

Place de la cytogénétique dans la prise en charge des leucémies aiguës myéloïdes : actualisation par le Groupe francophone de cytogénétique hématologique (GFCH)

Cytogenetics in the management of acute myeloid leukemia: an update by the Groupe francophone de cytogénétique hématologique (GFCH)

Isabelle Luquet¹

Audrey Bidet²

Wendy Cucuini³

Marina Lafage-Pochitaloff⁴

Marie-Joëlle Mozziconacci⁵

Christine Terré⁶

¹ Laboratoire d'hématologie, Génétique des hémopathies, IUCT-O, Toulouse, France
<luquet.isabelle@iuct-oncopole.fr>

² Laboratoire d'hématologie-cytogénétique, Hôpital Haut-Lévêque, CHU de Bordeaux, Pessac, France

³ Laboratoire central d'hématologie, Hôpital Saint-Louis, Paris, France

⁴ Département de génétique, Hôpital Timone, APHM, Aix Marseille Université, Marseille, France

⁵ Laboratoire de cytogénétique et biologie moléculaire, Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France

⁶ Laboratoire de cytogénétique, Centre de transfusion sanguine, Le Chesnay, France

Résumé. Le caryotype est un examen indispensable lors de l'évaluation d'une leucémie aiguë myéloïde (LAM) au diagnostic car les anomalies cytogénétiques détectées constituent l'un des plus puissants facteurs pronostiques indépendants de cette pathologie. Il fait partie intégrante du choix du traitement dans les essais thérapeutiques. Tous les chromosomes peuvent être remaniés, certaines anomalies chromosomiques sont récurrentes et sont dans certains cas associées à un type cytologique bien défini. Dans environ 40 % des cas, le caryotype est normal et le bilan diagnostique doit alors être complété par des études en biologie moléculaire qui permettent d'affiner le pronostic de ces patients. La place du caryotype est plus limitée dans le suivi des LAM du fait d'une sensibilité limitée mais il garde tout son intérêt lors de la prise en charge des rechutes. Depuis 2001 la classification OMS (Organisation mondiale de la santé) des hémopathies intègre les données de la cytogénétique. La prise en charge optimale d'une LAM ne peut donc pas être adéquate sans les résultats du caryotype éventuellement complétés par de la cytogénétique moléculaire (FISH).

Mots clés : leucémie aiguë myéloïde, caryotype, FISH, classification cytologique, pronostic

Abstract. The karyotype is critical for the evaluation of acute myeloid leukemia (AML) at diagnosis. Cytogenetic abnormalities detected in AML are one of the most powerful independent prognostic factors. It impacts on the choice of treatment in clinical trials. All chromosomes can be targeted, common chromosomal abnormalities are recurrent and may be associated with a cytological well-defined type. In 40% of the cases, the karyotype is normal and must be associated with molecular biology studies that can refine the prognosis. The usefulness of the karyotype is more limited during the follow-up of the patient due to its limited sensitivity, but it is still useful in the clinical management of relapse. Since 2001, the WHO (World Health Organization) classification of hematological malignancies integrates cytogenetic data in the classification of AML. Karyotype is therefore mandatory in the diagnosis of AML.

Key words: acute myeloid leukemia, karyotype, FISH, leukemia classification, prognosis

Tirés à part : I. Luquet

Généralités

Les leucémies aiguës myéloïdes (LAM) constituent un ensemble de proliférations clonales aboutissant à l'accumulation dans la moelle, le sang et éventuellement d'autres organes, de progéniteurs ou de précurseurs hématopoïétiques de nature myéloïde avec blocage à un stade précoce de leur différenciation. L'incidence globale des LAM est d'environ 3,5 nouveaux cas pour 100 000 habitants par an en Europe et aux États-Unis. Cette incidence augmente progressivement avec l'âge, surtout après 50 ans (de 1 cas pour 100 000 habitants/an avant 30 ans jusqu'à plus de 20 cas/100 000 habitants/an après 80 ans) avec une médiane de survenue autour de 65 ans. La prévalence des LAM est par ailleurs en progression constante en raison de l'allongement de la survie de certains sous-types de LAM.

Beaucoup plus rares chez l'enfant avec une incidence de 7 cas par million d'enfants de moins de 15 ans/an et une médiane d'âge de 6 ans, les LAM présentent un pic d'incidence entre la naissance et l'âge de 2 ans.

Le diagnostic de LAM repose avant tout sur des critères cytologiques et cytochimiques des blastes de la moelle osseuse définis dans la classification FAB (*French-American-British*) [1]. Dans les cas les plus indifférenciés, seul l'immunophénotypage permet d'affirmer l'origine myéloïde des blastes. En 2001, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) propose une nouvelle classification des LAM prenant en compte les données cytogénétiques et moléculaires des blastes. Cette classification qui n'est plus seulement morphologique permet de définir des entités distinctes dont la valeur pronostique, en termes d'évolution et de réponse au traitement, est mieux définie [2]. La révision 2008 de la classification de l'OMS incorpore de nouvelles anomalies génétiques récurrentes et modifie la notion de dysplasie multilignée en intégrant les données de la cytogénétique [3] :

- LAM avec t(8;21)(q22;q22) *RUNX1(AML1)-RUNX1T1(ETO)* ;
 - LAM avec t(15;17)(q24;q21) *PML-RARA* ;
 - LAM avec inv(16)(p13.1q22) ou t(16;16)(p13.1;q22) *CBFB-MYH11* ;
 - LAM avec t(9;11)(p22;q23) *MLL(KMT2A)/MLLT3* ;
 - LAM avec t(6;9)(p23;q34) *DEK-NUP214* ;
 - LAM avec inv(3)(q21q26.2) ou t(3;3)(q21;q26.2) *RPN1(PSMD2)-EVII(MECOM)* ;
 - LAM avec t(1;22)(p13;q13) *RBM15-MKL1* ;
- 2 entités provisoires :
- LAM avec mutation de *NPM1* ;
 - LAM avec mutation de *CEBPA*.

La cytogénétique des leucémies aiguës myéloïdes

Un caryotype anormal est observé chez près de 60 % des patients présentant une LAM au diagnostic. Du fait d'une sensibilité inférieure à la biologie moléculaire, la cytogénétique n'est pas l'outil de choix pour le suivi des LAM mais elle garde toute sa place dans le bilan des rechutes.

Le caryotype étant le facteur prédictif le plus fort de la réponse thérapeutique et du risque de rechute, tous les schémas thérapeutiques prennent en compte le caryotype au diagnostic de LAM. Les anomalies sont classées en 3 catégories : pronostic favorable, pronostic intermédiaire et pronostic défavorable. En dépit de certaines fluctuations selon les séries et l'âge des patients (enfant ou adulte), les t(15;17), t(8;21) et inv(16) sont classiquement rattachées au groupe de bon pronostic tandis que les -5/del(5q), -7, anomalies 3q26, anomalies 17p, caryotypes complexes (sauf LAM hyperdiploïdes sans anomalies de structure défavorables) et caryotypes monosomiques sont classés dans le groupe de mauvais pronostic. Certaines anomalies, telles les del(7q) et les t(6;9) sont considérées tantôt comme de risque intermédiaire, tantôt comme de haut risque. Le pronostic des LAM 11q23/*MLL* varie en fonction du partenaire : la t(9;11) appartient au groupe intermédiaire, le pronostic des t(11;19) est discuté (intermédiaire ou défavorable) et les autres LAM 11q23/*MLL* sont considérées de pronostic défavorable chez l'adulte. Le groupe intermédiaire, principalement constitué des caryotypes normaux, contient aussi l'ensemble des autres anomalies. Le pronostic des LAM à caryotype normal sera dans un second temps affiné en fonction de leur profil moléculaire.

Les 2 classifications génétiques les plus utilisées actuellement chez l'adulte sont celle de l'ELN (*European leukemia net*) qui prend en compte les données de la biologie moléculaire dans les caryotypes normaux (*tableau 1*) et celle du MRC (*Medical research council*) révisée en 2010 (*tableau 2*) [4, 5]. Chez l'enfant, les classifications pronostiques les plus utilisées sont celles basées sur les résultats du protocole MRC et celles du groupe international BFM (Berlin-Frankfurt-Münster) (*tableau 3*) [6, 7]. La distribution des anomalies cytogénétiques varie en fonction de l'âge des patients, et chez les adultes de plus de 60 ans on observe moins d'anomalies de pronostic favorable et plus d'anomalies des groupes intermédiaires II et défavorable (*figure 1*) [8].

Anomalies cytogénétiques dans les LAM

Environ 60 % des LAM présentent un caryotype anormal et ces anomalies acquises sont parfois associées à des

Tableau 1. Classification génétique pronostique des LAM selon les critères de l'ELN (d'après [4]).

Groupe génétique	Caractéristiques
Favorable	t(8;21)(q22;q22); <i>RUNX1-RUNX1T1</i> inv(16)(p13q22) ou t(16;16)(p13;q22); <i>CBFB-MYH11</i> Caryotype normal et mutation <i>NPM1</i> et absence de mutation <i>FLT3-ITD</i> Caryotype normal et mutation <i>CEBPA</i>
Intermédiaire I	Caryotype normal et mutation <i>NPM1</i> et mutation <i>FLT3-ITD</i> Caryotype normal et absence de mutation <i>NPM1</i> et mutation <i>FLT3-ITD</i> Caryotype normal et absence de mutation <i>NPM1</i> et absence de mutation <i>FLT3-ITD</i>
Intermédiaire II	t(9;11)(p22;q23); <i>MLL-MLLT3</i> Toutes les autres anomalies non classées comme favorable ou défavorable
Défavorable	inv(3)(q21q26) ou t(3;3)(q21q26); <i>RPN1-MECOM (EVI1)</i> t(6;9)(p23;q34); <i>DEK-NUP214 (CAN)</i> t(v;11)(v;q23)/ <i>MLL</i> réarrangé sauf t(9;11)(p22;q23) -5, del(5q); -7; anomalie 17p Caryotype complexe (≥ 3 anomalies)*

* en l'absence de l'une des translocations ou inversion récurrentes décrites dans la classification OMS : t(15;17), t(8;21), inv(16) ou t(16;16), t(9;11), t(v;11), t(6;9), inv(3) ou t(3;3).

Tableau 2. Classification cytogénétique pronostique des LAM selon les critères du MRC (d'après [5]).

Groupe pronostique	Anomalies chromosomiques
Favorable*	t(15;17)(q24;q21); <i>PML-RARA</i> t(8;21)(q22;q22); <i>RUNX1-RUNX1T1</i> inv(16)(p13q22) ou t(16;16)(p13q22); <i>CBFB-MYH11</i>
Intermédiaire	Toutes les entités non classées comme favorable ou défavorable t(9;11)(p22;q23); <i>KMT2A-MLLT3 (MLL-AF9)</i> t(11;19)(q23;p13)
Défavorable**	anomalie 3q [sauf t(3;5)(q21~25;q31~35)] inv(3)(q21q26) ou t(3;3)(q21q26); <i>RPN1-MECOM (EVI1)</i> add(5q), del(5q), -5 -7, add(7q)/del(7q) t(6;11)(q27;q23); <i>KMT2A-MLLT4 (MLL-AF6)</i> t(10;11)(p11~p13;q13~q23); <i>KMT2A-MLLT10 (MLL-AF10)</i> t(11q23)/ <i>MLL</i> [sauf t(9;11)(p21~22;q23) et t(11;19)(q23;p13)] t(9;22)(q34;q11); <i>BCR-ABL1</i> -17/anomalie 17p Caryotype complexe (≥ 4 anomalies indépendantes)

* Indépendamment de la présence d'anomalie cytogénétique additionnelle ;

** Excluant tous les cas avec anomalies de risque favorable.

Tableau 3. LAM pédiatriques : valeur pronostique des anomalies cytogénétiques (d'après [7]).

Groupe pronostique	Anomalies chromosomiques
Favorable*	t(15;17)(q24;q21); <i>PML-RARA</i> t(8;21)(q22;q22); <i>RUNX1-RUNX1T1</i> inv(16)(p13q22) ou t(16;16)(p13q22); <i>CBFB-MYH11</i> t(1;11)(q21;q23); <i>KMT2A-MLLT11 (MLL-AF1Q)</i>
Intermédiaire	Toutes les entités non classées comme favorable ou défavorable
Défavorable**	inv(3)(q21q26) ou t(3;3)(q21;q26); <i>RPN1-MECOM (EVI1)</i> del(5q), -5 -7 t(6;9)(p23;q34); <i>DEK-NUP214 (CAN)</i> t(4;11)(q21;q23); <i>KMT2A-MLLT2 (MLL-AF4)</i> t(6;11)(q27;q23); <i>KMT2A-MLLT4 (MLL-AF6)</i> t(10;11)(p12;q23); <i>KMT2A-MLLT10 (MLL-AF10)</i> t(5;11)(q35;p13); <i>NUP98-NSD1</i> t(7;12)(q36;p13); <i>ETV6(TEL)-HLXB9(MNX1)</i> t(9;22)(q34;q11); <i>BCR-ABL1</i> Caryotype complexe (≥ 3 anomalies indépendantes)

* Indépendamment de la présence d'anomalie cytogénétique additionnelle ;

** Excluant tous les cas avec translocations ou inversions récurrentes de la classification OMS.

aspects cytologiques particuliers. Leur mise en évidence est incontournable non seulement pour le diagnostic et la classification des LAM mais également pour la stratégie thérapeutique conditionnée, au moins en partie, par l'impact pronostique de ces anomalies récurrentes.

Les LAM avec translocations récurrentes

Les translocations récurrentes ont deux mécanismes d'action différents. Le plus fréquent est la formation d'un

gène chimérique issu de la fusion de deux gènes (fragment 5' d'un gène et fragment 3' d'un second gène) avec production d'un ADN chimérique détectable en biologie moléculaire et codant pour une protéine hybride à activité oncogénique. Plus rarement elles entraînent une hyper-expression d'un proto-oncogène structurellement intact qui se retrouve sous la dépendance des régions régulatrices d'un autre gène [9].

Leucémies aiguës promyélocyaires avec $t(15;17)(q24;q21);PML-RARA$ et translocations variantes

La translocation $t(15;17)$ est pathognomonique des LAM3 de la classification FAB qui représentent environ 10 % des LAM. Elle peut être *de novo* ou secondaire à une néoplasie en particulier le cancer du sein traité par anthracyclines. Cette translocation induit la fusion du gène *PML* (*promyelocytic leukemia*) localisé en 15q24 et du gène *RARA* (17q21) codant pour le récepteur alpha de l'acide rétinoïque. La protéine chimérique *PML/RARA* induit la formation d'un récepteur altéré de l'acide rétinoïque entraînant un blocage de la différenciation myéloïde au stade promyélocytaire. Chomienne *et al.* ont démontré que de fortes concentrations d'acide tout-trans rétinoïque (ATRA) permettent de lever le blocage de la différenciation granulocytaire [10].

Cytogénétiquement, 92 % des LAM3 présentent une translocation $t(15;17)(q24;q21)$ classique (figure 1A), 4 % une insertion cryptique (le plus souvent une insertion de *RARA* au niveau de *PML*) détectable uniquement en FISH, 2 % une translocation variante simple ou complexe qu'il est indispensable de confirmer par FISH et 2 % des LAM3 ont une translocation variante ou plutôt alternative car impliquant toujours le gène *RARA* mais avec un gène partenaire qui n'est pas *PML*. Par ordre de fréquence ces translocations sont la $t(11;17)(q23;q21)$ impliquant le gène *ZBTB16* (*PLZF*), la $t(5;17)(q35;q21)$ avec le gène *NPM1*, la $t(11;17)(q13;q21)$ avec le gène *NUMA1* et la $t(17;17)(q11.2;q21)$ impliquant le gène *STAT5B*. Certaines de ces translocations alternatives, en particulier la $t(11;17)(q23;q21)$ impliquant le gène *ZBTB16*, seraient de plus mauvais pronostic avec une moindre sensibilité aux traitements par ATRA ou les dérivés de l'arsenic [11]. La

trisomie 8 est l'anomalie secondaire la plus fréquemment associée à la translocation $t(15;17)$ et sa présence ne modifie pas le bon pronostic de cette translocation.

Cytologiquement, il existe 2 formes de LAM3 : la forme classique, leucopénique et hypergranuleuse, avec des promyélocytes anormaux comportant de grosses granulations cytoplasmiques très foncées couvrant le noyau souvent dystrophique (réniforme voir bilobé) et typiquement avec des corps d'Auer en fagots dans certains d'entre eux. La forme variante, de diagnostic plus difficile, est habituellement hyperleucocytaire et les promyélocytes anormaux ont un cytoplasme peu granuleux et un noyau bi-ou multilobé. Il n'existe pas de lien entre les variants cytogénétiques et cytologiques : une translocation $t(15;17)$ classique peut être observée dans une LAM3 variante et *vice versa*.

Cliniquement, les patients présentent fréquemment une coagulation intravasculaire disséminée (CIVD), en conséquence le diagnostic de LAM3 est une urgence diagnostique afin que le patient puisse bénéficier rapidement d'un traitement ciblé. Le pronostic de ces leucémies a été considérablement amélioré par l'introduction de l'ATRA et des dérivés de l'arsenic dans l'arsenal thérapeutique de cette pathologie. Le taux de rémission complète est proche de 100 % et le taux de survie à 5 ans est de 90 %.

LAM CBF (*core binding factor*)

Les LAM CBF regroupent les LAM avec $t(8;21)$ impliquant le gène *RUNX1* et les LAM avec $inv(16)(p13q22)$ ou $t(16;16)(p13;q22)$ impliquant le gène *CBFB*. Ces deux gènes codent respectivement pour les sous-unités α et β du complexe CBF, un facteur de transcription impliqué dans l'hématopoïèse normale.

LAM avec translocation $t(8;21)(q22;q22);RUNX1-RUNX1T1$: elles représentent 5 % des LAM et 10 % des

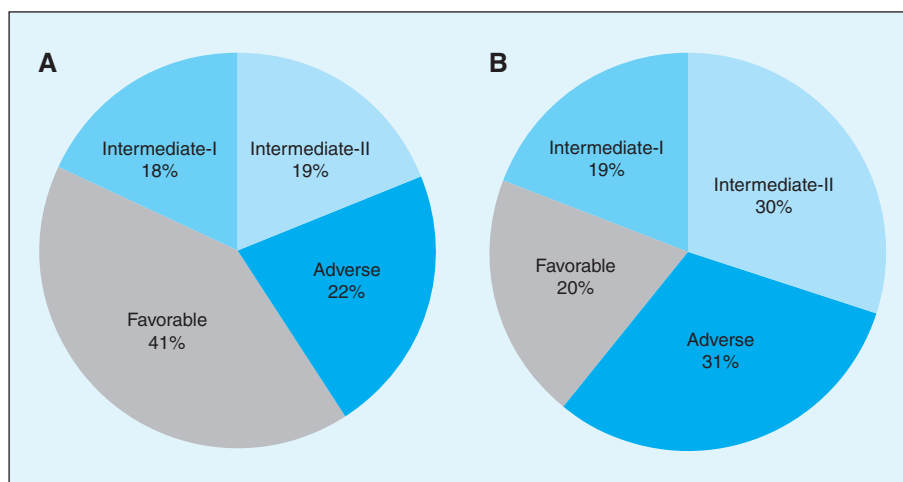


Figure 1. Distribution des groupes génétiques de l'ELN dans les LAM *de novo* de l'adulte de moins de 60 ans (A) et de 60 ans et plus (B) [4].

LAM2. Cette translocation induit la formation d'un gène de fusion entre les gènes *RUNX1* (*AML1*, *CBFA*) localisé en 21q22 et *RUNX1T1* (*ETO*) localisé en 8q22. Cette anomalie est facilement identifiable sur le caryotype ; elle peut être isolée ou associée à des anomalies secondaires, les plus fréquentes étant la perte d'un chromosome sexuel (X chez les femmes et Y chez les hommes) et la délétion partielle du bras long d'un chromosome 9 (del 9q). La présence d'anomalie(s) secondaire(s) ne modifie pas le bon pronostic de cette translocation.

La présence d'une translocation t(8;21) peut parfois être suspectée dès la lecture du myélogramme. En effet, cette translocation est principalement observée dans des LAM de type LAM2 selon la classification de FAB [1], avec classiquement la présence de grands blastes à cytoplasme abondant comportant parfois un long corps d'Auer unique et fin associée à une dysgranulopoïèse. Cette hypothèse est confortée lorsque le phénotypage immunologique des blastes montre une expression aberrante d'un marqueur de la lignée lymphoïde B (CD19) ou du CD56. Dans de rares cas, la translocation t(8;21) est observée dans des sarcomes myéloïdes et le taux de blastes dans la moelle peut alors être inférieur aux 20 % prérequis pour définir une LAM ; la présence de la translocation t(8;21) doit faire classer cette hémopathie en LAM et non en syndrome myélodysplasique [3].

Les LAM avec t(8;21) sont des LAM de pronostic favorable avec un taux de rémission complète proche de 100 % mais elles présentent une incidence cumulée de rechute à 3 ans proche de 30 % [12].

LAM avec inv(16)(p13q22) ou t(16;16)(p13;q22);*CBFB-MYH11* : elles représentent 5 à 10 % des LAM. Elles surviennent à tous les âges mais elles sont observées de façon prédominante chez les sujets jeunes. L'inv(16) ou beaucoup plus rarement la t(16;16) entraîne la formation d'un gène de fusion entre les gènes *CBFB* localisé en 16q22 et *MYH11* localisé en 16p13 qui code pour une chaîne lourde de la myosine du muscle lisse. Parfois difficile à identifier en cytogénétique conventionnelle, cette anomalie doit régulièrement être confirmée par des techniques de FISH. Elle peut être isolée ou associée à des anomalies secondaires en particulier la trisomie 22, anomalie secondaire caractéristique de l'inv(16) et dont la présence améliore encore le bon pronostic de ces LAM ; une délétion 7q ou une trisomie 8 toutes deux sans valeur pronostique dans ce contexte [13]. Classiquement l'inv(16) est associée aux LAM4Eo de la classification FAB, c'est-à-dire des leucémies aiguës myélonocytaires associées à une maturation éosinophile médullaire anormale [1]. La présence au myélogramme de granuleux éosinophiles immatures comportant de grosses granulations violet foncé doit faire évoquer cette anomalie mais l'inv(16) peut également être retrouvée dans des LAM4 classiques voire dans des LAM5.

Les LAM avec inv(16) sont des LAM de bon pronostic avec un taux de rémission complète très élevé mais tout comme les LAM avec t(8;21) elles présentent une incidence cumulée de rechute à 3 ans autour de 30 % [12].

Le récepteur à activité tyrosine kinase KIT est activé par son ligand le *stem-cell factor* induisant sa dimérisation et ainsi l'activation des voies de signalisation en aval. Plusieurs mutations de *KIT* ont été identifiées dans les LAM, particulièrement dans ce groupe « CBF » (17 à 48 % des cas selon les séries, versus 6 % pour l'ensemble des LAM). Des mutations de l'exon 8 sont principalement retrouvées dans les LAM avec inv(16) ; elles sembleraient augmenter le risque de rechute alors que des mutations de l'exon 17 (en particulier D816V) sont plus généralement associées au LAM avec t(8;21) et seraient associées à des taux de survie globale plus faibles et des durées de rémission complète moins longues. Ces mutations pourraient aussi représenter des cibles pour les inhibiteurs de tyrosine kinases [14].

LAM avec réarrangements du gène *MLL* (*KMT2A*)

Le gène *MLL* renommé *KMT2A* en 2013 est localisé sur le bras long du chromosome 11 en 11q23. Il code pour un régulateur épigénétique impliqué dans les modifications post-traductionnelles des histones. Près d'une centaine de translocations différentes impliquant le gène *MLL* ont été rapportées dans la littérature, certaines étant communes aux LAM et aux leucémies aiguës lymphoblastiques. Les gènes de fusion de *MLL* sont toujours constitués de la partie 5'*MLL* et de la partie 3' du gène partenaire. Les points de cassure dans le gène *MLL* sont regroupés entre les exons 5 et 11 dans une zone appelée le BCR (*Breakpoint cluster region*) et dans les LAM les points de cassure affectent préférentiellement l'exon 9 [15].

Les LAM 11q23/*MLL* représentent environ 5 % des LAM. Les gènes partenaires les plus fréquents sont *MLLT3* (*AF9*) en 9p22 (30 %), *MLLT10* (*AF10*) en 10p12 (14 %), *ELL* en 19p13.1 (11 %), et *MLLT4* (*AF6*) en 6q27 (10 %) [16]. Certaines translocations 11q23/*MLL* sont facilement identifiables en cytogénétique conventionnelle, mais d'autres nécessitent le recours à des techniques de FISH utilisant des sondes spécifiques du locus *MLL* pour les dépister. Comme toutes les translocations, elles peuvent être isolées ou associées à des anomalies secondaires. Leur pronostic varie en fonction du gène partenaire de *MLL* : pronostic défavorable le plus souvent, intermédiaire pour les translocations t(9;11);*MLL-MLLT3* et t(11;19);*MLL/ELL*.

Les LAM t(9;11)(p22;q23), avec fusion *KMT2A-MLLT3* (*MLL-AF9*) constituent une entité de LAM avec anomalies génétiques récurrentes dans la classification de l'OMS [3]. Elle peut être retrouvée à tout âge mais elle est plus fréquente dans les LAM de l'enfant (9 % à 12 % contre 2 % chez l'adulte). Sur le plan cytologique, il s'agit généralement de LA monoblastiques (LAM5a de la classification

FAB) [1], souvent hyperleucocytaires, avec une fréquence élevée de localisations extra-médullaires (hypertrophies gingivales, système nerveux central, peau). Elles sont associées à un pronostic intermédiaire.

Autres LAM à translocations récurrentes

Les LAM avec $\text{inv}(3)(\text{q}21\text{q}26.2)$ et plus rarement $\text{t}(3;3)(\text{q}21;\text{q}26.2)$ impliquent les gènes *PSMD2* (*RPN1*) en 3q21 et *MECOM* (*EVII*) en 3q26. Le remaniement génère une hyper-expression d'*EVII*. Elles représentent 1 à 2 % des LAM, préférentiellement chez l'adulte et leur fréquence est plus importante dans les LAM secondaires à un syndrome myélodysplasique (SMD) ou à une leucémie myéloïde chronique. La présence d'un remaniement du gène *EVII* peut être suspectée dès la numération sanguine car contrairement aux autres LAM, le taux de plaquettes est classiquement normal voire augmenté et l'on observe des anomalies plaquettaires (hypogranulation, mégaplaquettes) et parfois des noyaux nus de mégacaryocytes. Sur le myélogramme la dysmyélopoïèse est marquée principalement au niveau de la lignée mégacaryocytaire. L'inversion du chromosome 3 n'est pas spécifique des LAM ; elle est également mise en évidence dans des SMD. Elle est fréquemment associée à une monosomie 7 dont la présence aggrave son pronostic défavorable [17].

Les LAM avec $\text{t}(6;9)(\text{p}23;\text{q}34)$ générant un gène de fusion *DEK/NUP214* représentent environ 1 % des LAM. Elles sont observées aussi bien chez les enfants que chez les adultes. Sur le plan cytologique, il s'agit le plus souvent de LAM2 et LAM4 de la classification de FAB [1]. Elles sont classiquement associées à une basophilie médullaire (> 2 %) et à une dysmyélopoïèse. Leur pronostic chez l'adulte dépend de leur statut *FLT3* : pronostic défavorable si *FLT3* est muté, intermédiaire si *FLT3* est non muté [5]. Chez l'enfant, elles sont considérées comme de pronostic défavorable [7].

La translocation $\text{t}(8;16)(\text{p}11;\text{p}13)$ impliquant les gènes *MYST3* (*MOZ*) et *CREBBP* (*CBP*) est classiquement associée à des LAM5 dont les blastes présentent des images d'érythrophagocytose [1]. Très rares, leur pronostic est difficile à évaluer mais il s'agirait de LAM de mauvais pronostic [18].

Translocations récurrentes des LAM de l'enfant

Les translocations précédemment décrites peuvent être observées à tout âge mais d'autres translocations sont préférentiellement mises en évidence dans les LAM de l'enfant [7].

La translocation $\text{t}(5;11)(\text{q}35;\text{p}15)$ impliquant les gènes *NSD1* et *NUP98* est une translocation cryptique, c'est-à-dire non visible au caryotype, qui peut être recherchée par FISH à l'aide d'une sonde spécifique du locus *NUP98*. Elle est retrouvée dans 16 % des LAM de l'enfant à caryotype

« normal » et doit donc être systématiquement recherchée. Ces LAM sont associées à une duplication *FLT3* et à une évolution défavorable avec une EFS (*event free survival*) < 10 % à 4 ans [19]. Le gène *NUP98* peut également être remanié avec d'autres partenaires : le pronostic de ces formes plus rares n'est pas établi.

Les anomalies 12p et notamment les réarrangements du gène *ETV6* (*TEL*) sont associés à un pronostic défavorable [6, 7], en particulier la translocation cryptique $\text{t}(7;12)(\text{q}36;\text{p}13)$ impliquant les gènes *HLXB9* et *ETV6*. Sa fréquence est probablement sous-estimée et elle doit être recherchée par FISH, plus particulièrement dans les cas de LAM chez les enfants de moins de 18 mois. Elle entraîne une hyper-expression de *HLXB9* et elle est très fréquemment associée à une trisomie 19, plus rarement une trisomie 8 [20].

Les LAM avec translocation $\text{t}(1;22)(\text{p}13;\text{q}13)$ générant un gène de fusion *RBM15-MKLI* (*OTT-MAL*) constituent une entité très rare de la classification OMS (<1% des LAM) [3]. Elles sont observées chez les jeunes enfants sans syndrome de Down, avec une prédominance féminine. Elles sont exclusivement associées aux LA mégacaryoblastiques (LAM7) et elles sont de pronostic intermédiaire [21].

En 2013, une inversion cryptique du chromosome 16, $\text{inv}(16)(\text{p}13.3\text{q}24.3)$ impliquant les gènes *GLIS2* et *CBFA2T3* (*ETO2*) a été identifiée dans 27 % des LAM7 sans syndrome de Down. Il s'agit d'une anomalie de très mauvais pronostic avec une survie globale à 5 ans <30 % [22].

Autres anomalies cytogénétiques récurrentes dans les LAM

Outre les translocations récurrentes que nous venons de voir, les LAM peuvent présenter d'autres anomalies chromosomiques, moins spécifiques, observées également dans les syndromes myélodysplasiques ou plus rarement dans les syndromes myéloprolifératifs. Ces anomalies peuvent concerner tous les chromosomes mais certains sont plus fréquemment impliqués.

Les anomalies du chromosome 5 et du chromosome 7, le plus souvent sous la forme d'une délétion du bras long (5q- ou 7q-) ou d'une monosomie, sont mises en évidence dans respectivement 5 % et 8 % des LAM de l'adulte jeune (< 60 ans). Elles sont plus fréquentes chez les sujets âgés et dans les LAM secondaires et elles confèrent un pronostic défavorable.

Les anomalies du chromosome 17 (monosomie, isochromosome 17q ou 17p-) générant une délétion du gène *TP53* sont présentes dans 4 % des LAM du sujet jeune. À l'instar des anomalies des chromosomes 5 et 7, elles sont plus fréquentes chez les patients de plus de 60 ans et dans les LAM secondaires. Elles sont aussi de mauvais pronostic chez l'adulte.

Une trisomie 8 isolée est détectée dans environ 10 % des LAM. Il s'agit d'une anomalie de pronostic intermédiaire. Plusieurs anomalies peuvent être associées et on définit alors 2 entités : le caryotype complexe et le caryotype monosomique.

Le caryotype complexe

Un caryotype complexe est défini par la coexistence de plusieurs anomalies chromosomiques et ce en l'absence d'anomalie de bon pronostic, à savoir l'absence de t(15;17), t(8;21) ou d'inv(16)/t(16;16), et l'absence de translocation t(9;11) ou d'autre translocation récurrente. Le nombre d'anomalies chromosomiques requis a varié de 3 à 5 au cours du temps et selon les groupes de travail. Il est aujourd'hui de 3 pour la classification de l'ELN et de 4 pour la classification révisée du MRC [4, 5]. Les caryotypes complexes comportent fréquemment des anomalies des chromosomes 5 et 7, mais leur présence n'est pas systématique et ils sont dans tous les cas de mauvais pronostic chez l'adulte.

Bien qu'elles répondent à cette définition, une exception ne rentre pas dans la catégorie des LAM à caryotype complexe : les LAM à caryotype hyperdiploïde (> 49 chromosomes). À l'instar des LAL avec hyperdiploïdie qui sont de bon pronostic, des groupes de travail ont analysé le pronostic des LAM hyperdiploïdes et ont montré qu'en l'absence d'anomalie de mauvais pronostic, ces LAM sont de pronostic intermédiaire et qu'elles ne doivent donc pas être incluses dans les caryotypes complexes [23, 24].

Le caryotype monosomique

En 2009 Breems *et al.* ont établi le concept de caryotype monosomique qui est plus discriminant que le caryotype complexe pour identifier les LAM de pronostic défavorable. Il se définit par la présence d'une monosomie (à l'exception de la perte d'un chromosome X ou du chromosome Y) associée à au moins une anomalie de structure ou à une autre monosomie autosomique [25]. La perte d'un autosome avec gain d'un marqueur ou d'un anneau ne répond pas à la définition de caryotype monosomique, le marqueur dérivant en général du chromosome « perdu ». La survie globale des LAM à caryotype monosomique est inférieure à 5 % à 4 ans. D'abord décrit chez les sujets jeunes, ce concept a depuis été validé dans les LAM du sujet âgé [26].

Les LAM à caryotype normal (LAM-CN)

Environ 40 % des LAM ont un caryotype normal. Les LAM-CN constituent un groupe très hétérogène au sein duquel le devenir des patients est très variable. Les nombreuses anomalies moléculaires rapportées ces dernières

années ont permis de subdiviser les LAM-CN en plusieurs sous-groupes de pronostic bien défini, en particulier grâce à l'étude du statut mutationnel de 3 gènes : *NPM1*, *CEBPA* et *FLT3*.

Le gène *NPM1* (nucléophosmine), localisé en 5q35, code pour une phosphoprotéine ubiquitaire. Des mutations de *NPM1* sont retrouvées dans environ 35 % des LAM de l'adulte, uniquement dans des LAM *de novo* et dans un peu plus de la moitié des cas de LAM-CN. Plus rares chez l'enfant, elles ne sont détectées que dans 5 à 10 % des cas et jusqu'à 20 % dans les LAM-CN. Toutes les mutations sont localisées dans l'exon 12 et elles entraînent une expression aberrante de la nucléophosmine dans le cytoplasme. De nombreux variants sont décrits mais les mutations de type A représentent à elles seules 70 à 80 % des cas. Les « LAM avec mutation de *NPM1* » constituent une entité provisoire de la classification OMS 2008 [3] et elles sont de pronostic favorable dans les LAM-CN, mais seulement en l'absence de *FLT3-ITD* (*Internal tandem duplication*). Les patients *NPM1*+/*FLT3-ITD*- ont une probabilité de survie à 5 ans de l'ordre de 60 %, comme les LAM du groupe CBF et de ce fait elles ne justifient pas d'une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques en première rémission complète. Le gène *CEBPA* est localisé en 19q13.1. Des mutations de *CEBPA* sont décrites dans 5 à 15 % des LAM quel que soit l'âge (15 à 18 % des LAM-CN) et les « LAM avec mutation de *CEBPA* » constituent également une entité provisoire de l'OMS 2008 [3]. Les mutations de *CEBPA* sont considérées de pronostic favorable dans les LAM-CN, mais de récentes études ont montré que seule la présence de deux mutations de *CEBPA*, en général bialléliques, sont associées à un pronostic favorable dans les LAM-CN [27].

Le gène *FLT3* (*fms-related tyrosine kinase 3*) est localisé en 13q12. Des mutations du gène *FLT3* sont présentes dans 25 à 30 % des cas de LAM. Elles peuvent être de deux types. Dans plus de 80 % des cas (35 à 45 % des LAM-CN), il s'agit d'une duplication interne en tandem (*FLT3-ITD*) au niveau des exons 14 et 15 codant pour la région juxta-membranaire du récepteur. Le second type de mutations correspond à des mutations non-sens (*FLT3-TKD*) (tyrosine kinase domaine) au niveau des codons D835 et I836 de la boucle d'activation du domaine tyrosine kinase [28]. Les mutations *FLT3-ITD* dans les LAM à LAM-CN sont de pronostic défavorable avec une augmentation de l'incidence cumulée de rechute, une diminution de la survie globale. L'impact pronostique des mutations *FLT3-TKD* reste quant à lui controversé.

Près de 40 % des LAM-CN ne présentent aucune mutation pour ces 3 gènes (LAM triple négatif). L'étude des mutations affectant les gènes du contrôle épigénétique tels que les gènes *IDH1*, *IDH2*, *TET2*, *RUNX1*, *DNMT3A* ou *ASXL1* pourrait permettre d'affiner le pronostic de ces patients.

Recommandations pour la prise en charge cytogénétique des LAM

Tous les schémas thérapeutiques prenant en compte le caryotype au diagnostic de LAM, le caryotype doit donc être obtenu au diagnostic dans tous les cas.

Le temps de culture recommandé pour la technique de cytogénétique conventionnelle est d'au moins une nuit (jusqu'à 96 h) avec la possibilité d'ajout de stimulants de la lignée myéloïde : G-CSF ou surnageant de la lignée 5637. En cas d'échec, tout mettre en œuvre pour obtenir un deuxième prélèvement avant tout traitement.

La FISH est réalisée si nécessaire en complément du caryotype. Ses indications tiennent compte de (tableau 4) :

- la fréquence de l'anomalie recherchée ;
- la corrélation avec l'aspect morphologique ;

- le type de sondes disponibles (facilement accessibles pour tous les centres) ;
- l'existence de formes cryptiques ou masquées ;
- la difficulté de détection de l'anomalie au caryotype.

Les anomalies de bon pronostic

t(15;17)(q24;q21)/PML-RARA

La translocation t(15;17) standard est observée dans 92 % des M3, mais le remaniement est cryptique dans 4 % des M3 (PML-RARA généré par insertion indétectable par technique cytogénétique conventionnelle) et masqué dans une translocation variante (simple ou complexe) dans 2 % des M3. Donc, toute M3 sans t(15;17) au caryotype ou présentant un remaniement chromosomique impliquant un des 2 points de cassure de la t(15;17), soit 15q24 soit 17q21, doit

Tableau 4. Recommandations du GFCH pour la prise en charge cytogénétique des LAM au diagnostic : caryotype obligatoire (sur moelle).

Caryotype informatif avec anomalie(s) pronostique(s)	Caryotype informatif mais	Echec du caryotype
t(8;21)(q22;q22); <i>RUNX1-RUNX1T1</i> inv(16)(p13q22)/t(16;16)(p13;q22); <i>CBFB-MYH11</i> t(15;17)(q24;q21); <i>PML-RARA</i> t(9;11)(p23;q23) <i>KMT2A-MLLT3</i> t(11q23;V); <i>KMT2A(MLL)-V</i> -5/del(5q) -7/del(7q) -17/del(17p) inv(3)(q21q26)/t(3;3)(q21;q26); <i>RPN1-MECOM(EV11)</i> t(3q;V) t(6;9)(p23;q34); <i>DEK-NUP214</i> t(8;16)(p11;p13); <i>KAT6A-CREBBP</i> t(9;22)(q34;q11); <i>BCR-ABL1</i> t(1;22)(p13;q13); <i>RBM15-MKL1</i> 12p chez l'enfant (translocation, délétion) Caryotype complexe ^a Caryotype monosomique ^b	Caryotype normal \geq 20 mitoses (1) Anomalie de pronostic intermédiaire : anomalie non listée précédemment (2) Point de cassure récurrent évocateur d'une translocation variante (3) Discordance caryotype/cytologie évocatrice d'anomalie spécifique (4)	Nouvelle tentative de caryotype sur moelle ou caryotype sur sang si blastose circulante Si nouvel échec : FISH
FISH <i>KMT2A (MLL)</i> recommandée pour vérifier l'implication du gène dans les t(11q23;V)	(1) et (2) FISH <i>KMT2A (MLL)</i> obligatoire dans tous les cas : l'identification du partenaire peut modifier le pronostic + chez l'enfant : NUP98 dans tous les cas, ETV6 (TEL) surtout avant 2 ans ou quand trisomie 19, GLIS2 si LAM7 (pas de sonde commerciale) (3) Gène d'intérêt localisé au niveau du point de cassure (4) Idem morphologie évocatrice et échec du caryotype	FISH et/ou autre technique Avec orientation morphologique PML-RARA si aspect LAM3 RUNX1-RUNX1T1 (AML1-ETO) si aspect de LAM avec t(8;21) CBFB / MYH11 / CBFB-MYH11 (inv(16)/t(16;16) si aspect LAM4 éosino EV11 (inv(3)/t(3;3)) si thrombocytose et dysmégacaryopoïèse Sans orientation morphologique : <i>KMT2A (MLL)</i> , <i>EGR1 (del5q)</i> , <i>7q22/7q31 (del7q)</i> , <i>TP53 (del17p)</i> avec sonde contrôle pour les délétions

a) supérieur ou égal à 3 ou 4 anomalies selon les protocoles et les groupes de travail ; b) au moins 2 monosomies autosomiques ou une monosomie autosomique et une anomalie(s) de structure sans tenir compte des marqueurs et des anneaux [25].

faire l'objet d'une exploration complémentaire par FISH à la recherche d'un gène de fusion *PML-RARA*. Celui-ci est localisé sur le dérivé 15, chromosome critique de la translocation, dans la grande majorité des cas. La recherche du gène de fusion *PML-RARA* par FISH, complémentaire du caryotype, n'est pas justifiée dans les LAM non promyélocyaires car *PML-RARA* n'est qu'exceptionnellement observé dans des proliférations non promyélocyaires.

Un faible pourcentage de M3 (ou LA morphologiquement proches des M3) est caractérisé par d'autres remaniements chromosomiques qui impliquent tous *RARA* : t(11;17)(q23;q21)/*PLZF-RARA* (0,8 %), t(5;17)(q35;q21)/*NPM-RARA* (0,2 %), t(11;17)(q13;q21)/*NuMA-RARA* (< 0,1%) et *STAT5b-RARA* (< 0,1%). Le meilleur outil de mise en évidence de ces anomalies est le caryotype.

Les sondes de grande taille (300 Kb) détectent bien le gène de fusion *PML-RARA* sur cellules interphasiques et métaphasiques, mais détectent mal les insertions de petite taille. Les sondes de plus petite taille (20 à 40Kb) détectent bien le gène de fusion *PML-RARA* sur cellules métaphasiques, moins bien sur cellules interphasiques mais elles détectent mieux les insertions de petite taille.

t(8;21)(q22;q22)/ *RUNX1-RUNX1T1* (*AML1-ETO*)

Translocation aisément identifiable au caryotype, elle peut être masquée dans un remaniement complexe impliquant l'un des 2 points de cassure de la translocation, 8q22 ou 21q22, dans un faible pourcentage de cas (1 %). En dépit d'une controverse basée sur des données discordantes de la littérature, les t(8;21) cryptiques (sans anomalie cytogénétiquement détectable des chromosomes 8 et 21) sont probablement très rares. La recherche du gène de fusion *AML1-ETO* ne semble donc justifiée que dans des cas particuliers : remaniements 8q22 ou 21q22 sans t(8;21) au caryotype, morphologie médullaire très évocatrice de t(8;21) sans t(8;21) au caryotype ou avec échec du caryotype. Le gène de fusion *RUNX1-RUNX1T1* (*AML1-ETO*) est en règle générale localisé sur le dérivé 8, chromosome critique de la t(8;21).

Toutes les sondes locus-spécifiques commerciales disponibles détectent bien le remaniement *RUNX1-RUNX1T1* (*AML1-ETO*). Seules les insertions moléculaires de très petite taille (très peu de cas rapportés) nécessitent des sondes locus-spécifiques de petite taille pour être détectées.

inv(16)(p13q22) ou t(16;16)(p13;q22)/*CBFB*-*MYH11*

L'inversion du chromosome 16, inv(16)(p13q22), ou son variant cytogénétique t(16;16)(p13;q22), sont classiquement détectées par technique cytogénétique conventionnelle, mais nécessitent une bonne qualité de préparation chromosomique pour être authentifiées sur le caryotype. De plus, des inv(16) peuvent être masquées dans des remaniements complexes impliquant soit 16p13, soit 16q22,

et d'authentiques inv(16) cryptiques avec gène de fusion *CBFB-MYH11* généré par insertion moléculaire sans remaniement cytogénétiquement visible ont été rapportées. La fréquence précise des inv(16) cryptiques reste à évaluer et les résultats contradictoires de la littérature sont probablement en rapport avec la difficulté d'identification de l'anomalie. Toutefois, ce pourcentage est probablement faible et inférieur à 3 % comme en atteste le pourcentage le plus élevé de discordances entre caryotype et RT-PCR des séries publiées.

La FISH peut donc utilement compléter le caryotype. Plusieurs types de sondes sont disponibles détectant l'anomalie à la fois sur cellules interphasiques et métaphasiques. Il peut s'agir de sondes de séparation des parties 3'et 5' soit du gène *CBFB*, soit du gène *MYH11* ou de sondes de fusion des gènes *CBFB* et *MYH11*. La distinction entre inv(16) et t(16;16) ne peut se faire que sur métaphases car les images sur cellules interphasiques sont identiques pour les 2 types de remaniement. Toutes les inv(16) sont ainsi aisément détectables par FISH, le seul écueil des sondes commerciales (de grande taille) sont les très rares insertions de petite taille qui nécessitent des cosmides locus-spécifiques pour être détectées. Cette efficacité fait de la FISH un outil de choix pour la recherche de l'anomalie. Cette recherche paraît justifiée dans les groupes d'âge qui bénéficieront d'une thérapie stratifiée sur la présence de l'inv(16) dans les situations suivantes : i) discordance entre le caryotype (qui ne détecte pas l'anomalie, comprenant les échecs) et la morphologie (qui évoque sa présence, notamment les LAM avec composante monocytaire et éosinophiles anormaux); ii) en complément d'un caryotype dont la qualité ne permet pas l'identification formelle de l'anomalie, même sans orientation morphologique car les inv(16) sont aussi détectées dans un pourcentage non négligeable (10 %) de LAM sans composante monocytaire; iii) en complément d'un caryotype avec remaniement impliquant 16p13 ou 16q22, ou avec trisomie 22 isolée, anomalie associée de manière non aléatoire aux inv(16).

Les anomalies 11q23/*MLL*

Les anomalies 11q23/*MLL* observées dans les LAM recouvrent des entités différentes probablement associées à des pronostics différents. Les remaniements 11q23 sont, dans la majorité des cas, des translocations impliquant *MLL*. Toutefois, certains d'entre eux sont *MLL*-négatif. Il importe donc de préciser pour les remaniements 11q23 si *MLL* est réarrangé, et pour les translocations *MLL*-positif, d'identifier le partenaire. Les différentes translocations 11q23/*MLL* sont identifiables par technique cytogénétique conventionnelle mais, alors que certaines sont aisément identifiables, d'autres nécessitent une très bonne qualité de préparation chromosomique pour être détectées. Le caryotype peut alors être utilement complété par technique FISH.

En pratique, plusieurs stratégies sont envisageables pour détecter les réarrangements *MLL*.

La FISH interphasique avec une sonde double couleur (signaux 3'*MLL* et 5'*MLL* de couleur différente, colocalisés en 11q23 en situation normale et séparés en cas de réarrangement *MLL*) détecte tous les réarrangements *MLL* et peut être considérée comme ayant la même efficacité de détection que le Southern blot, le seul réarrangement *MLL* non détecté par la FISH étant la duplication en tandem *MLL*. La FISH métaphasique permet d'identifier le partenaire dans les translocations. Le signal 3'*MLL* est transloqué sur le partenaire sauf dans environ 10 % des translocations associées à une délétion 3'*MLL*. Les peintures chromosomiques du 11 et du partenaire peuvent aussi contribuer à cette identification.

La systématisation de la FISH *MLL* est recommandée pour répertorier l'ensemble des anomalies impliquant *MLL* (translocations et amplifications) et en raison de sa valeur pronostique.

Dans les LAM de l'enfant de moins de 2 ans, la FISH *MLL* doit être réalisée dans tous les cas en raison de la fréquence élevée des translocations *MLL* dans ce groupe d'âge et du pronostic défavorable auquel elles sont associées s'il s'agit d'une t(4;11), d'une t(6;11) ou d'une t(10;11).

Dans les LAM de l'adulte, la recherche d'un réarrangement du gène *MLL* est obligatoire dans tous les caryotypes du groupe intermédiaire, car la mise en évidence d'une translocation impliquant *MLL* fait basculer le patient dans le groupe de pronostic défavorable s'il ne s'agit pas d'une t(9;11) ni d'une t(11;19).

Les sondes commerciales disponibles qui permettent la détection de l'anomalie à la fois en métaphase et en interphase sont bien adaptées à un criblage systématique.

Les anomalies de mauvais pronostic

Les anomalies chromosomiques conférant un mauvais pronostic dans toutes les séries de LAM sont les caryotypes complexes (≥ 3 ou 4 anomalies non apparentées), les caryotypes monosomiques, les monosomies 5 et les délétions partielles du bras long du chromosome 5 (-5/5q-), les monosomies 7 complètes (-7) +/- del(7q), les t(3;3) ou inv(3q), les anomalies 11q autres que les t(9;11) voire les t(11;19), les anomalies du bras court du chromosome 17.

Aucune stratégie FISH n'est proposée pour rechercher ces anomalies dont la détection repose entièrement sur la technique de cytogénétique conventionnelle pour les raisons suivantes :

- le caryotype permet de visualiser l'ensemble des chromosomes et donc d'identifier l'ensemble des anomalies en un seul temps ;
- les anomalies sont facilement identifiables au caryotype standard et sont exceptionnellement cryptiques ;

- aucun panel de sondes FISH ne peut remplacer la notion de complexité du caryotype qui repose sur les résultats du caryotype standard ;

- aucune sonde n'est disponible pour certaines anomalies ;

- une analyse FISH avec les sondes disponibles ne dispense pas du caryotype pour une interprétation correcte des résultats.

Le caryotype reste donc l'examen clé de la définition des critères de haut risque.

Pour les rares échecs cytogénétiques n'ayant pas pu bénéficier d'un deuxième prélèvement avant tout traitement, la recherche sur noyaux interphasiques d'un -5/5q- et d'un -7/7q- peut être proposée, en sachant que l'information ainsi obtenue sur les critères de haut risque est incomplète. De même, s'il existe une thrombocytose associée à une dysmégacaryocytopoïèse manifeste une recherche d'une inv(3q)/t(3;3) peut être réalisée.

Les sondes recommandées sont alors :

- sondes explorant la région 5q31 (la plus fréquemment délétée) : la cohybridation d'une sonde explorant simultanément une autre région du chromosome 5 facilite l'interprétation des résultats ;

- sonde centromérique du 7 : l'association à une analyse des régions 7q31 ou 7q22-7q35 facilite l'interprétation des résultats ;

- inv(3q)/t(3;3) : sonde de séparation double couleur du gène *EVII*(*MECOM*).

Cas particuliers des LAM de l'enfant

Outres les recommandations précédentes 3 anomalies doivent être recherchées dans les LAM de l'enfant.

t(5;11)(q35;p15.5)/NUP98-NSD1

La translocation cryptique t(5;11)(q35;p15.5) impliquant les gènes *NSD1* et *NUP98* est retrouvée dans 16 % des LAM de l'enfant à caryotype « normal » et doit donc être systématiquement recherchée par FISH dans les LAM sans anomalies spécifiques. Le gène *NUP98* peut également être remanié avec d'autres partenaires.

Les réarrangements du gène *NUP98* peuvent être détectés à l'aide d'une sonde commerciale spécifique de séparation (double couleur). La FISH interphasique permet de réaliser le dépistage systématique mais seule la FISH métaphasique permettra l'identification du partenaire : le signal 3'*NUP98* est transloqué sur le chromosome partenaire.

Anomalies du 12p : réarrangements du gène *ETV6*(*TEL*)

Les réarrangements du gène *ETV6* et en particulier la translocation cryptique, t(7;12)(q36;p13) impliquant les gènes *HLXB9* et *ETV6* (*TEL*), dont la fréquence est probablement sous-estimée, doivent être recherchés par FISH plus particulièrement dans les cas de LAM chez les enfants de

moins de 18 mois. Elle est très fréquemment associée à une trisomie 19, plus rarement une trisomie 8.

La détection des réarrangements du gène *ETV6* est réalisable à l'aide d'une sonde commerciale de séparation (double couleur) ou sonde simple couleur dans les sondes type *TEL/AML1*.

inv(16)(p13.3q24.3)/CBFA2T3(ETO2)-GLIS2

Cette inversion cryptique du chromosome 16, inv(16)(p13.3q24.3) impliquant les gènes *GLIS2* et *CBFA2T3 (ETO2)* doit être recherchée dans les LAM7 sans syndrome de Down en raison de son mauvais pronostic. Il n'existe pas de sonde commerciale disponible à ce jour.

Depuis l'écriture de cet article, la classification OMS 2016 est parue, et devra aussi être prise en compte dans les recommandations.

Remerciements. Les auteurs remercient les docteurs N. Dastugue, L. Baranger, C. Bastard, C. Bilhou-Nabera, C. Charrin, V. Eclache, J.L. Lai, D. Leroux, F. Mugneret, M.P. Pages, C. Perot, B. Poppe, I. Radford-Weiss, F. Speleman, P. Talmant, J. Van Den Akker, F. Viguie pour leur contribution lors de la parution de la première version de ces recommandations (*Pathol Biol (Paris)* 2004 ; 53).

Liens d'intérêts : Les auteurs déclarent ne pas avoir de lien d'intérêt en rapport avec cet article.

Références

- Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, *et al.* Proposals for the classification of the acute leukemias. French-American-British (FAB) cooperative group. *Br J Haematol* 1976 ; 33 : 451-8.
- Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW. *World Health Organization (WHO) classification of tumors of haematopoietic and lymphoid tissues.* Lyon : IARC Press, 2001.
- Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, Brunning RD, Borowitz MJ, Porwit 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 : 937-51.
- Döhner H, Estey EH, Amadori S, Appelbaum FR, Büchner T, Burnett AK, *et al.* Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European Leukemia Net. *Blood* 2010 ; 115 : 453-74.
- Grimwade D, Hills RK, Moorman AV, Walker H, Chatters S, Goldstone AH, *et al.* Refinement of cytogenetic classification in acute myeloid leukemia: determination of prognostic significance of rare recurring chromosomal abnormalities among 5876 younger adult patients treated in the United Kingdom Medical Research Council trials. *Blood* 2010 ; 116 : 354-65.
- Harrison CJ, Hills RK, Moorman AV, Grimwade DJ, Hann I, Webb DK, *et al.* Cytogenetics of childhood acute myeloid leukemia: United Kingdom MRC treatment trials AML 10 and 12. *J Clin Oncol* 2010 ; 28 : 2674-81.
- Creutzig U, van den Heuvel-Eibrink MM, Gibson B, Dworzak MN, Adachi S, de Bont E, *et al.* Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in children and adolescents: recommendations from an international expert panel. *Blood* 2012 ; 120 : 3187-205.
- Mrózek K, Marcucci G, Nicolet D, Maharry KS, Becker H, Whitman SP, *et al.* Prognostic significance of the Europea Leukemia Net standardized for reporting cytogenetic and molecular alterations in adults with acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2012 ; 30 : 4515-23.
- Zhang Y, Rowley JD. Chromatin structural elements and chromosomal translocations in leukemia. *DNA Repair* 2006 ; 5 : 1282-97.
- Chomienne C, Ballerini P, Balitrand N, Daniel MT, Fenaux P, Castaigne S, *et al.* All-trans retinoic acid in acute promyelocytic leukemia. II. *In vitro* studies: structure-function relationship. *Blood* 1990 ; 76 : 1710-7.
- Grimwade D, Biondi A, Mozziconacci MJ, Hagemeijer A, Berger R, Neat M, *et al.* Characterization of acute promyelocytic leukemia cases lacking the classic t(15;17): results of the European Working Party. Groupe français de cytogénétique hématologique, Groupe français d'hématologie cellulaire, UK cancer cytogenetics group and BIOMED 1 European community-concerted action "molecular cytogenetic diagnosis in haematological malignancies". *Blood* 2000 ; 96 : 1297-308.
- Jourdan E, Boissel N, Chevret S, Delabesse E, Renneville A, Cornillet P, *et al.* Prospective evaluation of gene mutations and minimal residual disease in patients with core binding factor acute myeloid leukemia. *Blood* 2013 ; 121 : 2213-23.
- Paschka P, Du J, Schlenk RF, Gaidzik VI, Bullinger L, Corbacioglu A, *et al.* Secondary genetic lesions in acute myeloid leukemia with inv(16) or t(16;16): a study of the German-Austrian AML study group (AMLSG). *Blood* 2013 ; 121 : 170-7.
- Boissel N, Leroy H, Brethon B, Philippe N, de Botton S, Auvrignon A, *et al.* Incidence and prognostic impact of c-KIT, FLT3, and Ras gene mutations in core binding factor acute myeloid leukemia (CBF-AML). *Leukemia* 2006 ; 20 : 965-70.
- De Braekeleer M, Morel F, Le Bris MJ, Herry A, Douet-Guilbert N. The MLL gene and translocations involving chromosomal band 11q23 in acute leukemia. *Anticancer Research* 2005 ; 25 : 1931-44.
- Meyer C, Kowarz E, Hofmann J, Renneville A, Zuna J, Trka J, *et al.* New insights to the MLL recombinome of acute leukemias. *Leukemia* 2009 ; 23 : 1490-9.
- Lugthart S, Gröschel S, Beverloo HB, Kayser S, Valk PJ, van Zelder-Bhola SL, *et al.* Clinical, molecular and prognostic significance of WHO type inv(3)(q21q26.2)/t(3;3)(q21;q26.2) and various other 3q abnormalities in acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2010 ; 24 : 3890-8.
- Gervais C, Murati A, Helias C, Struski S, Eischen A, Lippert E, *et al.* Acute myeloid leukaemia with 8p11 (MYST3) rearrangement: an integrated cytologic, cytogenetic and molecular study by the groupe francophone de cytogénétique hématologique. *Leukemia* 2008 ; 22 : 1567-75.
- Hollink IH, van den Heuvel-Eibrink MM, Arentsen-Peters ST, Pratorcorona M, Abbas S, Kuipers JE, *et al.* NUP98/NSD1 characterizes a novel poor prognostic group in acute myeloid leukemia with a distinct HOX gene expression pattern. *Myeloid Neoplasia* 2011 ; 118 : 3645-56.
- Naiel A, Vetter M, Plekhanova O, Fleischman E, Sokova O, Tsaur G, *et al.* Novel three-colour fluorescence in situ hybridization approach for the detection of t(7;12)(q36;p13) in acute myeloid leukaemia reveals new cryptic three way translocation t(7;12;16). *Cancers* 2013 ; 11 : 281-95.

21. Inaba H, Zhou Y, Abla O, Adachi S, Auvrignon A, Beverloo HB, *et al.* Heterogeneous cytogenetic subgroups and outcomes in childhood acute megakaryoblastic leukemia: a retrospective international study. *Blood* 2015 ; 126 : 1575-84.
22. Gruber TA, Larson Gedman A, Zhang J, Koss CS, Marada S, Ta HQ, *et al.* An inv(16)(p13.3q24.3)-encoded *CBFA2T3-GLIS2* fusion protein defines an aggressive subtype of pediatric acute megakaryoblastic leukemia. *Cancer Cell* 2012 ; 22 : 683-97.
23. Luquet I, Laï JL, Barin C, Baranger L, Bilhou-Nabera C, Lippert E, *et al.* Hyperdiploid karyotypes in acute myeloid leukemia define a novel entity: a study of 38 patients from the Groupe francophone de cytogénétique hématologique (GFCH). *Leukemia* 2008 ; 22 : 132-7.
24. Chilton L, Buck G, Harrison CJ, Ketterling RP, Rowe JM, Tallman MS, *et al.* Hyperdiploidy with 49-65 chromosomes represents a heterogeneous cytogenetic subgroup of acute myeloid leukemia with differential outcome. *Leukemia* 2014 ; 28 : 321-8.
25. Breems DA, Van Putten WL, De Greef GE, Van Zelderren-Bhola SL, Gerssen-Schoorl KB, Mellink CH, *et al.* Monosomal karyotype in acute myeloid leukemia: a better indicator of poor prognosis than a complex karyotype. *J Clin Oncol* 2008 ; 29 : 4791-7.
26. Perrot A, Luquet I, Pigneux A, Mugneret F, Delaunay J, Harousseau JL, *et al.* Dismal prognostic value of monosomal karyotype in elderly patients with acute myeloid leukemia: a GOELAMS study of 186 patients with unfavorable cytogenetic abnormalities. *Blood* 2011 ; 118 : 679-85.
27. Taskesen E, Bullinger L, Corbacioglu A, Sanders MA, Erpelinck CA, Wouters BJ, *et al.* Prognostic impact, concurrent genetic mutations, and gene expression features of AML with *CEBPA* mutations in a cohort of 1182 cytogenetically normal AML patients: further evidence for *CEBPA* double mutant AML as a distinctive disease entity. *Blood* 2011 ; 117 : 2469-75.
28. Renneville A, Roumier C, Biggio V, Nibourel O, Boissel N, Fenaux P, *et al.* Cooperating gene mutations in acute myeloid leukemia: a review of the literature. *Leukemia* 2008 ; 22 : 915-31.