et ICC illustre le passage définitif d'une hématologie descriptive morphologique à une médecine de précision guidée par le génotype tumoral.

Wikimedia Commons (CC)

- Les classifications OMS 2022 et ICC (International Consensus Classification) définissent désormais de nombreuses entités directement par leur anomalie génétique fondatrice plutôt que par la seule morphologie (ex. : LAM avec mutation NPM1).
- La pharmacogénomique guide directement le choix thérapeutique ciblé : IDH1/IDH2 mutés (ivosidénib, énasidénib) dans la LAM, BRAF V600E (vémurafénib) dans la leucémie à tricholeucocytes.
- Le conseil génétique s'impose lorsqu'une anomalie germinale prédisposante est suspectée (mutation constitutionnelle de TP53, GATA2, RUNX1, CEBPA), avec implications pour la famille et le choix d'un donneur de greffe apparenté.
- La répétition des analyses moléculaires à la rechute est indispensable : le profil génomique peut évoluer sous pression thérapeutique (émergence de sous-clones résistants), modifiant la stratégie de seconde ligne.

