



*République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de L'enseignement Supérieure et de La Recherche  
Scientifique*

*Université BLIDA 1  
Faculté des sciences de la nature et de la vie  
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire*



*Mémoire de fin d'études en Vue de l'obtention du diplôme de Master  
Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire*

*Thème:*

*L'intérêt du Caryotype et de la FISH dans la  
Stratification pronostique des Syndromes  
myélodysplasiques chez l'adulte*

*Présenté par :*

*M<sup>lle</sup> BOUDAOU D Kamilia et M<sup>lle</sup> MENBENKHELIL Raounak*

*Soutenu le : 20 . 09 . 2020*

*Devant le jury composé de :*

<i>M<sup>me</sup> ZEROUTI K.</i>	<i>Maître Assistante A.</i>	<i>UB1</i>	<i>Présidente</i>
<i>M<sup>me</sup> CHALAL N.H.</i>	<i>Maître de Conférences B.</i>	<i>UB1</i>	<i>Examinatrice</i>
<i>M<sup>me</sup> BOUCHAKOR Y.</i>	<i>Maître de conférences A.</i>	<i>CAC</i>	<i>Promotrice</i>
<i>M<sup>me</sup> KANANE A.</i>	<i>Maître Assistante A.</i>	<i>UB1</i>	<i>Co-promotrice</i>

*Promotion : 2019 - 2020*

## ***REMERCIEMENTS***

*D'abord, nous remercions « Allah » le Miséricordieux, le Tout Puissant qui nous a accordé force, courage et patience.*

*Au terme de ce travail, nous tenons à remercier notre chef d'option et Maître de Conférences à l'université de Blida 1, **DR. SAADI L.**, pour sa spontanéité et son dynamisme et sens d'organisation qui nous a permis à maintes reprises d'avoir les idées claires et d'aller de l'avant.*

*Notre profond remerciement à notre promotrice **DR. BOUCHAKOR Y.**, Maître de conférences en Hématologie au sein de l'Etablissement Hospitalier Spécialisé et lutte contre le cancer de Blida, pour son encadrement technique et moral, sa grande compréhension, admirable patience ainsi que sa disponibilité, ces quelques mots ne pourront guère vous exprimer nos plus sincères sentiments de gratitude, d'admiration et de respect.*

*Nous présentons également, nos plus sincères remerciements et profonde reconnaissance à notre très chère Co-promotrice et Maître Assistante à l'université de Blida 1, **M<sup>me</sup> KANANE A.**, pour la clarté et la rigueur de son enseignement durant nos années d'études, ainsi que pour ses précieux conseils, son remarquable soutien, son excellente assistance et d'avoir été là pour nous quand on croyait que ce mémoire ne pourrait jamais voir le jour, un grand merci à vous.*

*Nos plus vifs remerciements s'adressent à **M<sup>me</sup> ZEROUTI K.**, Maître Assistante à l'université de Blida 1, pour bien avoir présidé ce jury.*

*Nous remercions également **M<sup>me</sup> CHALAL N.H.**, Maître de Conférences à l'université de Blida 1 pour avoir accepté de juger notre travail.*

*Notre plus grand respect et reconnaissance s'adressent également au **DR. TAOUSSI S.**, et à l'ensemble des membres du laboratoire de cytogénétique du service d'hématologie EHS ELCC Blida, qui ont délibérément accepté de nous transmettre l'intégralité de leurs savoir en si peu de temps.*

*Un merci particulier à notre ami **BOUHACEIN WASSIM** qui nous a volontairement conseillé et orienté depuis le début, et cela en raison de sa marquante expérience dans le sujet.*

*Un merci s'adresse également à nos chères parents, frères et sœurs, qui ont été là pour nous jusqu'au bout, ainsi qu'à tous nos amis, et à tous ceux qui ont participé de loin ou de près à l'élaboration de ce modeste travail.*

## ***RESUME***

Les syndromes myélodysplasiques (SMD) représentent un groupe de pathologies hématopoïétiques clonales, qui se caractérisent par une différenciation et maturation anormale des cellules hématopoïétiques. Dans le cadre de ce travail, une étude rétrospective portant sur **30** patients dont l'âge est supérieure à **18** ans atteints de SMD est réalisée, afin de déterminer l'intérêt de la cytogénétique conventionnelle par la technique de caryotype et moléculaire par la technique de L'hybridation in situ en fluorescence (FISH) dans la stratification pronostic des syndromes myélodysplasiques (SMD). Une classification morphologique de l'organisation mondiale de santé (OMS) et une classification pronostique selon : score pronostique international (IPSS), score pronostique international révisé (IPSS-R) et WHO classification-based prognostic scoring system (WPSS) des patients SMD ont été réalisées.

L'analyse des données de l'étude portée sur **30** patients a révélé une prédominance chez le sexe masculin avec une moyenne de **53.3 %** contre **46.7%** pour les femmes et une incidence considérablement assignée à la tranche d'âge comprise entre **70** et **90** ans. De plus, **52.9 %** des SMD ont pu évoluer vers une leucémie aiguë myéloïde (LAM). Les informations obtenues suite aux **27** caryotypes médullaires interprétés ont montré qu'une ou plusieurs anomalies caryotypiques sont retrouvées chez **44.4%** des cas dont **33.3 %** sont des délétions **5q-**, et **11.1 %** sont des délétions **20q**. Ces résultats ont été par la suite confirmés par la réalisation de la **FISH**. Toutefois, cette dernière a permis de détecter en plus deux autres anomalies dites cryptiques à savoir ; une délétion **5q(del 5q-)** associée à une délétion **17q(P53)**. Les résultats combinés du caryotype et de la **FISH : deletion 5q-** et **deletion 20q**, ont permis de classer les SMD en risque favorable selon la classification cytogénétique IPSS. Cependant, **11.1%** sont des délétions **7q** et **3.7%** seulement de **del p53** et par conséquent, classées en risque défavorable selon l'IPSS. L'ensemble de ces données combinées aux résultats biologiques, cytologiques (cytopénies et blastoses) et cytogénétiques ont été d'une importance capitale pour élaborer les scores IPSS, IPSS-R et WPSS, et établir le diagnostic et la prise en charge thérapeutique adaptée pour chaque patient .

L'ensemble des résultats obtenus nous laisse suggérer l'implication de la cytogénétique dans la stratification pronostique des syndromes myélodysplasiques, par conséquent le choix thérapeutique dans le but de prolonger la survie des patients.

**Mots clés : syndromes myélodysplasiques ; Cytogénétique ;Caryotype ; Hybridation in situ en fluorescence; classification morphologique ; score pronostique international ; score pronostique international révisé .**

# **ABSTRACT**

Myelodysplastic syndromes (MDS) represent a group of clonal hematopoietic pathologies, which are characterized by abnormal differentiation and maturation of hematopoietic cells. In the context of this work, a retrospective study concerning **30** patients aged over 18 years, with myelodysplastic syndromes were carried out in order to determine the interest of conventional and molecular cytogenetics by the use of karyotyping and fish technique in the prognosis stratification of myelodysplastic syndromes (MDS). A morphological (WHO) and prognostic (IPSS, IPSS-R, WPSS) classification of MDS patients is performed.

Data Analysis from the study of **30** patients revealed a predominance of males with an average of **53.3%** compared to the **46.7%** of females with an incidence significantly assigned to the age group between **70** and **90** years old. The study also showed that **52.9%** of MDS could progress to acute myeloid leukemia (AML). The information obtained following the **27** interpreted medullary karyotypes showed that one or more karyotypic abnormalities are found in **44.4%** cases of which **33.3%** are **5q-** deletions, and **11.1%** are **20q** deletions. These results were later confirmed by the FISH. However, the FISH also detected two others anomalies called cryptic anomalies, a **5q(del 5q-)** deletion associated with a **17q(P53)** deletion. The combined data of karyotyping and **FISH : 5q- deletion** and **20q deletion**, allowed us to classify the MDS at favorable risk according to the IPSS cytogenetic classification. However, **11.1%** are **7q deletions** and only **3.7%** are **del p53** deletions and therefore classified as unfavorable risk according to IPSS. All these data combined with the biological, cytological (cytopenias and blastoses) and cytogenetic results were of paramount importance in the elaboration of the IPSS, IPSS-R and WPSS scores, and in the establishment of the diagnosis and the appropriate therapeutic care for each patient.

In the light of these results we suggest that maybe cytogenetics is involved in the prognostic stratification, therefore in the therapeutic choice of myelodysplastics syndromes in order to extend the patients survival.

**Key words : Myelodysplastic syndromes ; Cytogenetic; Karyotype ; Fluorescence In Situ Hybridization ; Morphological classification; International Prognostic Scoring System;- Revised International Prognostic Scoring System**

## ملخص

متلازمة خلل التنسج النقوي او ما يعرف با (*SMD*) هي مجموعة من الأمراض الدموية النسيلية و التي تتميز بالنسوج والتمايز الغير الطبيعي للخلايا المكونة للدم. في إطار هذا العمل ، تم إجراء دراسة استشرافية تخص 30 مريضاً مصاب بمتلازمة خلل التنسج النقوي (*SMD*) والذين اعمارهم تفوق الـ 18 عامًا ، وذلك من أجل تحديد اهمية علم الوراثة الخلوية ، التقليدية باستخدام تقنية النمط النووي والجزئي بواسطة تقنية التهجين الموضعي (*FISH*) في تصنيف توقعات متلازمة خلل التنسج النقوي (*SMD*) وكذلك تصنيف مرضى *SMD* وفقاً للتصنيفات: المورفولوجية (منظمة الصحة العالمية) والتشخيصية (*IPSS* ، *IPSS-R* ، *WPSS*).

اظهرت التحاليل المأخوذة من دراسة 30 مريضاً مصاب بمتلازمة خلل التنسج النقوي عن غلبة الجنس الذكري بمتوسط 53.3% مقابل 46.7% فقط للجنس الانثوي ونسبة محددة بشكل كبير للفئة العمرية بين 70 و 90 سنة كما ان الدراسة اظهرت أن 52.9% من متلازمة خلل التنسج النقوي يمكن أن تتطور إلى سرطان الدم النخاعي الحاد (*AML*). من خلال المعلومات المتحصل عليها بعد اجراء النمط النووي لـ 27 مريضاً أن هناك 44.4% من الخلل في النمط النووي منها 33.3% عبارة عن 5 عمليات حذف في الصبغي q5 و 11.1% حذف في الصبغي q20 مكنت تقنية التهجين الموضعي من تأكيد نتائج النمط النووي بالإضافة الى تحديد نوعين من الخلل النووي المشفرة : حذف الصبغي q5 مرتبط بحذف الصبغي p53 ان النتائج المشتركة للنمط النووي و تقنية التهجين الموضعي *FISH*: الحذف q5- والحذف q 20 سمح لنا بتصنيف *SMD* كمخاطر مواتية وفقاً لتصنيف الوراثة الخلوي

### IPSS

في حين أن 11.1% عبارة عن عمليات حذف للصبغي q7 و 3.7% فقط هي حذف للصبغي p53 ، وبالتالي ، تصنف على أنها مخاطر مواتية وفقاً لـ *IPSS* ، مجموع هذه البيانات بالإضافة إلى النتائج البيولوجية ، الخلوية و مكنت من تحديد درجات *IPSS* و *IPSS-R* و *WPSS* ، تشخيص متلازمة خلل التنسج النقوي (*MDS*) و تحديد الاستراتيجية العلاجية المناسبة لكل مريض.

من خلال النتائج المتحصل عليها يمكننا توضيح تأثير و اهمية علم الوراثة الخلوية في التقسيم الطبقي النذير لمتلازمات خلل التنسج النقوي *MDS* و الذي من خلاله يتم اختيار الطرق العلاجية اللازمة و بالتالي تمديد حياة المريض.

الكلمات المفتاحية : النمط النووي ، التصنيف التشخيصي ، التصنيف المورفولوجي الوراثة الخلوي؛ تقنية التهجين الموضعي المتعلق ؛ متلازمة خلل التنسج النقوي

## *Liste des abréviations*

**8-OHdG** : niveaux de 8-hydroxy-2'-désoxyguanosine.

**AREB-1** : Anémie réfractaire avec excès de blastes -1.

**AREB-2** : Anémie réfractaire avec excès de blastes-2.

**ARN** : acide ribonucléique.

**ASE** : agents stimulants l'érythropoïèse .

**ASIA** : Anémie sidéroblastique idiopathique acquise

**CFU**: colony forming-unit.

**CFU-E**: Colony Forming Unit-Erythroid.

**CMML** : Chronic myelomonocytic leukemia.

**CMP** : common myeloid progenitor.

**CLP**: common lymphoid progenitor.

**CRDM** : Cytopénie réfractaire avec dysplasie multi lignée.

**CRDMSI** : Cytopénie réfractaire dysplasie multilignée avec sidéroblastes  
isolée

**CRDUSI** : Cytopénie réfractaire dysplasie unilignée avec sidéroblastes isolée

**del** : Délétion

**DFX** : le déférasirox.

**EPO**: Erythropoeitine .

**FAB** : The French–American–British

**FAB** : The French–American–British.

**FR** : faible risque.

**G -CSF** : Granulocyte colony stimulating factor

**HB** : Hemoglobin

**HR** : haut risqué.

**HTA** : hypertention artérielle

**Inv 3** : Inversion du chromosome 3

**IPSS** : international prognostic scoring system.

**IPSS-R**: Revided international prognostic scoring system .

**LA** : Leucémie Aigue

**LAM** : leucémie aiguë myéloblastique .

**MDS-I** : Syndrome myélodysplasique non classable.

**MGG** : May-Grünwald Giemsa.

**MLL** : Mixed Lineage Leukemia

**NGS** : Next generation sequencing

**OMS**: L'Organisation mondiale de la santé

**P**: Bras court du chromosome

**PB** :periphèrale blood .

**PBMC** : les cellules mononuclées de sang périphérique.

**Plq** : Plaquette

**PNN** : polynucléaires neutrophiles .

**q**: Bras long du chromosome

**RA** : Anémie réfractaire.

**RAEB** : Refractory Anaemia with Excess Blasts.

**RAEB-T** : Refractory Anemia with Excess Blasts in Transformation.

**RARS** : Anémie réfractaire avec sidéroblastes en couronne.

**RCUD** : Cytopénie réfractaire avec dysplasie unilignée.

**RN** :Neutropénie réfractaire .

**RT** : Thrombopénie réfractaire.

**RHC** : Rémission hématologique complète.

**SMD** : syndromes myélodysplasiques.

**SMD-DM** :SMD avec dysplasie multilingée.

**SMD-Du** : SMD avec dysplasie unilignée.

**SMD-EB-1** : SMD avec Excès de Blastos 1.

**SMD-EB-2** :SMD avec Excès de Blastos 2.

**SMD-S-DU** : SMD-S avec dysplasie unilignée.

**VGM** : Volume globulaire moyen

**WHO** : World Health Organization

**WPSS** :WHO classification based prognostic scoring system .

## Liste des tableaux

<b>Tableaux</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau I :</b>	Résultats de l'hémogramme	<b>34</b>
<b>Tableau II :</b>	Résultats de l'hémogramme (leucocytes et thrombocytes)	<b>35</b>
<b>Tableau III :</b>	Résultats du frottis sanguin	<b>36</b>
<b>Tableau IV :</b>	Récapitulatif des anomalies du caryotype	<b>41</b>
<b>Tableau V :</b>	Récapitulatif des anomalies de la FISH	<b>44</b>
<b>Tableau VI :</b>	Répartition des patients selon le score IPSS	<b>52</b>
<b>Tableau VII :</b>	Répartition des patients selon le score IPSS-R	<b>53</b>
<b>Tableau VIII :</b>	Devenir des patients après traitement	<b>57</b>
<b>Tableau I :</b>	Différents stades d'évolution des différentes lignées	<b>Annexe 1</b>
<b>Tableau II :</b>	Classification Franco- Américano-Britannique des syndromes myélodysplasiques	<b>Annexe 1</b>

<b>Tableau III :</b>	Classification de l'Organisation mondiale de la santé OMS	<b>Annexe 1</b>
<b>Tableau IV :</b>	Classification des syndromes myélodysplasiques selon l'OMS (2008)	<b>Annexe 1</b>
<b>Tableau V :</b>	Classification des Syndromes Myélodysplasiques selon l'OMS (2016)	<b>Annexe 1</b>
<b>Tableau VI :</b>	Classification cytogénétique de l'IPSS	<b>Annexe 1</b>
<b>Tableau VII :</b>	Classification cytogénétique de l'IPSS-R	<b>Annexe 1</b>
<b>Tableau VIII :</b>	Score IPSS (International prognostic scoring system)	<b>Annexe 1</b>
<b>Tableau IX :</b>	Score IPSS-R	<b>Annexe 1</b>
<b>Tableau X :</b>	Score globale IPSS-R	<b>Annexe 1</b>
<b>Tableau XI :</b>	Définition du wpss	<b>Annexe 1</b>
<b>Tableau XII :</b>	Classification Moléculaire des syndromes myélodysplasiques	<b>Annexe 1</b>
<b>Tableau XIII :</b>	Répartition des patients selon la tranche d'âge	<b>Annexe 1</b>

<b>Tableau XIV :</b>	Répartition des patients selon l'incidence	<b>Annexe 1</b>
<b>Tableau XV :</b>	Répartition des patients selon le sexe	<b>Annexe 1</b>
<b>Tableau XVI :</b>	Répartition des patients selon les antécédents	<b>Annexe 1</b>
<b>Tableau XVII :</b>	Répartition des patients selon le nombre de comorbidités	<b>Annexe 1</b>
<b>Tableau XVIII :</b>	Répartition des patients selon le type de comorbidités	<b>Annexe 1</b>
<b>Tableau XIX :</b>	Répartition des patients selon la circonstance de découverte	<b>Annexe 1</b>
<b>Tableau XX :</b>	Répartition des patients selon les résultats du myélogramme (atteinte unilignée)	<b>Annexe 1</b>
<b>Tableau XXI :</b>	Répartition des patients selon les résultats du myélogramme (atteinte multilignée)	<b>Annexe 1</b>
<b>Tableau XXII :</b>	Répartition des patients selon le nombre de blastes médullaires	<b>Annexe 1</b>
<b>Tableau XXIII :</b>	Récapitulatif des résultats du caryotype	<b>Annexe 1</b>

<b>Tableau XXIV :</b>	Récapitulatif des résultats de la FISH	<b>Annexe 1</b>
<b>Tableau XXV</b>	Répartition des patients selon la classification FAB	<b>Annexe 1</b>
<b>Tableau XXVI :</b>	Répartition des patients selon la classification OMS 2008	<b>Annexe 1</b>
<b>Tableau XXVII :</b>	Répartition des patients selon la classification OMS 2016	<b>Annexe 1</b>
<b>Tableau XXVIII :</b>	Répartition des patients selon la classification cytogénétique IPSS	<b>Annexe 1</b>
<b>Tableau XXIX :</b>	Répartition des patients selon la classification cytogénétique IPSS -R	<b>Annexe 1</b>
<b>Tableau XXX :</b>	Répartition des patients selon le score WPSS	<b>Annexe 1</b>
<b>Tableau XXXI :</b>	Différents traitements prescrits aux patients	<b>Annexe 1</b>
<b>Tableau XXXII :</b>	Récapitulatif des causes de décès	<b>Annexe 1</b>

## Liste des figures

<b>Figures</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Figure 1 :</b>	Schéma de la hiérarchie des progéniteurs hématopoïétiques	<b>7</b>
<b>Figure 2 :</b>	Voies cellulaires et les gènes les plus fréquemment impliqués dans la pathogenèse des syndromes myélodysplasiques	<b>10</b>
<b>Figure 3 :</b>	Principe de l'hybridation in situ en fluorescence (FISH)	<b>17</b>
<b>Figure 4 :</b>	Différents types de sondes utilisées en hybridation in situ	<b>17</b>
<b>Figure 5 :</b>	Répartition des patients atteints de SMD selon les tranches d'âges	<b>29</b>
<b>Figure 6 :</b>	Répartition des patients atteints de SMD selon leur incidence	<b>30</b>
<b>Figure 7 :</b>	Répartition des patients atteints de SMD selon le sexe	<b>30</b>
<b>Figure 8 :</b>	Répartition des patients selon la présence ou l'absence des antécédents	<b>31</b>
<b>Figure 9 :</b>	Répartition des patients selon les antécédents familiaux malins (cancer)	<b>31</b>

<b>Figure 10 :</b>	Répartition des patients selon le nombre de comorbidités	<b>32</b>
<b>Figure 11 :</b>	Répartition des patients selon les types de comorbidités	<b>32</b>
<b>Figure 12 :</b>	Répartition des patients selon les circonstances de découvertes	<b>33</b>
<b>Figure 13 :</b>	Répartition de l'anémie selon la gravité	<b>34</b>
<b>Figure 14 :</b>	Répartition de l'anémie selon le VGM	<b>35</b>
<b>Figure 15 :</b>	Répartition des patients selon le myélogramme (atteinte unilignée )	<b>37</b>
<b>Figure 16 :</b>	Répartition des patients selon le myélogramme (atteinte multilignée)	<b>38</b>
<b>Figure 17 :</b>	Répartition des patients selon le pourcentage des blastes médullaires	<b>38</b>
<b>Figure 18 :</b>	Répartition des cas selon le nombre d'anomalies du caryotype	<b>39</b>
<b>Figure 19 :</b>	Image d'un caryotype pathologique complexe avec 3 anomalies	<b>41</b>
<b>Figure 20 :</b>	Image d'un caryotype pathologique complexe avec 5 anomalies	<b>41</b>
<b>Figure 21 :</b>	Répartition des cas selon les anomalies du caryotype	<b>42</b>
<b>Figure 22 :</b>	Image d'un caryotype normal (bande R)	<b>42</b>
<b>Figure 23 :</b>	Image d'un caryotype pathologique avec une seule anomalie del 5q31q33 (bande R)	<b>43</b>

<b>Figure 24 :</b>	Image d'un caryotype pathologique avec une seule anomalie del(11q23) (bande R)	<b>43</b>
<b>Figure 25 :</b>	Image d'un caryotype pathologique avec une seule anomalie del7q22q31 (bande R)	<b>43</b>
<b>Figure 26 :</b>	Répartition des cas selon le nombre d'anomalies de la FISH	<b>44</b>
<b>Figure 27 :</b>	Répartition des patients selon les anomalies de la FISH	<b>45</b>
<b>Figure 28 :</b>	MDS : FISH :chromosome 5 (A et B) G×100	<b>45</b>
<b>Figure 29 :</b>	MDS : FISH :chromosome 7 (A et B) G×100	<b>46</b>
<b>Figure 30 :</b>	MDS : FISH :chromosome 17 (A et B) G×100	<b>46</b>
<b>Figure 31 :</b>	MDS : FISH :chromosome 20 (A et B) G×100	<b>47</b>
<b>Figure 32 :</b>	Répartition des patients selon la classification FAB	<b>48</b>
<b>Figure 33 :</b>	Répartition des patients selon la classification OMS 2008	<b>49</b>
<b>Figure 34 :</b>	Répartition des patients selon la classification cytogénétique IPSS	<b>50</b>
<b>Figure 35 :</b>	Répartition des patients selon la classification cytogénétique IPSS	<b>51</b>

<b>Figure 36 :</b>	Classification des SMD selon le score IPSS et le risque IPSS	<b>52</b>
<b>Figure 37 :</b>	Classification des SMD selon le score IPSS-R et le risque IPSS-R	<b>54</b>
<b>Figure 38 :</b>	Classification des SMD selon le score WPSS	<b>55</b>
<b>Figure 39 :</b>	Traitements prescrits aux patients	<b>56</b>
<b>Figure 40 :</b>	Devenir des patients	<b>57</b>
<b>Figure 41 :</b>	Devenir des patients après traitement	<b>57</b>
<b>Figure 42 :</b>	Répartition des patients selon les causes de décès	<b>58</b>

# *Glossaire*

- ❖ **Allogreffe** : Greffe sur un individu d'un greffon (*allogreffon* masculin) prélevé sur un autre individu (*s'oppose à autogreffe*).
- ❖ **Anémie Macrocytaire** : est une concentration sanguine insuffisante en hémoglobine dans laquelle les globules rouges (érythrocytes) sont plus grands que leur volume normal.
- ❖ **Anémie Microcytaire** : elles correspondent principalement à une carence en fer. La carence en fer résulte généralement de saignements chroniques et répétés dans le temps. Les pertes d'origine gynécologique représentent la cause principale d'anémie chez les femmes et sont généralement bénignes. Chez les hommes, les pertes sanguines d'origine digestive sont souvent la cause de ces anémies.
- ❖ **Anémie Normocytaire** : appauvrissement du sang en globules rouges ou en hémoglobine
- ❖ **Anémie réfractaire** : terme désignant un ensemble d'anémies par insuffisance médullaire, caractérisées par la présence dans la moelle de nombreuses cellules jeunes (blastes), précurseurs des globules rouges, qui sont dans l'incapacité de continuer à évoluer vers leur forme de globules rouges matures.
- ❖ **Anisochromie** : C'est la présence d'hématies de coloration variable, pouvant aller jusqu'à la présence d'une double population.
- ❖ **Anisocytose** : définie par la présence d'hématies de taille diverses.
- ❖ **Azacitidine** : Agents hypométhylants est un médicament anticancéreux, indiqué notamment dans le traitement des syndromes myélodysplasiques et les leucémies aiguës.

- ❖ **Blastes** : sont des cellules immatures de la moelle osseuse qui se transformeront éventuellement en globule rouge, en globule blanc ou en plaquette pour la coagulation.
- ❖ **Chélation** : La chélation est un processus physico-chimique au cours duquel est formé un complexe, le chélate, entre un ligand, dit chélateur, et un cation métallique, alors complexé, dit chélaté .
- ❖ **Cytopénies réfractaires** : ou syndrome myélodysplasique avec myélodysplasie touchant plusieurs lignées (CRMD), le syndrome 5q-, l'anémie réfractaire avec excès de blastes (AREB), les syndromes myélodysplasiques inclassables.
- ❖ **Cytopénies** : est un déficit quantitatif d'un certain type de cellule du sang. Le sang comprend le plasma et les cellules sanguines qui sont : les globules rouges (ou hématies ou érythrocytes), les globules blancs (ou leucocytes) et les plaquettes (ou thrombocytes).de taille au cours de la maturation.
- ❖ **Dysérythropoïèse** : la dysérythropoïèse est une anomalie de la maturation des érythroblastes au niveau de la moelle osseuse, entraînant une insuffisance de production des érythrocytes ou globules rouges, et une anémie arégénérative.
- ❖ **Dysgranulopoïèse** : peut être représentée par une diminution ou une disparition des grains neutrophiles intracytoplasmiques et/ou des troubles de la segmentation des noyaux.
- ❖ **Dysmégacaryopoïèse** : anomalies touchant les mégacaryocytes qui se traduit dans le sang par la présence de plaquettes de grande taille voire de plaquettes géantes
- ❖ **Dysplasie** : Anomalie dans le développement des tissus, des organes, se traduisant par des malformations (avant ou après la naissance).
- ❖ **Dyspnée** : est une gêne respiratoire ressentie par le patient. Elle doit être distinguée d'une détresse respiratoire ou d'une insuffisance respiratoire dont elle n'est pas forcément synonyme.

- ❖ **EPO:** est une hormone de nature glycoprotéique (protéine portant un glucide). Cette hormone est une cytokine pour les précurseurs des érythrocytes dans la moelle osseuse (c'est un facteur de croissance). Elle entraîne ainsi une augmentation du nombre de globules rouges dans le sang. Il y a donc un risque d'hypertension artérielle et d'une augmentation de la viscosité sanguine (un plus grand travail du cœur est alors nécessaire).
- ❖ **Erythropoïèse :** La maturation du précurseur de la lignée érythrocytaire, le proérythroblaste, et se fait en quelques jours. La maturation de la lignée monocyttaire est moins bien définie.
- ❖ **Facteurs de croissance (G CSF) :** facteur de croissance granulocytaire est une glycoprotéine de 174 acides aminés. Il est libéré par les macrophages, les cellules endothéliales et les fibroblastes en réponse à diverses stimulations.
- ❖ **Granulopoïèse :** La maturation de la lignée myélocytaire comprend théoriquement 3 mitoses.
- ❖ **Hyperleucocytose :** augmentation du nombre de globules blancs. Elle peut être due à la présence d'une infection dans l'organisme car les leucocytes jouent un rôle dans le système immunitaire des êtres humains.
- ❖ **Leucémie aigüe LA :** est une forme de cancer qui touche les cellules de la moelle osseuse, où sont produits les globules rouges, les plaquettes et les globules blancs. Ce sont des maladies qui engagent rapidement le pronostic vital si elles ne sont pas traitées.
- ❖ **Leucémie aigüe myéloïde :** (LAM), aussi appelée leucémie aigüe myéloblastique, est un cancer de type hémopathie maligne affectant les cellules hématopoïétiques de la moelle osseuse.

- ❖ **Leucopénie** : se définit comme une diminution du nombre de leucocytes du sang à moins de 4.000 globules blancs par millimètre cube de sang. Elle peut concerner uniquement les granulocytes (on parle alors de neutropénie) ou les lymphocytes (on parle de lymphopénie).
- ❖ **Lymphopoïèse** : Les cellules souches lymphoïdes sont primitivement issues de la moelle Osseuse hématopoïétique, mais elles migrent rapidement dans les organes lymphoïdes primaires pour se différencier. Promonocyte, Monocyte granuleux, Monocyte. se fait en 3 à 4 jours et aboutit au réticulocyte, dernier stade avant l'hématie. Théoriquement, un proérythroblaste engendre 16 hématies.
- ❖ **Macrocytose** : La macrocytose désigne la présence dans le sang de globules rouges de grande taille. La macrocytose observée à l'examen du sang au microscope (frottis).
- ❖ **Macrothrombocyte** : Plaquette sanguine dont la taille (de 6 à 8 µm), est supérieure à la normale.
- ❖ **Microcytose** : est le fait d'avoir des microcytes, c'est-à-dire des érythrocytes ou globules rouges de plus petite taille que la normale (Volume globulaire moyen abaissé, inférieur à 80 fl). Certaines anémies sont microcytaires.
- ❖ **Neutropénie** : c'est un trouble hématologique caractérisé par un taux bas de granulocytes (ou polynucléaires) neutrophiles dans le sang.
- ❖ **Normocytose** : est le fait, pour un patient, d'avoir dans son sang des hématies normales.
- ❖ **PNN hypersegmentés** : le noyau des polynucléaires neutrophiles contient 5 lobes ou plus.
- ❖ **PNN pseudo-pelgers** : L'anomalie de **Pelger-Huet** est un défaut héréditaire interférant avec la lobulation normale du noyau des granulocytes (polynucléaires) neutrophiles et

éosinophiles. Le noyau apparaît sous forme de bâtonnet ou de sphère. Les mères des fœtus atteint de nanisme léthal type Greenberg sont porteuses de cette anomalie.

- ❖ **Poïkilocytose** : C'est la présence d'hématies de formes diverses.
- ❖ **Revlimid** : immunomodulateurs indiqué en monothérapie pour le traitement des patients adultes présentant une anémie avec dépendance transfusionnelle due à un syndrome myélodysplasique à risque faible ou intermédiaire 1 associé à une anomalie cytogénétique de type délétion 5q isolée, lorsque les autres options thérapeutiques sont insuffisantes ou inappropriées.
- ❖ **Splénomégalie** : On appelle splénomégalie (SMG) une augmentation de volume (« -mégalie ») de la rate (« spléno- »). Ceci est repérable à la palpation ou à l'échographie
- ❖ **Syndrome de di Guglielmo** : Forme de leucémie aigüe caractérisée par une prolifération d'érythroblastes (cellules de la moelle osseuse, spécialisée dans la synthèse de l'hémoglobine ) dans le sang et la moelle osseuse .
- ❖ **Syndrome hémorragique** : un syndrome hémorragique se traduit par des saignements extériorisés ou non , leur liaison à un trouble de l'hémostase congénital ou acquis Les troubles de l'hémostase (se traduisant par un syndrome hémorragique) congénitaux sont beaucoup plus rares que les troubles de l'hémostase acquis. Il est bien entendu qu'il faut retrouver l'étiologie du syndrome hémorragique pour lui appliquer la thérapeutique adéquate.
- ❖ **Syndrome infectieux** : associe classiquement : fièvre, asthénie (fatigue). Elle peut s'accompagner de signes annexes comme: tachycardie, deshydratation, frissons... Le plus important dans le bilan est de rechercher des signes de détresse respiratoire, circulatoire (état de choc) ou neurologique (convulsion, coma)
- ❖ **Thrombocytose** : st une anomalie de l'hémogramme caractérisée par une augmentation du nombre de plaquettes circulantes.

- ❖ **Thrombopénie** : est une anomalie de la quantité de thrombocytes (plaquettes) dans le sang, caractérisée par une diminution du nombre de thrombocytes en dessous du seuil de 150 Giga thrombocytes par litre ou une diminution de 50 % par rapport au niveau de référence.
- ❖ **Thrombopoïèse** : La lignée thrombocytaire est la seule dans laquelle les cellules grandissent.
- ❖ **Transfusions** : est le transfert de sang ou de constituants du sang d'un individu (donneur) à un autre (transfusé). Elle peut être vitale et les services de santé se doivent d'assurer un approvisionnement suffisant en sang sécurisé et de veiller à ce qu'il soit utilisé judicieusement
- ❖ **VGM** : Le volume globulaire moyen, ou VGM, est un paramètre sanguin rendant compte de la taille des globules rouges, exprimée en  $\mu\text{m}^3$ .

# Sommaire

Introduction.....	1
<b>Chapitre I : Rappels bibliographiques</b>	
I.1.Syndromes myélodysplasiques	
I.1.1. Historique .....	3
I.1.2. Définition.....	3
I.1.3. Epidémiologie	
I.1.3.1. Incidence .....	4
I.1.3.2. Age moyen au diagnostic .....	4
I. 1.3.3. Sexe .....	4
I. 1.3.4. Durée entre les premiers symptômes et le diagnostic.....	5
I. 1.3.5. Temps de survie .....	5
I.1.3.6. Evolution leucémique.....	5
I.1.4. Etiologie	
I.1.4.1. Chimiothérapie/Radiothérapie et SMD.....	6
I.1.4.2. Exposition aux toxiques.....	6
I.1.4.3. Maladies génétiques.....	7
I.1.5. Rappel de l'hématopoïèse .....	7
I.1.6. PHYSIOPATHOLOGIE	
I.1.6.1. Anomalies du microenvironnement médullaire .....	8

I.1.6.2. Modifications épigénétiques .....	9
I.1.6.3. Anomalies génétiques .....	10
I.1.6.4. Anomalies chromosomiques.....	11
I.1.6.5. Angiogenèse.....	11
I.1.6.6. Dysfonctionnement immunitaire.....	12
I.1.6.7. Anomalies d'apoptose et de différenciation.....	12
I.1.6.8. Effet du stress oxydatif sur l'érythropoïèse dans les SMD.....	12
I.1.6.9. Polymorphismes et les SMD .....	13
I.1.6.10. Dysmyélopoïèse .....	13
I.1.7. Tableau clinique	
I.1.7.1. Circonstances de découverte .....	13
I.1.7.2. Motifs de consultation .....	13
I.1.7.3. Signes cliniques observés .....	13
I.1.8. Examens biologiques .....	14
I.1.8.1. Anomalies hématologiques .....	14
I.1.8.1.2. Myélogramme .....	15
I.1.8.1.2.1. Anomalies quantitatives.....	15
I.1.8.1.2.2. Anomalies qualitatives .....	15
I.2. Cytogénétiques	
I.2.1. Caryotype médullaire.....	16
I.2.2. Hybridation in situ fluorescente (FISH).....	16

I.3. Classifications des syndromes myélodysplasiques	
I.3.1. Classification morphologique.....	18
I.3.2. Classification cytogénétique .....	20
I.3.2.1. Classifications pronostiques .....	20
I.3.3. Incorporation des données moléculaires dans les modèles pronostiques.....	21
I.4. Traitement.....	22

## ***Chapitre II : Matériel et méthodes***

### II.1. Matériel

II.1.1. Matériel biologique.....	23
II.1.2. Matériel non biologique.....	23

### II.2. Méthodes

II.2.1. Prélèvement médullaire .....	24
II.2.2. Cultures cellulaires.....	24
II.2.3. Caryotype.....	25
II.2.4. Hybridation in situ fluorescente.....	25

## ***Chapitre III : Résultats et discussion***

### III.1. Données épidémiologiques

III.1.1. Répartition des patients selon l'âge et l'incidence .....	28
III.1.2. Répartition des patients selon le sexe .....	29

### III.2. Données cliniques

III.2.1. Antécédents familiaux malins .....	30
---	----

III .2.2 . Comorbidités.....	31
III .2.3. Circonstances de découverte .....	31
III .3. Données biologiques	
III .3.1. L'hémogramme .....	33
III. 3.2. Données cytologiques	
III .3.2.1. Frottis sanguin .....	35
III .3.2.2. Myélogramme .....	36
III .4. Données cytogénétiques	
III .4.1. Caryotype .....	38
III .4.2. FISH .....	43
III .4.3. Anomalies cytogénétiques couplées par caryotype et FISH .....	46
III .5. Classification des syndromes myélodysplasiques	
III .5.1. Classifications morphologiques .....	46
III .5.2. Classifications cytogénétiques .....	49
III .5.3. Classifications pronostiques .....	50
III .6. Prise en charge thérapeutique .....	54
III .6 .1 .Devenir des patients .....	55
Conclusion et perspectives.....	58
Références.....	61
Annexes	

# *INTRODUCTION*

# INTRODUCTION

Les syndromes myélodysplasiques (SMD) englobent toute une gamme d'affections hématologiques malignes et hétérogènes qui se caractérisent par une différenciation et maturation anormale des cellules hématopoïétiques. Ceci se traduit par un excès de cellules immatures (blastés), une hématopoïèse inefficace et dysplasique conduisant à une ou plusieurs cytopénies périphériques associées à des signes de dysmyélopoeie des éléments figurés du sang et de la moelle au niveau des différentes lignées (granuleuses, érythrocytaires et plaquettaires) (**Loken et al ., 2008**).

Le diagnostic des SMD est relativement difficile, il nécessite du temps et plusieurs analyses qualitatives et quantitatives du sang et de la moelle. Ce dernier, met en évidence des signes de dysplasie d'une ou de plusieurs lignées (**Krause et al ., 2013**).

L'identification des groupes des SMD ayant en commun des caractéristiques cliniques, biologiques et pronostiques était à l'origine des classifications successives qui reposent essentiellement sur : le caractère primitif ou secondaire de ces syndromes, la cytologie sanguine, médullaire et la cytogénétique. De ce fait , les syndromes myélodysplasiques possèdent plusieurs entités morphologiques selon la classification dite : « **FAB** » (French American-British).

Cependant, cette classification est remise en cause grâce aux progrès des explorations cytogénétiques, bases de la nouvelle classification « **OMS** » (Organisation Mondiale de la Santé) (**Andrieua et Béneta ., 2009**).

De nombreux facteurs pronostiques ont été décrits afin de préciser le risque grâce à la création de nouveaux index pronostiques (score pronostiques IPSS pour International Pronostic Scoring System, IPSS révisé et score WPSS pour Who-classification-based Prognostic Scoring System) dans la perspective d'un choix thérapeutique (**Bouchane ., 2014**).

Seule l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques est à ce jour potentiellement curative dans les SMD. Elle implique toutefois l'existence d'un donneur, un âge généralement inférieur à **70 ans**, l'absence de comorbidités majeures et un SMD de risque suffisamment élevé pour que le bénéfice ne soit pas contrebalancé par la toxicité.

Le traitement symptomatique quant à lui est basé principalement sur la transfusion et l'utilisation des facteurs de croissances, le traitement rapide des infections par une antibiothérapie à large spectre, reste fondamental dans la plupart des SMD (**Fenaux et Ades ., 2009**).

**Dans cette étude, nous exposerons :**

- Les syndromes myélodysplasiques chez l'adulte.
- Mise en évidence de l'intérêt des différentes classifications dans le diagnostic des entités hétérogènes des SMD.
- L'intérêt de la cytogénétique dans la stratification pronostique à travers une étude rétrospective des cas index effectuée au sein du laboratoire de recherche de cytogénétique conventionnelle et moléculaire du service d'hématologie de ***l'EHS ELCC de Blida.***

Chapitre I :  
Rappels bibliographiques

## I.1. syndromes myélodysplasiques

### I.1.1 Historique

Le terme syndrome myélodysplasique, ou SMD, est utilisé depuis la fin des années 1970 pour désigner un groupe de maladies du sang et de la moelle osseuse dont le degré de gravité, les besoins en matière de traitement et l'espérance de vie qui y sont associés varient. La description clinique des SMD a connu une évolution au cours de ces dernières années :

- La première description clinique des SMD date de 1900, avec la description par Von Leube d'un cas d'anémie évoluant vers une leucémie aiguë.
- Dans les années 1920-1930, est identifié le rôle clef de la nutrition dans la genèse de certaines anémies. En 1926, Di Guglielmo décrit le syndrome de Di Guglielmo qui contient des cas d'érythroleucémie avec état pré-leucémique (**Steenman , 2012**).
- En 1938, Rhoads et Barker introduisent le concept d'anémie réfractaire (**Rhoads et Barker, 1938**). Par la suite, de nombreuses descriptions d'anémie réfractaire ont été publiées, avec ou sans sidéroblastes ou avec excès de blastes (**Saarni et al ., 1973**).
- En 1949, Hamilton et Paterson suggèrent qu'un même facteur est responsable à la fois des cytopénies réfractaires et du développement d'une LAM. La notion de stade pré-leucémique est alors née (**Steensma , 2012**).
- En 1956, Bjorkman décrit la présence de sidéroblastes dans la moelle osseuse des patients atteints d'anémie réfractaire (**Bjorkman , 1956**).
- En 1965, Dameshek émet l'hypothèse qu'une anémie réfractaire avec présence de sidéroblastes est un état néoplasique qui peut entraîner la survenue d'une LAM (**Dameshek , 1965**).
- En 1973, Saarni et Linman, ont identifié des anomalies morphologiques récurrentes des cellules hématologiques associées à l'état pré-leucémique (**Saarni et al ., 1973**).
- En 1982, la French-American- British Coopérative group (F.A.B) remplace la notion de stade pré-leucémique par la notion de syndromes myélodysplasiques (SMD).

### I.1.2. Définition

Les syndromes myélodysplasiques (SMD) sont un groupe d'affections clonales de la cellule souche pluripotente ou myéloïde qui acquière des anomalies génétiques ce qui entraîne l'expansion d'un clone pathologique (**Nilsson et al ., 2000**). Ils sont caractérisés par une hématopoïèse inefficace avec des anomalies de maturation et une apoptose excessive responsable de cytopénies périphériques et de dysplasies des précurseurs médullaires. L'évolution des SMD est variable d'un sujet à un autre. En effet, environ **30 %** d'entre eux évoluent en leucémie aiguë myéloïde (LAM) (**Layton et Mufti , 1986**).

La grande majorité des SMD sont des pathologies idiopathiques acquises de novo. Seuls **10 à 20%** d'entre eux sont secondaires à l'exposition à des chimiothérapies de type agents alkylants ou analogues de la purine, à des radiations ionisantes et/ou à des toxiques environnementaux comme le tabac ou le benzène (Neukirchen et al., 2011).

### I.1.3. Epidémiologie

#### I.1.3.1 . Incidence

L'incidence annuelle est de **3 cas** pour **100 000** habitants voire **20** pour **100 000** habitants pour la tranche d'âge des plus de **70 ans** (Germing, 2004). Parmi les hémopathies myéloïdes, ces affections occupent la **3ème** position après les leucémies aiguës et les syndromes myéloprolifératifs avec une incidence de **1,24/100 000** habitants/an (Sant et al., 2010).

En Algérie, le taux d'incidence semble plus faible qu'en Europe, d'après l'étude coopérative et multicentrique réalisée sur une période de 11 ans, Celle-ci est de **0,07 /100 000** habitants/an (Bekadja et al., 2015).

#### I.1.3.2. Age moyen au diagnostic

Les SMD touchent essentiellement les adultes au-delà de **50 ans**, avec un âge moyen entre **60 et 70 ans** (Fenaux et Chomienne, 1997 ; Linma, 1997 ; Beran, 1998 ; Wijermans, 2000).

En Algérie, le diagnostic des SMD se fait à un âge moyen entre **61 à 63ans** (Bekadja et al., 2015 ; Bouchakor, 2017).

#### I.1.3.3. Sexe

Les SMD sont deux fois plus fréquents chez les hommes avec un sex-ratio de **1,8** (Rollinson et al., 2008). Cependant, selon une étude rétrospective Algérienne, réalisée entre **2011 et 2013** sur un nombre total de **387** patients, les SMD semblent être plus fréquents chez les femmes que chez les hommes. En effet, **54,4%** des femmes sont atteintes de syndromes myélodysplasiques contre **45,6%** pour les hommes (Bekadja et al., 2015).

#### I.1.3.4. Durée entre les premiers symptômes et le diagnostic

Le temps entre les premiers symptômes et le diagnostic est d'environ quelques mois (**Abruzzese et al ., 1996 ; Hagiwara , 1998**). Les premiers symptômes sont souvent peu importants, peu inquiétants, et passent presque inaperçus, raison pour laquelle le diagnostic des **SMD** est peu précoce. Ce n'est qu'après l'aggravation brutale de l'état que les patients consultent.

Dans les rapports des cas cliniques effectués en Algérie, le temps entre les premiers symptômes et le diagnostic varie de **1 à 8 mois (Bekadja et al ., 2015)**.

#### I.1.3.5. Temps de survie après le diagnostic

Le temps de survie moyen semble plus ou moins variable en fonction du type de SMD. Il varie de **5 à 50 mois**, avec une moyenne entre **1 et 2 ans (Linman et Bagby , 1978)**.

Les principales causes de décès sont les infections et les hémorragies (**50 à 60%**), de même que la transformation en leucémie aiguë (**20 à 30%**) (**Heikoet al ., 2013**). Il existe des cas extrêmes ayant survécu pendant **10 à 15 ans (Linman et Bagby , 1978)**.

Pour les syndromes myélodysplasiques classés en **AREB** (Anémie Réfractaire avec Excès de Blastes), le temps de survie moyen apparaît plus court de **11 à 17,5 mois**.

#### I.1.3.6. Evolution leucémique

La proportion de SMD qui évolue vers une leucémie aiguë myéloïde (LAM) est en moyenne de **30%**. La transformation leucémique se manifeste par une aggravation rapide de l'insuffisance médullaire (surtout la thrombopénie) et/ou l'apparition d'un syndrome tumoral (splénomégalie, douleurs osseuses) (**Abruzzese , 1996**).

#### I.1.4. Etiologie

Un SMD est dit primaire ou de novo quand son étiologie est inconnue, et secondaire lorsqu'une cause est identifiée. Les formes primitives représentent **80 à 90%** des cas de SMD (**Vallespi et al ., 1998**).

#### I.1.4.1. Chimiothérapie/radiothérapie et SMD

L'utilisation de molécules de chimiothérapie peut être à l'origine de SMD secondaire. Ces derniers ont été observés à la suite de traitements contre la maladie d'Hodgkin, les lymphomes non Hodgkinien, les myélomes multiples et à la suite de traitements contre le cancer du sein, des testicules ou des ovaires. Les molécules les plus souvent en cause sont les agents alkylants et les inhibiteurs de topoisomérases II (**Strom et al ., 2008**).

Les syndromes myélodysplasiques secondaires à un agent alkylant surviennent entre **5** et **7** ans après le traitement et impliquent fréquemment des anomalies des chromosomes **5** ou **7**.

La période de latence pour les SMD secondaires aux inhibiteurs de **topoisomérase II** est plus longue (approximativement **2** ans) (**Strom et al ., 2008**).

Le risque de SMD secondaire augmente avec l'augmentation de la durée du traitement et des doses administrées au patient (**Levine et Bloomfied , 1992 ;Strom et al ., 2008**).

La radiothérapie seule semble constituer un très faible risque d'apparition de SMD secondaires (**Levine et Bloomfied , 1992**).

#### I.1.4.2. Exposition aux toxiques

Le benzène et ses dérivés sont des facteurs de risque de SMD (**Aul et al .,1995**). Ces SMD surviennent de **9** à **10** ans en moyenne après l'exposition , cependant la durée d'exposition avant l'apparition d'un SMD peut varier entre **4** mois et **25** ans . Le risque leucémique apparaît pour des concentrations minimales de benzène (**10 ppm** ) (**Levine et Bloomfied , 1992**).

D'autres toxiques d'origine professionnelle jouent un rôle dans l'apparition des SMD . C'est le cas des hydrocarbures industriels, des herbicides et des pesticides utilisés en agriculture (**Nisse et al, 1995 ;Strom et al ., 2005**). Plusieurs études ont démontré que les SMD étaient plus fréquents chez les fumeurs, probablement en rapport avec l'exposition aux hydrocarbures aromatiques contenus dans la fumée du tabac. Par ailleurs , il semblerait que les SMD favorisés par le tabac (**Nisse , 1995**) soient plus mauvais pronostic s'ils sont associés à d'autres facteurs de risque (**Bjork , 2000 ;Strom et al ., 2005**).

### I.1.4.3. Les maladies génétiques

Certaines maladies génétiques constitutionnelles favorisent l'apparition de SMD de l'enfant. Parmi elles, on décrit : les trisomies constitutionnelles **8** et **21**, la maladie de Fanconi, la neurofibromatose de **type 1**, certains syndromes poly malformatifs (Shwachman , Noonan...) et les cytopathies mitochondriales.

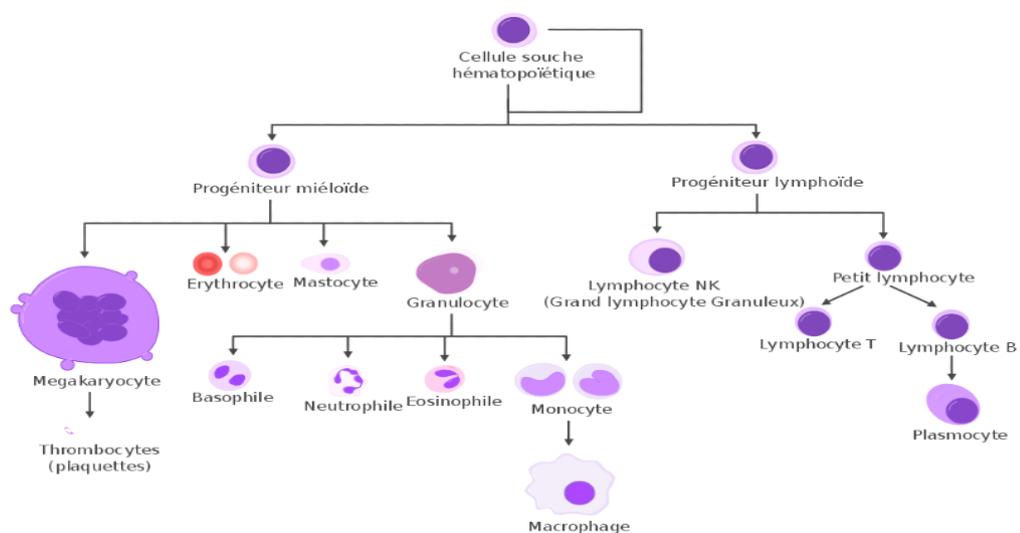
En outre, d'autres formes familiales de SMD ont été décrites. Les SMD associés à ces pathologies comprennent souvent des anomalies chromosomiques de type monosomie **7** (**Bjork et al ., 2000 ;Corey et al ., 2007**).

### I.1.5. Rappel de l'hématopoïèse

L'hématopoïèse est un processus physiologique de différenciation cellulaire, conduisant à la production des différents éléments matures du sang circulants, indispensables à la vie (**Lazarus et Schmaier , 2018**).

Il existe dans la moelle osseuse des cellules souches hématopoïétiques totipotentes non déterminées, appelées CFU-blastes (Colony Forming Unit) qui ont la capacité de se répliquer et de produire des cellules filles plus différenciées (**Chao , 2008**).

Les CSH génèrent les multiples lignées hématopoïétiques à travers une série successive de progéniteurs intermédiaires. Il s'agit notamment des progéniteurs lymphoïdes communs (CLP), qui ne peuvent générer que des cellules B, T et NK (**Akashi et al ., 2000**) et progéniteurs myéloïdes communs (CMP), qui ne peuvent générer que l'érythrocytes , les mégacaryocytes, les granulocytes et les mastocytes (**Figure 1**)(**Cortes et Labastie , 2000**).



**Figure 1** : Schéma de la hiérarchie des progéniteurs hématopoïétiques Rad et Häggström .,(2009)

Le but de l'hématopoïèse est d'aboutir à la production de cellules hautement spécialisées, aux fonctions diverses, afin de garantir les fonctions de respiration cellulaire par les globules rouges, de coagulation par les plaquettes et d'immunité par les leucocytes (**Cortes et Labastie , 2000**).

Pour chaque lignée, il existe trois compartiments correspondant à des stades d'évolution différents, du moins évolués au plus évolués (**Tableau I**)(**Annexe 1**) (**Sloand et Rezvani , 2008**).

### I.1.6. PHYSIOPATHOLOGIE

Les SMD résultent d'anomalies moléculaires touchant un clone de **CSH** provoquant plusieurs évènements :

#### I.1.6.1. Anomalies du microenvironnement médullaire

Au cours de ces dernières années, il y a de plus en plus de preuves concernant l'implication du microenvironnement cellulaire dans le processus pathogène, tant par la composante sécrétoire que par l'interaction directe avec la CSH. Ainsi, dans une étude antérieure, (**Boudard et al ., 2003**) ont signalé des anomalies de croissance des cellules stromales isolées chez des patients atteints de **SMD**, entraînant une faible confluence, associée dans certains cas à l'activation de la caspase-3 et à une augmentation de l'angiogenèse (**Boudard , 2003**) .

(**Raza et al ., 1995**) ont retrouvé un excès d'apoptose des cellules hématopoïétiques sur des biopsies médullaires de sujets SMD par rapport à des sujets sains, expliquant ainsi l'hyper-cellularité médullaire contrastant avec les cytopénies périphériques.

De leur côté, (**Raaijmakers et al ., 2010**) ont montré qu'il était possible d'induire un véritable syndrome myélodysplasique avec évolution vers une LAM en réalisant une délétion du gène Dicer1 dans des progéniteurs ostéoblastiques murins.

Par la suite, (**Pavlaki et al ., 2014**) ont trouvé que les cellules stromales mésenchymateuses de patients atteints de SMD portent des anomalies cytogénétiques différentes de celles retrouvées dans les cellules souches hématopoïétiques.

Enfin, l'équipe de (**Kode et al ., 2014**) a pu confirmer le rôle prépondérant du microenvironnement dans la genèse d'hémopathies myéloïdes en montrant qu'il était possible de générer une leucémie aiguë par l'induction d'une mutation activatrice de la voie  $\beta$ -caténine dans des progéniteurs ostéoblastiques murins. Cette activation de la voie  $\beta$ -caténine était retrouvée dans **38%** des ostéoblastes des patients SMD/LAM.

### I.1.6.2. Modifications épigénétiques

#### I.1.6.2.1.miARN

Plusieurs études récentes ont révélé une expression aberrante de miARN chez des patients atteints de SMD en utilisant des techniques de micro-array : (**Sokol et al ., 2011**) ont examiné le niveau global d'expression des **miARN** à partir de cellules mononuclées chez des patients atteints de SMD et ont pu observer des niveaux élevés de miR-222, miR10 a et de faibles niveaux de miR-146 a, miR-150 et Let-7e (**Vasilatou et al .,2012**) ont évalué les profils d'expression de let-7a, miR-17-5p et miR-20a dans des cellules CD34+ provenant de la moelle osseuse des patients atteints SMD et ont trouvé que ces miARN étaient surexprimés dans les SMD à faible risque, mais sous-exprimés chez les patients SMD à haut risque (**Thol et al ., 2015**), ont analysé les mutations du miR-142 et des miR associés (miR-632 et miR-891), et ont pu constater que le miR-142 est muté de façon récurrente mais peu fréquente dans les SMD de novo.

Les mutations dans miR-632 et miR-891 sont encore plus rares. Cependant, Il y a de plus en plus de preuves que des miARN sont exprimés de manière aberrante chez les patients atteints de SMD et sont soit des onco-miR ou des miR suppresseurs de tumeur. Leur implication dans le développement des SMD sont en cours d'investigation.

(**Solly et al ., 2017**) ont comparé l'expression de 754 miARN dans des cellules provenant de patients atteints de syndromes myélodysplasiques à haut risque résistants ou sensibles à l'azacitidine. Ils ont constaté que les patients porteurs d'un taux faible de miR-126 présentaient des taux de réponse significativement plus faibles et des taux de rechute plus élevés ainsi qu'une survie plus courte sans progression après traitement par azacitidine.

### I.1.6.2.2. Méthylation de l'ADN

La méthylation permet la régulation de la transcription, ce mécanisme permet d'inhiber la transcription de certains gènes ou parties du génome (**Jiang , 2009**). Toutefois, la méthylation anormale de certains promoteurs peut induire un processus tumoral.

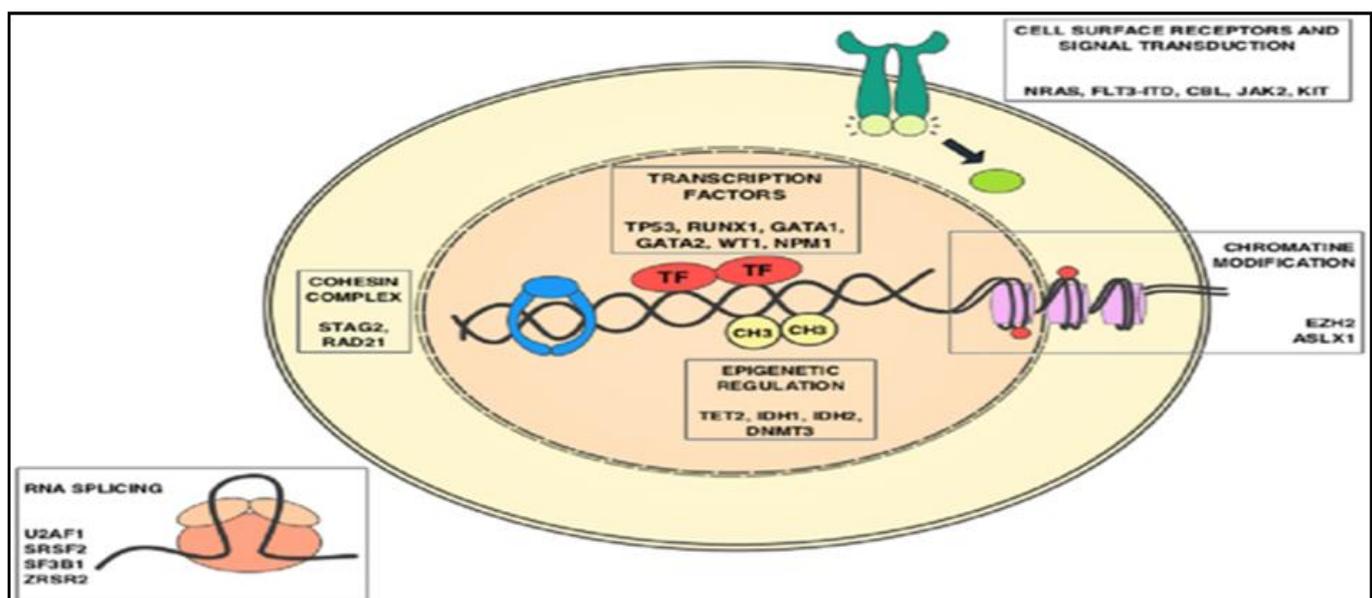
Dans le cas des syndromes myélodysplasiques, la méthylation de plusieurs promoteurs de gènes a été étudiée. L'inhibition de la transcription du gène p15INK4b est souvent citée (**Baylin , 2005 ;Tormo , 2010**). Ce gène code pour une protéine régulant le cycle cellulaire en inhibant les CDK (cyclin-dépendent kinase) **4** et **6**. Il a été montré que les patients avec une hyper méthylation du p15INK4b ont une durée de survie plus courte que les patients ayant une méthylation normale.

### I.1.6.3. Anomalies génétiques

Les SMD sont caractérisés par des anomalies moléculaires impliquées dans la signalisation cellulaire et la régulation de l'expression génétique (**Shih et Levine , 2011**).

Des mutations somatiques identifiées chez **90%** des patients sont devenues des éléments à part entière de la pathogenèse des SMD.

Les gènes impliqués codent généralement diverses protéines qui jouent un rôle dans diverses voies cellulaires telles que l'épissage d'ARN (SF3B1, SRSF2, U2AF et ZRSR2), la méthylation de l'ADN (DNMT3A, TET2, IDH1 et IDH2), le complexe de cohésion (STAG2), la régulation transcriptionnelle (TP53, RUNX1 et GATA2), modification de la chromatine (ASXL1 et EZH2) et transduction du signal (JAK2, KRAS, NRAS et CBL), (**Figure 2**) (**Cazzola et al ., 2013 ;Papaemmanuil et al ., 2013**).



**Figure 2:** Voies cellulaires et les gènes les plus fréquemment impliqués dans la pathogenèse des syndromes myélodysplasiques Sanz-De pedro et al., (2018).

Selon la fréquence, les mutations les plus courantes dans les SMD signalées à ce jour sont celles du SF3B1 et du TET2. Le gène suppresseur de tumeur TP53 est muté plus fréquemment dans les SMD secondaires. Il confère un mauvais pronostic à la maladie (Shih et Levine ,2011 ; Bally et al ., 2014). Ces mutations ne sont pas spécifiques des SMD et peuvent se rencontrer dans d'autres néoplasies myéloïdes.

#### I.1.6.4. Anomalies chromosomiques

L'analyse cytogénétique permet d'identifier des anomalies caryotypiques dans **40 à 50 %** des SMD. Les anomalies caryotypiques des SMD sont plutôt des gains ou des pertes de matériel génétique (Adès et al ., 2014).

Les délétions sont les anomalies les plus courantes notamment celles survenant sur le chromosome 5 qui sont des délétions interstitielles du bras long [**del(5) (q) ou 5q-**], ainsi des **monosomies 5q** partielles résultants de translocations déséquilibrées (Sophie , 2009). De plus, les **délétions 7q**, c'est l'anomalie la plus fréquente après la **délétion 5q**, avec un risque élevé de transformation leucémique et une survie médiane globalement diminuée.

Des translocations, gain ou perte de chromosomes décrits, notamment la **monosomie 7** qui se localise dans les différents composants cellulaires des lignées myéloïdes et lymphoïdes B, et la trisomie 8 sont fréquemment trouvées (Tefferi et Vardiman , 2009).

D'autres anomalies telles que la perte du **chromosome Y**, la **délétion 20q**, l'**iso chromosome 17q** et la **délétion 17p** semblent plus fréquentes à des stades plus avancés de la maladie. Par ailleurs, un **caryotype complexe** ( $\geq 3$  anomalie) est retrouvé chez **10 à 20%** des patients (Tormo et al ., 2010).

#### I.1.6.5. Angiogenèse

Des études récentes ont mis en évidence l'hypermévascularisation de la moelle osseuse au cours des SMD (angiogenèse accrue). En effet , une hypothèse suggère que l'augmentation compensatrice des facteurs pro-angiogéniques en réponse à la perte de la moelle osseuse observée au cours du vieillissement, conduit à une prédisposition aux maladies néoplasiques comme les SMD.

L'hématopoïèse semble être particulièrement vulnérable aux effets des facteurs angiogéniques, car la plupart de ces facteurs semblent être sécrétée par les cellules hématopoïétiques. L'utilisation des inhibiteurs de l'angiogenèse tel que les anti-VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) comme traitement des SMD, peut améliorer la prise en charge thérapeutique de ces syndromes (Pfeilstöcker et al ., 2007).

#### I.1.6.6. Le Dysfonctionnement immunitaire

Un dysfonctionnement du système immunitaire semble également jouer un rôle dans la physiopathologie des SMD. Une perturbation de la réponse immunitaire est présente chez les patients atteints de SMD. Certaines études ont montré une expansion polyclonale des lymphocytes T helpers (CD4+) et une expansion oligoclonale des lymphocyte T cytotoxique (CD8+) dans le sang et la moelle osseuse des patients atteints (**Sloand et Rezvani , 2008**). L'action des cellules T conduit à une suppression des progéniteurs érythroïdes (CFU-E) et des progéniteurs granulocytaires (CFU-GM) contribuant ainsi à l'inefficacité de l'hématopoïèse (**Sloand et Rezvani , 2008**). L'efficacité de certains traitements immunosuppresseurs dans les SMD conforte cette théorie.

Enfin pour les stades plus avancés de la maladie, une augmentation des cellules T reg affaiblit l'activité anti-tumorale du système immunitaire et favorise probablement la progression de la pathologie (**Tormo et al ., 2010**).

#### I.1.6.7. Anomalies d'apoptose et de différenciation

L'hématopoïèse inefficace des SMD est en partie due à une apoptose accrue des précurseurs de la moelle (**Raza et al ., 1995**). Cette apoptose est dépendante de Fas et de l'interaction avec son ligand, les deux molécules étant surexprimées respectivement dans les progéniteurs immatures et matures, Il est probable qu'il ya une relation entre l'activation excessive des caspases et les anomalies de différenciation observées dans les SMD, aussi bien dans la lignée érythroïde que dans la lignée mégacaryocytaire. Dans les SMD, la surexpression de Fas et l'activation excessive des caspases est corrélée à un défaut de croissance des progéniteurs érythroïdes engagés de type BFU-E (pour burstforming unit-erythroid) avec un défaut d'acquisition des marqueurs érythroïdes (glycophorine A,  $\beta$  et  $\gamma$ -globines) (**Claessens et Fontenay-Roupie , 2002**).

#### I.1.6.8. Effet du stress oxydatif sur l'érythropoïèse dans les SMD

Les syndromes myélodysplasiques correspondent à une situation pathologique où l'excès de fer est fréquent du fait de la dysérythropoïèse et de l'apport massif exogène résultant du support transfusionnel des patients (**Chung et al ., 2014**).

(**Kikuchi et al ., 2012**) ont analysé de façon prospective les niveaux de 8-hydroxy-2'-désoxyguanosine (8-OHdG) dans les cellules mononuclées de sang périphérique (PBMC) de patients SMD avant et après l'administration de déférasirox (DFX). Ils ont montré que les taux de 8-OHdG dans les PBMC des patients SMD diminuent significativement après administration du DFX, suggérant que la chélation du fer, réduit les dommages oxydatifs de l'ADN. Ainsi, l'excès de fer

pourrait contribuer à la physiopathologie du SMD et la chélation du fer pourrait améliorer les dommages oxydatifs de l'ADN chez les patients SMD.

#### I.1.6.9. Polymorphismes et les SMD

Très peu d'études concernant les polymorphismes ont été réalisées pour les syndromes myélodysplasiques en raison de la faible utilisation de la chimiothérapie dans son traitement. Or, la recherche d'une prédisposition aux SMD/LA et plus particulièrement aux SMD/LA secondaires aux chimiothérapies et/ou radiothérapie est d'un intérêt grandissant ces dernières années. Comprendre les facteurs de susceptibilité individuelle permettrait d'identifier les patients à risque de SMD secondaire et d'adapter la chimiothérapie du cancer primaire en conséquence, mais également de mieux expliquer les différents processus moléculaires de la leucémogénèse (**Imyanitov et al ., 2004**).

#### I.1.6.10. Dysmyélopoïèse

La dysmyélopoïèse se manifeste par des anomalies cytologiques qualitatives d'une ou plusieurs lignées myéloïdes, érythroïdes, granuleuses et mégacaryocytaires, définissant respectivement la dysérythropoïèse, la dysgranulopoïèse et la dysmégacaryopoïèse. C'est un critère essentiel du diagnostic des syndromes myélodysplasiques mais elle peut s'observer dans d'autres pathologies ainsi que diverses situations cliniques (**Michèle , 2009**).

### I.1.7. Tableau clinique

#### I.1.7.1. Circonstances de découverte :

Les SMD sont généralement découverts à l'occasion d'un hémogramme systématique, parfois indiqué devant des symptômes non spécifiques liés à l'anémie : asthénie et altération de l'état général. L'interrogatoire et l'examen clinique, évaluent le retentissement des cytopénies.

#### I.1.7.2. Motifs de consultation

Les patients consultent majoritairement pour l'asthénie (fatigue générale, dyspnée d'effort, oubli chronique et dépression) et des signes secondaires d'anémie et moins fréquemment pour des incidents hémorragiques ou infectieux (**Vallespi et al ., 1998**).

#### I.1.7.3. Signes cliniques observés

Il n'existe pas de symptômes caractéristiques et diagnostiques d'un SMD et les signes cliniques observés restent toujours très généraux et souvent peu intenses. Les symptômes retrouvés presque systématiquement sont :

- Le syndrome anémique.
- Décompensation cardiaque.
- Infarctus du myocarde (**Vallespi et al ., 1998**).
- Le syndrome infectieux qui est dû au Bacilles Gram négatif ou à des Cocci Gram positif. Elles sont généralement graves et se compliquent plus fréquemment de choc septique (**Vallespi et al ., 1998**).

#### I.1.8. Examens biologiques

L'examen clinique ne permet jamais de faire le diagnostic des syndromes myélodysplasiques. C'est la confirmation de la cytopénie et la recherche de son origine par la réalisation d'un frottis sanguin et médullaire qui vont mettre le praticien sur la voie. Les analyses de laboratoires reposent sur l'examen attentif des frottis dont la qualité de coloration par la méthode de **May-Grünwald , Giemsa** doit être optimale. De nombreuses anomalies qualitatives pouvant passer inaperçues si les colorations sont médiocres (**Bouchane , 2014**).

##### I.1.8.1. Anomalies hématologiques

###### I.1.8.1.1. Hémogramme

Une numération-formule sanguine NFS ainsi qu'un frottis sanguin sont indispensables, ce sont les premiers examens à réaliser dans le cas d'une suspicion de syndromes myélodysplasiques. Les SMD sont caractérisés par des anomalies qualitatives ou quantitatives des trois lignées d'importance et de gravité variable (**Bouchane , 2014**).

A)-Anomalies de la numération-formule sanguine :

En début d'évolution d'un syndrome myélodysplasique, une série de NFS faites à intervalles réguliers, montrerait des cytopénies fluctuantes d'un examen à l'autre. Ces cytopénies s'installent progressivement et définitivement avec l'évolution de la maladie (**Bouchane , 2014**).

## B)- Anomalies du frottis sanguin

L'examen du frottis de sang peut permettre d'emblée d'évoquer le diagnostic. L'observation des anomalies qualitatives requiert la confection d'un frottis (**Annexe 2**) et une coloration de type MGG de bonne qualité (**Figures 1, 2 et 3**) (**Annexe 2**) (**Imbert et El Khoury , 2006**).

### I.1.8.1.2. Myélogramme

Le myélogramme par aspiration médullaire permet d'évaluer la richesse médullaire, le pourcentage de blastes avec sidéroblastes en couronne et d'apprécier les dysplasies (au moins **10 %** de dysplasie dans chaque lignée pour affirmer un SMD). Il s'intéresse aux nombres de chaque type cellulaire sur **100** ou **200** cellules et à la morphologie de la moelle et des cellules médullaires (**Cason et al ., 1995**).

#### a)- Anomalies quantitatives

##### a<sub>1</sub>)- Cellularité

L'appréciation de la cellularité du prélèvement de la moelle osseuse est la première étape. En effet, dans les syndromes myélodysplasiques, elle est classiquement hyper cellulaire par rapport à une moelle normale (**Solé et al ., 2000**) .

##### a<sub>2</sub>)- Mégacaryocytes

La quantité de mégacaryocytes présente dans une moelle dysplasique peut être normale ou diminuée, comparativement à une moelle saine (**West et al ., 1995**).

##### a<sub>3</sub>)- Pourcentage de blastes médullaires

Élément fondamental dans la classification des SMD, le pourcentage de blastes médullaires, déterminera les SMD : Sans excès < **5%**, avec excès de blaste de **type I (5 à 10%)**, avec excès de blastes de **type II (10 à 20 %)**, l'excès de blastes supérieur à **20%** signifie par définition la phase de leucémie aiguë.

#### b)-Anomalies qualitatives

Comme pour l'hémogramme, un ensemble d'anomalies susceptibles d'être rencontrées dans le myélogramme.

##### b<sub>1</sub>)- Signes de dysérythroïèse

Ces anomalies qualitatives comprennent des anomalies du noyau et du cytoplasme, ainsi que la caractérisation de sidéroblastes pathologiques par la coloration de Perls.

- Anomalies nucléaires

Les érythroblastes présentent parfois une grande taille voire un gigantisme ainsi qu'un asynchronisme de maturation nucléo-cytoplasmique. La présence d'un noyau dystrophique aux contours irréguliers, une bi-nucléarité peut être observée et une multi-nucléarité est plus rare.

Un corps de Jolly résidu nucléaire se présente sous la forme d'une inclusion rouge violacée est parfois retrouvé et reflète la dysérythropoïèse (**Cason et al ., 1995**).

## I.2. La cytogénétique

### I.2.1. Caryotype médullaire

Du point de vue cytogénétique, les SMD sont caractérisés par une grande hétérogénéité, les SMD primaires et secondaires se distinguent en outre par le degré de complexité du caryotype établi au moment du diagnostic de la maladie. Le caryotype est anormal dans **30 à 60 %** des SMD primaires mais atteint un chiffre de **90 %** de caryotypes anormaux au cours des SMD chimio-induits.

Les anomalies rencontrées sont multiples : fréquemment des délétions chromosomiques partielles et monosomies, gains de chromosomes et de rares translocations chromosomiques équilibrées (**Beyne-Rauz et al ., 2007**).

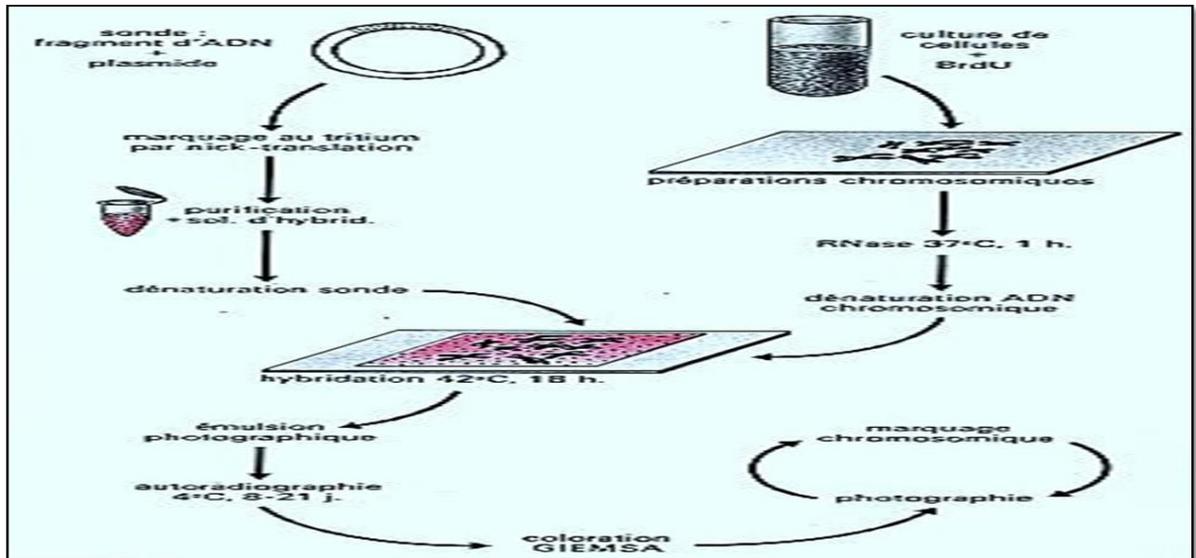
Par ailleurs, l'étude cytogénétique des cellules médullaires est indispensable pour établir le score IPSS des SMD. Le caryotype (cytogénétique conventionnelle) est une technique réalisée à partir d'un prélèvement héparinisé de moelle osseuse et qui permet l'étude des chromosomes d'une cellule au cours de la métaphase de la mitose (**Lafage-Pochitaloff , 2003**). Pour reconnaître spécifiquement chaque paire chromosomique, on utilise des techniques de marquage. Plusieurs critères vont permettre de reconnaître et de classer les chromosomes selon la taille et l'index centromérique (IC) (**Dupont , 2008**). En cas d'échec du caryotype (nombre de mitoses insuffisant), il faut renouveler le prélèvement médullaire et/ ou avoir recours à la **FISH** (Hybridation in situ en fluorescence) (**Fontenay et al ., 2008**).

### I.2.2. Hybridation in situ en fluorescence (FISH)

Cette toute première technique de cytogénétique moléculaire repose sur trois propriétés de l'ADN (**Figure 3**) (**Chevassus-au-louis , 2000**)

- La complémentarité obligatoire des bases azotées,
- Les liaisons hydrogènes faibles : qui assurent la cohésion des deux brins de la double hélice,
- Les liaisons phosphodiester : qui assurent la stabilité de l'enchaînement des nucléotides de chaque brin d'ADN,

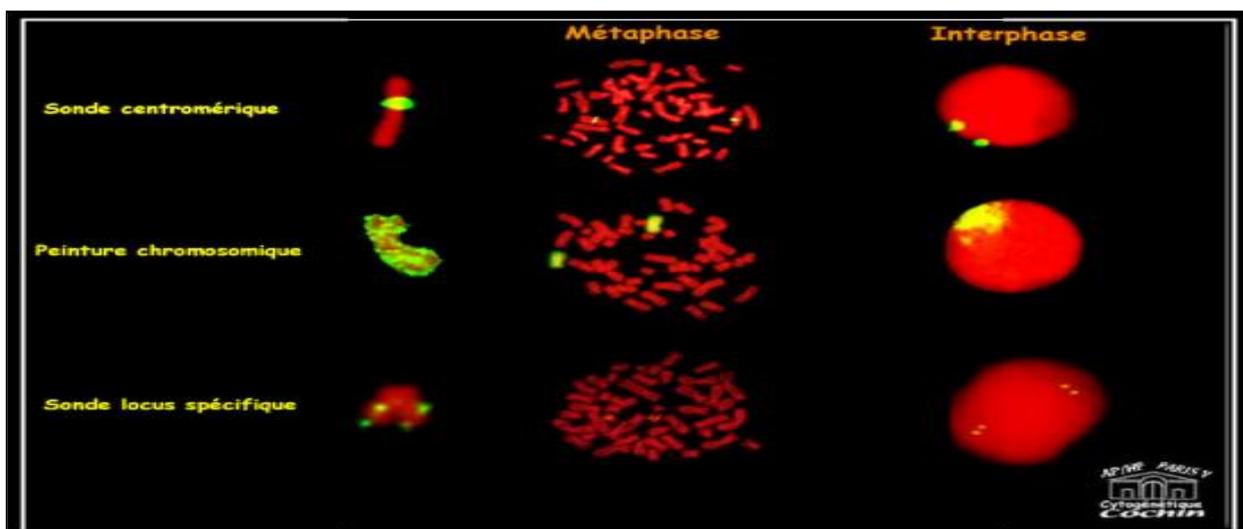
- Les liaisons phosphodiesters : qui assurent la stabilité de l'enchaînement des nucléotides de chaque brin d'ADN.



**Figure 3 :** Principe de l'hybridation in situ en fluorescence (FISH) Mattei., (1986).

Il existe différents types de sondes, (**Figure 4**) leur choix est en fonction de l'objectif à atteindre. Ces sondes de taille variable selon les cas (de 15 Kb à 1 Mb), détectent des régions, des gènes ou des locus uniques du génome. Elles peuvent être subdivisées en :

- Sondes spécifiques de régions qui peuvent détecter des remaniements de la taille d'une bande ; elles sont utilisables uniquement sur métaphase.
- Sondes de locus ou de gènes uniques qui détectent spécifiquement un microremaniement, elles sont utilisables aussi bien sur métaphase que sur noyau inter phase; elles peuvent aussi être utilisées en tant que sondes chromosomes-spécifiques (**Jaffray , 2002**).



**Figure 4 :** Différents types de sondes utilisées en hybridation in situ Desandes., (2016)

### I.2.2.1. Intérêt et limites de la FISH

#### A)- Intérêt de la FISH dans les SMD à caryotypes complexes :

Les caryotypes anormaux complexes présentant plus de deux réarrangements chromosomiques, et ce quelle que soit leur nature, sont des facteurs de mauvais pronostic, tant en termes de risque de transformation en LAM qu'en termes de survie et se voient attribuer le score maximal (score = 1) dans l'IPSS (**Greenberg , 1997**).

L'étude par FISH des chromosomes **5** et **7** a permis d'observer pour certains cas, des délétions pas simples, mais accompagnées de translocations déséquilibrées pouvant être à bras entiers ou de petites insertions. En effet, les chromosomes **5** et **7** peuvent se fragmenter en plusieurs segments et se transloquer sur différents partenaires donnant des « marqueurs » impossibles à identifier sans l'aide de la FISH (**Lessard , 2007**).

#### B)- Les limites de la FISH

La limitation de cette technique est une conséquence directe de sa spécificité. :

- L'hybridation in situ ne permet d'obtenir une information que sur la région chromosomique correspondant à la sonde utilisée (environ 100 kb)
- Technique potentiellement coûteuse (sondes commerciales)
- En cas d'insertion chromosomique, elles ne permettent pas de déterminer la région chromosomique impliquée (**Lafage-Pochitaloff , 1995 ; Avet-Loiseau , 2000** ).

## I.3. Classifications des syndromes myélodysplasiques

### I.3.1. Classification morphologique

Le système initial FAB (franco-américain-britannique) proposait la définition des sous-groupes SMD en utilisant la morphologie cellulaire. Par la suite, **Bennett et al.** ont affiné le système, en **1982**, en introduisant deux paramètres supplémentaires, à savoir le nombre réel de monocytes dans PB et la présence de bâtonnets d'Auer dans les blastes (**Warlick et Smith , 2007**).

Pour améliorer l'utilité pronostique, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a publié en **2001** un nouveau système de classification standard, qui tenait compte des résultats de la cytogénétique (**Jaffe et al ., 2001**). Entre **2008 et 2016** la classification de l'OMS a subi une révision majeure.

### I.3.1.1. Classification Franco-Américano-Britannique (FAB)

Elle s'appuie sur des critères morphologiques, comme la présence de signes de dysplasie, de sidéroblastes en couronne, le nombre de blastes circulants et médullaires et celui des monocytes circulants (**Bennett et al ., 1982**). Elle individualisait 5 sous-types de syndromes myélodysplasiques présentés dans le (**Tableau II**)(**Annexe 1**), différents par leurs médianes de survie et leurs taux de transformation en leucémie aiguë. Bien qu'elle soit largement utilisée, l'intérêt de cette classification est limité par la diversité clinique et biologique qui persiste au sein de ses sous-types.

### I.3.1.2 Classification de l'Organisation mondiale de la santé (OMS 2001)

En **2001**, l'OMS a proposé une nouvelle classification des pathologies hématologiques en introduisant de nouveaux paramètres, principalement l'analyse cytogénétique pour les syndromes myélodysplasiques (**Tableau III**) (**Annexe 1**) (**Jaffe et al ., 2001**).

Cette classification, a permis une meilleure définition pronostique de chaque sous-type en précisant :

- Le nombre de lignées touchées par la dysplasie myéloïde.
- Le pourcentage de blastes médullaires et sanguins.
- La monocytose sanguine, inférieure à  $1 \times 10^9$  /L.
- Le rôle diagnostique de la cytogénétique, définissant un nouveau sous-type : le syndrome myélodysplasique 5q-.

### I.3.1.3. Classification de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS 2008)

La classification OMS 2008 a permis de définir plus précisément les sous-groupes créés en **2001**. Actuellement, les paramètres suivants interviennent dans la classification :

- La nature de la dysplasie « uni lignée » qui individualise chaque cytopénie réfractaire,
- Le nombre de cytopénies sanguines qui sépare les cytopénies réfractaires « uni lignées » des syndromes myélodysplasiques inclassables,
- Le pourcentage de blastes circulants qui devient discriminant pour identifier les anémies réfractaires avec excès de blastes de type **1**, ou de type **2** ou les syndromes myélodysplasiques inclassables,
- La présence de Corps d'Auer qui fait classer le cas en anémie réfractaire avec excès de blastes de type **2**, indépendamment du pourcentage de blastes sanguins ou médullaires,

Les principales caractéristiques sont résumées dans le (**Tableau IV**) (**Annexe 1**) (**Hallström-Lindberg et Cazzola , 2008**).

#### I.3.1.4. Classification diagnostique (OMS 2016)

En 2016, l'OMS a redéfini cinq critères permettant la classification diagnostique de ces pathologies (**Tableau V**) (**Annexe 1**) (**Arber et al ., 2016**) :

- Le nombre de dysplasies intramédullaires.
- Le nombre de cytopénies périphériques.
- Le pourcentage de blastes intramédullaires et périphériques.
- Le pourcentage de sidéroblastes en couronne intramédullaires.
- Les anomalies du caryotype.

#### I.3.2. Classifications cytogénétiques

Les manifestations cliniques du SMD sont hétérogènes, et vont d'une maladie indolente avec des cytopénies légères et une espérance de vie mesurée en années à une maladie plus agressive avec des cytopénies profondes, une progression fréquente de la LAM et une survie mesurée en mois.

Il est cliniquement essentiel de prévoir avec précision l'issue des patients atteints de SMD . Les recommandations de traitement et les lignes directrices consensuelles sont basées sur la stratification du risque des patients dans les catégories à risque faible et élevé. (**Fenaux et Adès , 2013 ;Greenberg et al ., 2017**).

Plusieurs modèles pronostiques ont été développés parmi lesquels un système de stratification basé sur les risques, appelé le Système international de notation pronostique (IPSS) (**Tableau VI**) (**Annexes1**), puis l'IPSS révisé (IPSS-R) (**Tableau VII**) (**Annexes01**).

##### I.3.2.1. Classifications pronostiques

###### a)- Système international de notation pronostique IPSS

L'IPSS est l'outil le plus largement utilisé pour la stratification des risques et le guide thérapeutique recommandé. Le modèle considère trois mesures : la cytogénétique conventionnelle, le pourcentage de blastes dans la moelle osseuse et la présence de cytopénies (**Greenberg et al ., 1997**). Il permet d'identifier **quatre (04) groupes** pronostiques de patients, et de stratifier le pronostic des patients selon **quatre (04) catégories** (**Tableau VIII**) (**Annexes 1**). La mise en pratique est simple en

raison du nombre de critères d'autant plus qu'ils font partie du bilan initial de routine chez un patient atteint de SMD.

b)- Système international de notation pronostique révisé IPSS-R

L'IPSS-R permet de séparer les patients en **cinq (05)** groupes pronostiques. L'avancée la plus significative dans l'IPSS-R est l'inclusion de nombreuses anomalies cytogénétiques stratifiées en **cinq (05) groupes (Greenberg et al ., 2012)**. Cependant, le score prend en compte les cytopénies de manière indépendante mais aussi la profondeur de celle-ci (**Tableau IX et X (Annexe 1)**).

Au total, le score IPSS-R permet une meilleure stratification du risque sans qu'il ne requière de données supplémentaires par rapport à l'IPSS (**Della porta et Malcovati , 2011**).

c)- WPSS

L'IPSS est initialement basé sur des variables cliniques évaluées au diagnostic et qui ne permet pas d'être appliquées lors de la progression de la maladie. Le WHO classification based prognostic scoring system ou " WPSS" intègre la dépendance transfusionnelle aux anciens critères de l'IPSS. En effet en **2007, Malcovati et al** proposent le WPSS dont les résultats ont été confirmés sur une cohorte de validation de 739 patients, basée sur la classification OMS, les besoins transfusionnels et le caryotype (**Tableau XI (Annexes01)**).

Le désavantage de ce nouvel index vient du caractère subjectif de certains de ses paramètres, comme celui des besoins transfusionnels qui peut varier selon le seuil transfusionnel choisi par le médecin.

Récemment, l'IPSS et le WPSS ont fait l'objet de réévaluation avec davantage de patients et de recul. Une stratégie de traitement des risques adaptée est obligatoire pour les SMD.

L'analyse des paramètres du WPSS a confirmé que la classification de l'OMS et l'anémie sévère donnent une information pronostique importante dans les SMD . Une forte corrélation a été notée entre le WPSS et le risque cytogénétique. De plus, une corrélation hautement significative a été trouvée entre les classifications de risque WPSS et l'IPSS-R (**Bouchakor , 2017**).

### I.3.3. Incorporation de données moléculaires dans les modèles pronostiques actuels

De nombreux travaux ont étudié l'impact pronostic des mutations dans un ou plusieurs gènes. Ces travaux ont suggéré l'impact pronostic favorable des mutations de SF3B1 (**Malcovatiet al ., 2011**) et celui, défavorable des mutations de TP53, EZH2, RUNX1, ASXL1 et ETV6 (**Bejar et al ., 2011**), U2AF1, SRSF2 et ZRSR2 (**Graubert et al ., 2011 ;Damm. et al ., 2012**), BCOR et BCORL1 (**Damm et al ., 2013**).

Récemment des données cliniques et mutationnelles des patients SMD traités, ont été utilisées pour développer le nouveau système pronostic. Les facteurs pronostics significatifs indépendants pour la survie, comprenaient l'âge, IPSS-R, EZH2, SF3B1 et TP53 (**Tableau XII**)(**Annexes 1**) (**Babushok et Bessler , 2015 ;Nazha et al ., 2016**).

#### I.4. Traitement

La prise en charge thérapeutique d'un SMD dépend du risque évolutif, et donc du score pronostique de chaque patient (**Gore et al ., 2013**). Le traitement des SMD de faible risque est la transfusion, Pour limiter le nombre de transfusions, des agents stimulant l'érythropoïèse (ASE) sont employés. En cas d'échec de ces derniers ou de syndrome 5q-, le lénalidomide peut être utilisé (**Spiriti et al ., 2005 ;Park et al ., 2008**). En cas de thrombopénie les androgène sont employés (**Kantarjian et al ., 2010**).

Dans le but de prolonger la survie des patients SMD de haut risque, les traitements couramment utilisés sont : La chimiothérapie intensive combinée aux anthracyclines et l'aracytine (**Vigna et al ., 2011 ;Duchmann et al ., 2015**). Les agents hypométhylants (5-azacitidine (AZA) et 5-aza-déoxycitidine (décitabine) sont des analogues nucléosidiques de la cytidine, sont mieux tolérés que la chimiothérapie intensive ou la cytarabine à faible dose.

Toutes fois, l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques, reste la meilleure option thérapeutique, permettant d'induire des réponses à long terme et parfois d'obtenir la guérison dans **25 à 75 %** des cas (**Giralt et al ., 2011**). Elle prend en compte des facteurs liés à la maladie (**Itzykson et al ., 2011**), au patient (**Gauthier et al ., 2015**) et l'origine du greffon (**Sorrer , 2013**).

# Chapitre II :

## Matériel et Méthodes

### ➤ Objectif

L'objectif de cette étude est double :

- Déterminer l'intérêt de la cytogénétique conventionnelle par la technique de caryotype et moléculaire à travers la technique de *FISH* dans la stratification du pronostic des syndromes myélodysplasiques (SMD).
- Classer les patients SMD selon les classifications morphologiques (OMS) et pronostiques (IPSS, IPSS-R, WPSS).

### ➤ Lieu de stage et Echantillonnage

C'est une étude rétrospective réalisée sur **30** patients durant une période de **24 mois**, dont l'âge est > à **18 ans** atteints de syndromes myélodysplasiques et suivis en consultation spécialisée. C'est un travail qui a débuté du **23/02/2020** au **14/07/2020** (avec un arrêt et une reprise engendrée par la conjoncture de la pandémie due au Covid-19) effectué au sein du laboratoire de recherche de cytogénétique conventionnelle et moléculaire du service d'hématologie de l'*EHS ELCC de -Blida-*.

Tous les patients ont bénéficié d'un examen clinique complet, notamment, un hémogramme, un examen cytologique par frottis sanguin et un myélogramme afin de confirmer le diagnostic, en plus d'un examen cytogénétique par caryotype et *FISH* en vue de la classification OMS et pronostique IPSS, IPSS-R et WPSS .

## ***II.1. Matériel***

### II.1.1. Matériel biologique

- Sang veineux : 5 à 10 ml dans un tube stérile hépariné.
- Moelle osseuse : aspiration recommandée (2 ml) dans une seringue stérile hépariné + tube conique de 15 ml contenant du *RPMI* complet.

### II.1.2. Matériel non biologique

Une gamme de matériel non biologique est utilisée au cours de l'expérimentation est présentée dans l'annexe 2.

## ***II .2. Méthodes***

### **✓ Hémogramme (Hg)**

Il est réalisé sur sang veineux prélevé sur anticoagulant (*EDTA*).

Prélever 5 ml au niveau du pli du coude par un tube qui doit être agité pour éviter la formation de micro-caillots dans le but d'analyser les éléments figurés du sang : globules rouges ; globules blancs et les plaquettes (*EHS ELCC Frantz Fanon –Blida*).

### **✓ Frottis sanguin (FS)**

Il est effectué à partir d'une pique sur le doigt ; on met une goutte sur une lame et on effectue un étalement par une autre lame. La coloration *MGG* est ensuite réalisée.

Cet examen est effectué pour un diagnostic morphologique, les cellules figurées du sang les neutrophiles ; basophiles...etc (*EHS ELCC, Frantz Fanon –Blida*).

### **II .2. 1. Prélèvement médullaire (MO)**

C'est un prélèvement de moelle osseuse réalisé sous anesthésie local. Cet examen consiste à prélever du suc médullaire par traucard spéciale. Il s'agit généralement de sternum (os plat situé au milieu de la poitrine) ou de la partie saillante de la hanche. L'étalement sur une lame et une coloration *MGG* est ensuite réalisé.

Un examen au microscope optique est effectué afin d'évaluer les cellules précurseurs de la lignée myéloïde.

Cet examen permet de réaliser le caryotype. Ainsi,le suc médullaire est prélevé à l'aide d'une seringue héparinée au *1/10*, puis le transférer dans un tube conique avec du *RPMI* complet,ce dernier est rapidement acheminé au laboratoire de cytogénétique pour le comptage et la culture cellulaire (*EHS ELCC,Frantz Fanon –Blida*).

La qualité des frottis est très importante pour la reconnaissance des cellules par le cytologiste, les étalements doivent être idéalement réguliers, progressifs et fins en bout de frottis. Les cellules sont beaucoup moins étalées au début du frottis qu'à sa fin.

✓ Comptage :

Calculer le nombre de cellules à mettre en culture (selon le type de culture) :

- MO :  $20.000/\text{taux de GB}$  donné par l'appareil = quantité à prélever du tube à mélanger avec 10cc de **RPMI** complet dans des flasques.
- Sang :  $10.000/\text{GB}$  = quantité à mélanger avec 10 cc de **RPMI** (*EHS ELCC Frantz Fanon –Blida*).

## II .2.2. Cultures cellulaires

Une technique qui précède le caryotype et la **FISH** est présente dans l'annexe 2.

## II .2.3 Caryotype

- Technique de marquage permettant de mettre en évidence des structures appelées bandes sur les chromosomes (*EHS ELCC Frantz Fanon –Blida*).

✓ Etalement :

- Eliminer le surnageant.
- Rajouter 2/3 de fixateur pour un 1/3 de culot.
- Mélanger délicatement.
- Humidifier les lames en les plaçant face à la vapeur du bain marie.
- Prélever à l'aide d'une pipette de transfert (en plastique) l'échantillon puis l'étaler.
- Verser une (01) goutte à droite et une(01) autre à gauche de la lame.
- Laisser sécher à température ambiante.
- Chauffer le bain marie avec une solution tampon  $\text{NH}_2\text{PO}_4$  jusqu'à +  $87^\circ\text{C}$ .
- Dès que cette température est atteinte, commencer la manipulation.
- Plonger les lames dans de l'eau distillée stérile pendant 5 mn.
- Mettre les lames dans un bain marie pendant 12mn-12mn15'.
- Faire sortir 2 béciers d'eau distillée du réfrigérateur.

- Plonger les lames dans le *1<sup>er</sup>* bécher puis dans le *2<sup>ème</sup>*.
- Préparer le GIEMSA : 4cc de *Giensa* + 100ml d'eau distillée.
- Immerger les lames dans le *Giensa* pendant 5 mn.
- Laisser sécher à température ambiante.
- Laver les lames avec l'eau de robinet.
- Déposer les lames dans les porte-lames.
- Observer les lames au microscope optique GR×100 (*CARL ZEISS, PhotoFluor LM-75*) (*Annexe 2*).

## II .2.4. FISH

La technique *FISH* (Fluorescent In Situ Hybridization) est une technique qui permet de révéler par fluorescence des séquences spécifiques sur les chromosomes étudiés. Le principe est basé sur l'utilisation d'une sonde fluorescente correspondant à une séquence d'acide nucléique spécifique à un gène cible (*EHS ELCC Frantz Fanon –Blida*).

-Préparation des réactifs pour la FISH

### ➤ *1<sup>ère</sup> préparation*

Le réactif principal est l'*IGEPAL 0.1% LAVAGE*.

- 01 cc d'*IGEPAL* .
- 100 cc de *SSC*.
- 1 aimant.
- 1 litre d'eau distillée.
- Placer le tout sur un agitateur pendant 5-10 mn.

### ➤ *2<sup>ème</sup> préparation*

Le réactif principal c'est le *Tween LAVAGE*.

- 100 cc de *SSC*.
- 0.5 cc de *Tween*.
- Un (01) litre d'eau distillée.
- Aimant.
- Placer le tout sur un agitateur pendant 5 à 10 mn.

### ➤ *3<sup>ème</sup> préparation*

Le réactif principal est l'**IGEPAL à 0.3% LAVAGE**.

- 10 cc de **SSC**.
- 1.5 cc d'**IGEPAL**.
- 500 cc d'eau distillée (lavage).
- Placer le tout sur un agitateur pendant 5 à 10 mn.

Pour les trois réactifs préparés, verser le contenu de chaque réactif (après avoir récupéré l'aimant) dans 03 flacons stériles fermés hermétiquement.

✓ Étalement :

Conditions de l'étalement (Température entre **+20 C°** et **+25C°** et Humidité entre 45 et 55% )

- Éliminer le surnageant.
- Rajouter 2/3 du fixateur pour un 1/3 de culot.
- Mélanger délicatement.
- Humidifier les lames en les plaçant face à la vapeur du bain marie.
- Retirer à l'aide d'une pipette de transfert (en plastique) le prélèvement puis étaler.
- Verser deux gouttes superposées du culot sur la lame au centre et laisser sécher à l'air libre.
- Mettre à l'étuve sèche (**+37C°**) pendant une nuit.

✓ Prétraitement :

- Placer les lames dans des bacs contenant **2SSC** (20 cc SSC + 1000 ml d'eau distillée : dilution 1/10ème).
- Immerger les lames.
- Mettre à l'abri de la lumière pendant 02 mn avant la mise en place des sondes.
- Placer le bac des lames dans un fixateur alcool (éthanol) à :
  - ✓ 70% pendant 02 min à l'abri de la lumière.
  - ✓ 85% pendant 02 min toujours à l'abri de la lumière (recouvrir le bac par un carton).
  - ✓ 100% pendant 02 min toujours à l'abri de la lumière (recouvrir le bac par un carton).
  - ✓ Sécher à l'air libre (sous couvert).
- Chauffer la plaque à **+37C°**.
- Aspirer 5 µl de la sonde à appliquer et mettre dans un tube d'Eppendorf.
- Poser la lame étalée du malade
- Déposer une goutte sur la lame du malade.
- Recouvrir avec une lamelle
- Se débarrasser des bulles d'air.

- Placer dans le thermobrite à  $+37^{\circ}\text{C}$  pendant une nuit (*EHS ELCC Frantz Fanon – Blida*).

- ✓ Lavage :

Après la phase de prétraitement et en vue d'effectuer les différents lavages, trois sortes de réactifs sont préparés notamment, le *IGEPAL* à *0.1% et 0.3%*, avec le *TWEEN*. Ces réactifs sont conservés dans 03 flacons stériles hermétiquement fermés, portant la date de préparation et mis à température ambiante ou à  $+4^{\circ}\text{C}$  pendant 24 h.

Les lames des patients sont déposées dans du *IGEPAL* à *0,1%* pendant 3 min, puis dans l'*IGEPAL* à *0,3%* pendant 2 min et enfin imprégnées dans du *TWEEN* pendant 30s.

- ✓ Lecture :

Observer les lames au microscope optique GR $\times$ 100 (*CARL ZEISS, PhotoFluor LM-75*) (*Annexe 2*)

- ✓ Analyse statistique :

L'analyse des données, les calculs et les illustrations graphiques ont été réalisés par le logiciel *Excel 2010*.

# Chapitre III :

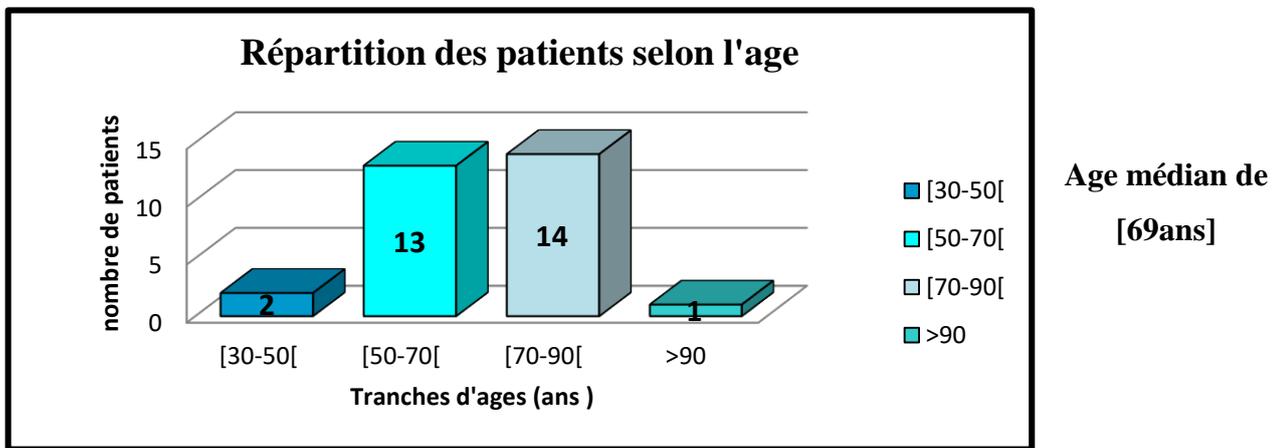
## Résultats et discussion

Il s'agit d'une étude rétrospective réalisée sur une période de **24 mois**, portant sur **30** patients dont l'âge est supérieur à **18 ans** et atteints de syndromes myélodysplasiques. Ces patients sont suivis en consultation spécialisée au sein du service d'hématologie de ***l'Etablissement Hospitalier Spécialisé En Lutte Contre Le Cancer de Blida (EHS ELCC)***.

### III .1. Données épidémiologiques

#### III .1.1. Répartition des patients selon l'âge et l'incidence

##### a) Age

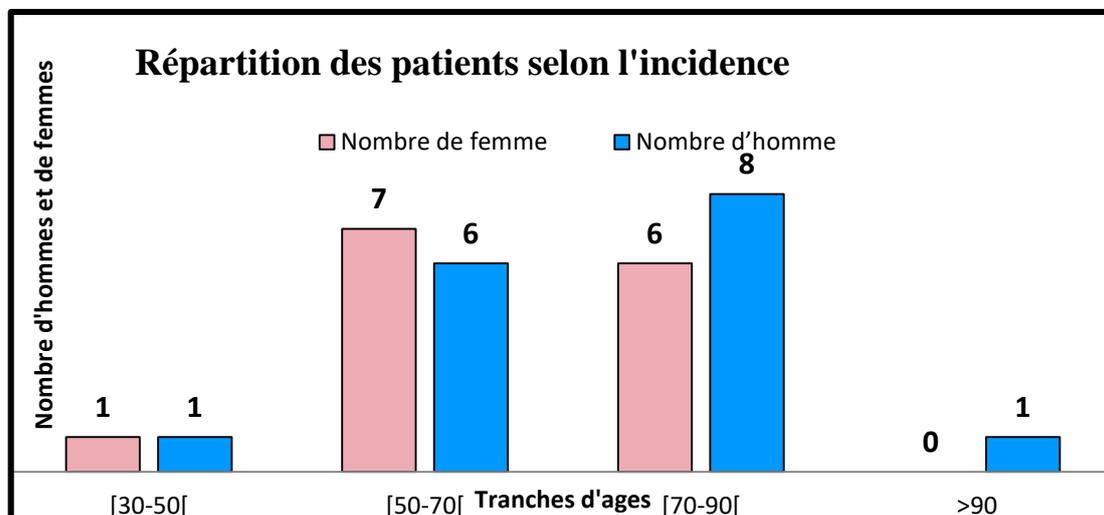


**Figure 5** : Répartition des patients atteints de SMD selon les tranches d'âges.

D'après nos résultats, l'âge de notre population varie de **(30 à 94 ans)** et l'âge médian est de **[69 ans]** (figure 5), (tableau XIII) (Annexe 1). Ce résultat concorde avec ceux de (Benlazar , 2015 ;Bekadja et al ., 2015) avec un âge médian de **[64.3 ans]** .

De même, une étude **Tunisienne** réalisée par (Ahour , 2016), a révélé un âge médian de **64 ans**. Ces résultats contrastent avec les séries **Européennes** et **Américaines** où l'âge médian est relativement élevé **[72 ans]**(Germing et al ., 2004 ), **[73ans ]**(Navaro et al .,2006), **[76 ans]** (Ma et al .,2007), **[74 ans ]** (Troussard et al .,2011), et **[71 ans ]** (Greenberg et al .,2012).et la série **Marocaine** de (Bibi , 2010) où l'âge médian été de **[53.3 ans]** .

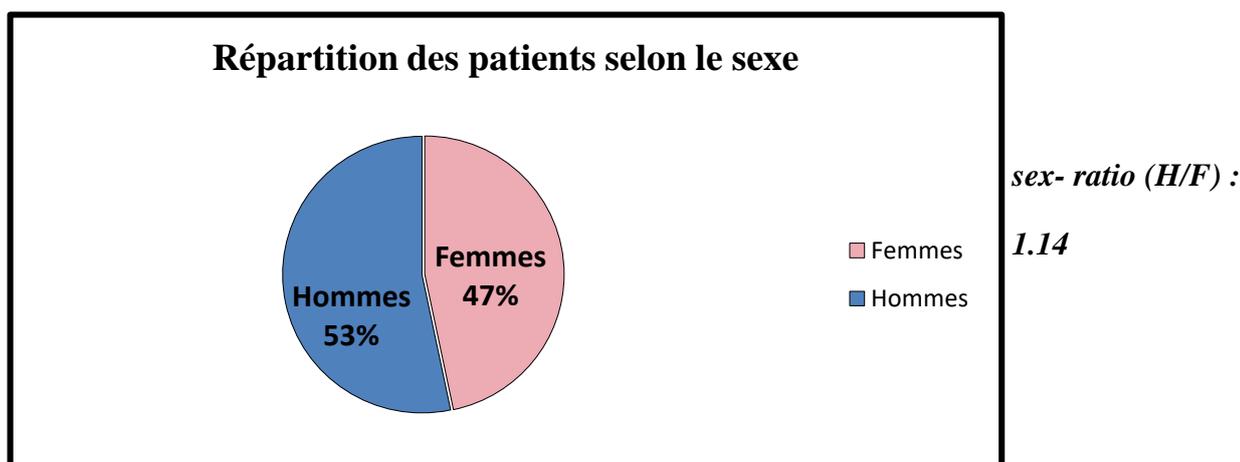
## b) Incidence



**Figure 6** : Répartition des patients atteints de SMD selon leur incidence

La répartition selon les tranches d'âge révèle que l'incidence la plus élevée est retrouvée chez les patients dont l'âge est compris entre **70 et 90 ans** (*figure 6*) et (*tableau XIV*) (*Annexe 1*), avec un total de **14 patients**, soit **46 %**. Ceci concorde avec les données **Américaines** de (**Ma et al .,2007**), ces derniers ont montré que **86%** des patients avaient un âge supérieur ou égal à **60 ans** au moment du diagnostic. Cette différence peut être expliquée par le vieillissement de la population européenne par rapport à notre population considérée comme jeune.

## III .1.2. Répartition des patients selon le sexe



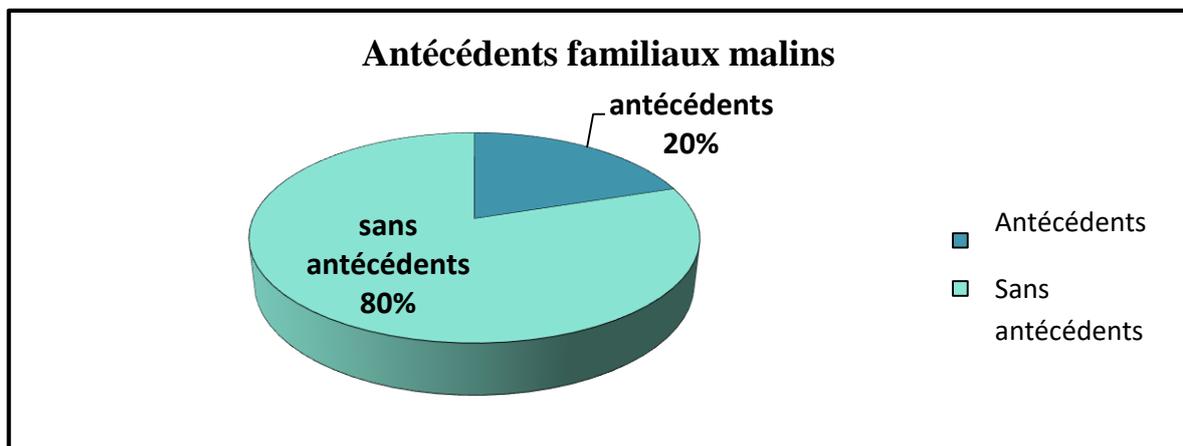
**Figure 7** : Répartition des patients atteints de SMD selon le sexe

Selon le diagramme circulaire (*figure 7*), nous soulevons une prédominance du sexe masculin avec un nombre de **16 hommes** soit **53.3 %** contre **14 femmes** environ **46.7 %** sur un total de

30 patients (*tableau XV*) (*Annexe 1*) et un sex- ratio homme/femme de **1.14**. Ce résultat est proche sensiblement au résultat de l'étude Tunisienne réalisée par (**Achour ,2016**) ou le sex-ratio était de **1.15** . La prédominance du sexe masculin est constatée dans la plupart des séries d'études internationales particulièrement les séries **Marocaines** (**Bibi ,2010**) et **Européennes** (**Troussard ,2011 ;Bouchane ,2014 ;Bouyzourane ,2017**). Ceci peut être attribuer à la consommation excessive du tabac et l'exposition particulière du sexe masculin aux produits toxiques retrouvés en agriculture et en industrie tels que les herbicides et le benzène..etc .Néanmoins, une prédominance du sexe féminin est retrouvée dans d'autres séries d'études nationales, notamment celles de (**Bekadja et al .,2015 ;Bouchakor ,2017**).

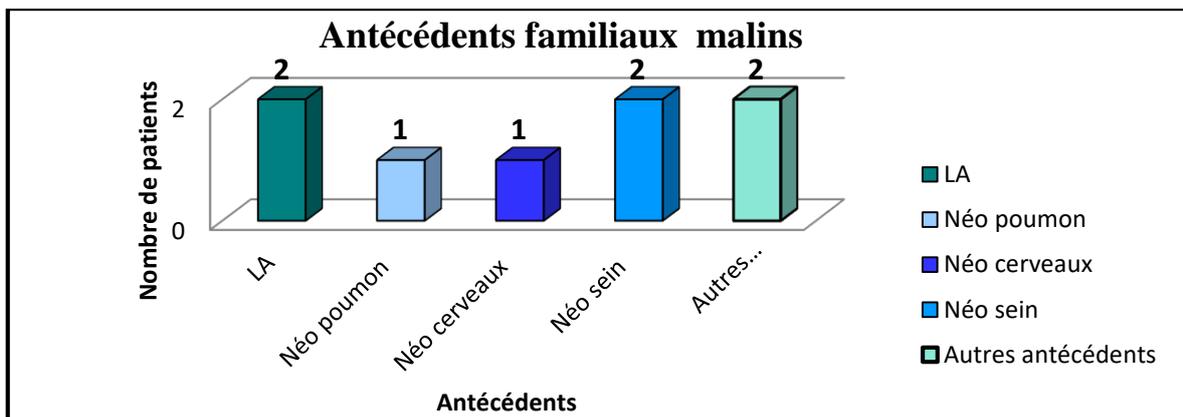
### III .2. Données cliniques

#### III .2.1. Antécédents familiaux malins



**Figure 8** : Répartition des patients selon la présence ou l'absence des antécédents

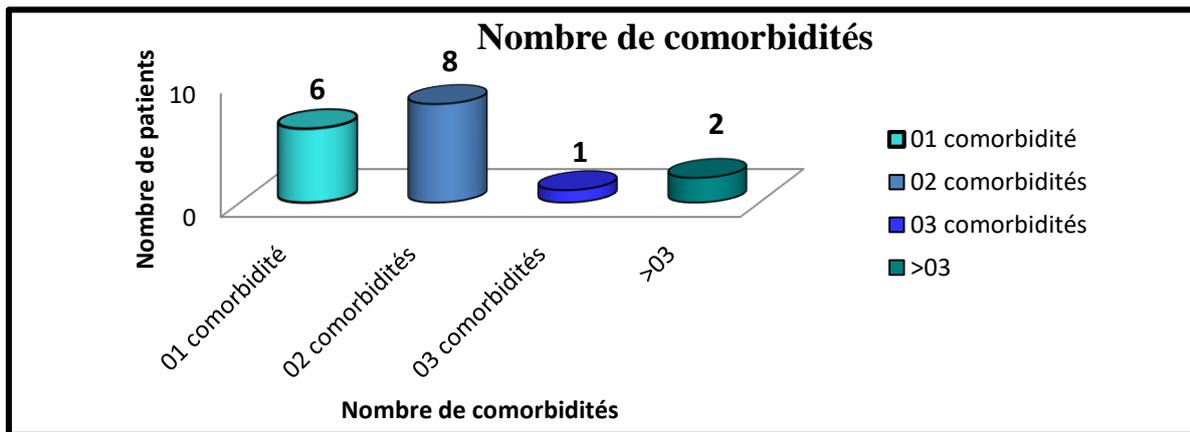
Dans notre série d'étude, **6** patients sur **30** présentent des antécédents familiaux malins, soit **20%**, contre **61.4%** enregistré par une étude *Algérienne* réalisée par (**Bouchakor ,2017**). (*figure 8*) .



**Figure 9** : Répartition des patients selon les antécédents familiaux malins (cancer)

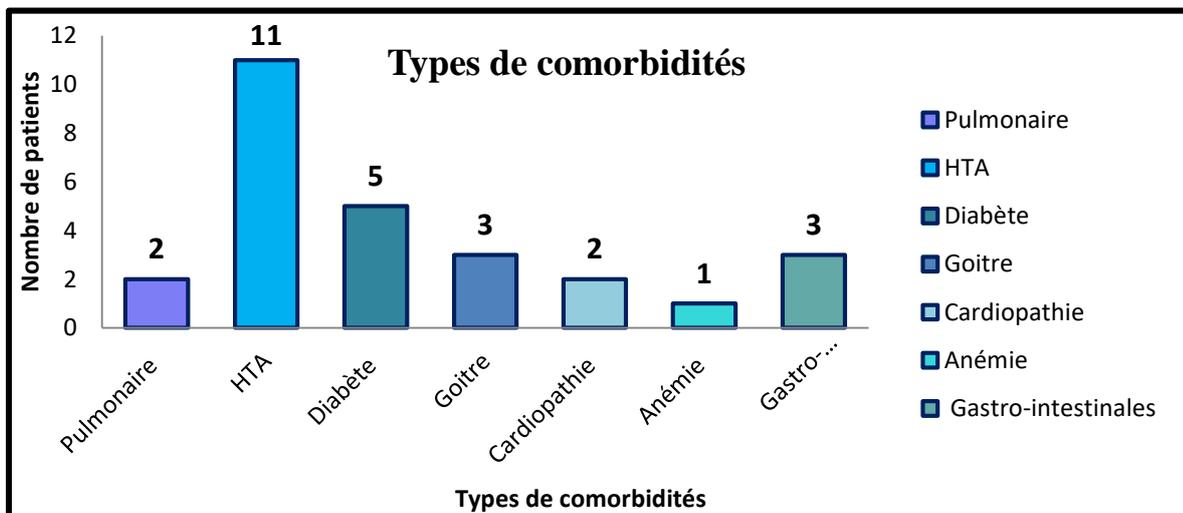
Selon l'analyse des résultats illustrés dans *le Tableau XVI (Annexe 1)* et *figure 9*, il ressort que la leucémie aigue et le néoplasme du sein sont les antécédents malins les plus fréquents dans notre serie, suivis par le néo du poumon et du cervaux avec un pourcentage de 3.3 % seulement .

### III .2.2. Comorbidités



**Figure 10 : Répartition des patients selon le nombre de comorbidités**

Les résultats de notre étude ont révélé que 17 patients sur 30 environ (56,6%), présentent des comorbidités, 47% de ces derniers présentent 2 comorbidités à la fois, 35.2 % d'entre eux n'ont qu'une seule comorbidité, 11.7 % souffrent de plus de 3 comorbidités et enfin, 5.8% ont 3 comorbidités. (Figure 10) (Tableau XVII) (Annexe 1).



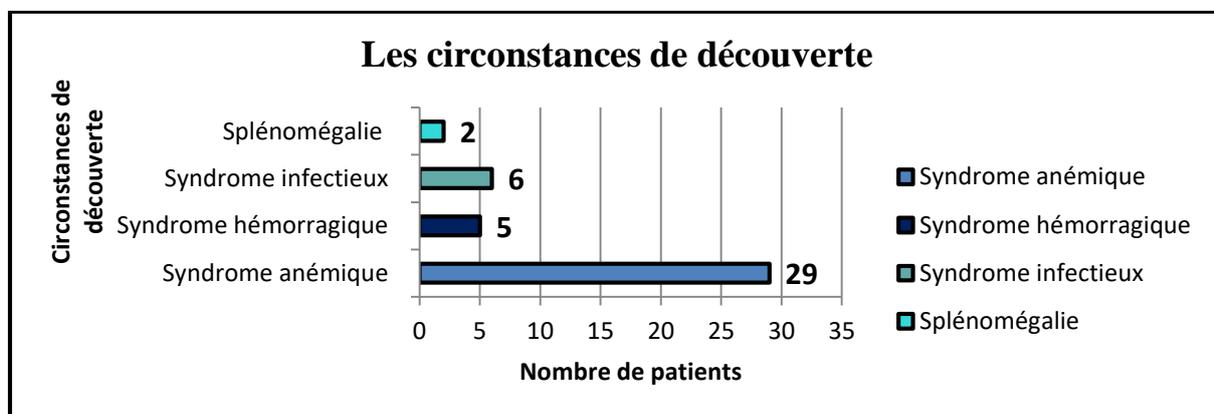
**Figure 11 : Répartition des patients selon les types de comorbidités**

Par ailleurs, la répartition de nos patients selon cette coprésence de maladies dans le **Tableau XVIII (Annexe 1)** et **Figure 11** indique que, l'HTA est la comorbidité la plus dominante avec une moyenne de **36.6%**. Ce résultat rejoint ceux de (**Bezzou et Mesli, 2014 ;Bouchakor,2017**), où l'HTA est la comorbidité la plus fréquente avec des valeurs respectivement de **41.3 %** et **30.76 %**.

D'autre part, le taux de diabète est de **16.6%** contre **17.94 %** et **22.4%** pour les études de (**Bezzou et Mesli , 2014 ;Bouchakor,2017**) respectivement.

Quant au goitre et les troubles gastro-intestinales ils sont évalués à (10%).

### III .2.3. Circonstances de découverte



**Figure 12: Répartition des patients selon les circonstances de découvertes**

La révélation des syndromes myélodysplasiques illustré au niveau du **Tableau XIX (Annexe 1)** et **Figure 12** est dominée par le syndrome anémique qui est trouvé dans **96** cas. Ce résultat est relativement proche de ceux de (**Fenaux , 2006 ;Bibi , 2010**), où le syndromes anémique été de **90 %** et **97.5%** respectivement.

Dans notre étude, le syndrome infectieux est présent chez **20 %** des patients, contre **32.3 %** pour la série d'étude de (**Bibi , 2010**), alors que le syndrome hémorragique est de **16.6%** contre **10%** noté par (**Fenaux , 2006 ; Bibi , 2010**).

La splénomégalie quant à elle, est constaté chez **6.6 %** des patients, résultat nettement inférieur au **29.5 %** noté par (**Bibi , 2010**).

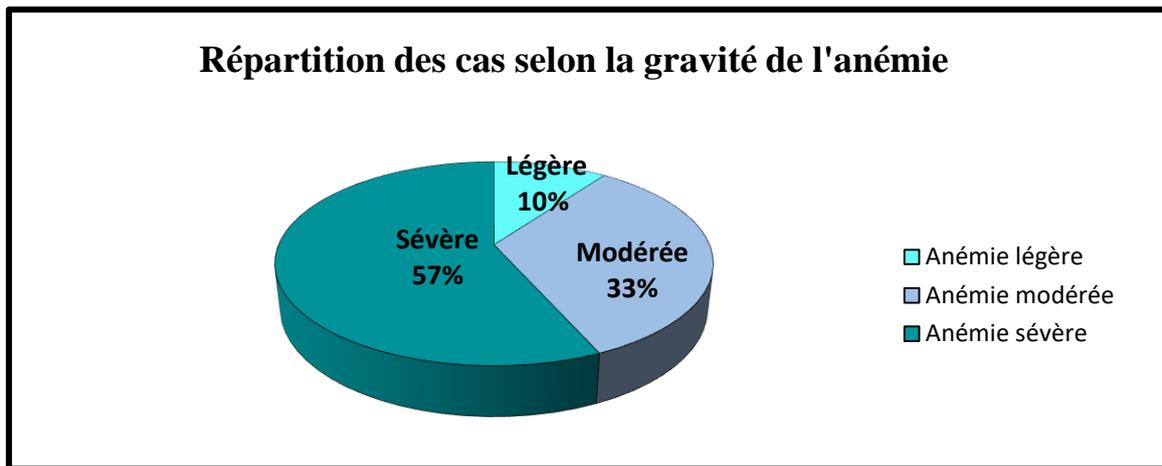
## III .3. Données biologiques

## III .3.1. L'hémogramme

## a) Globules rouges (érythrocytes)

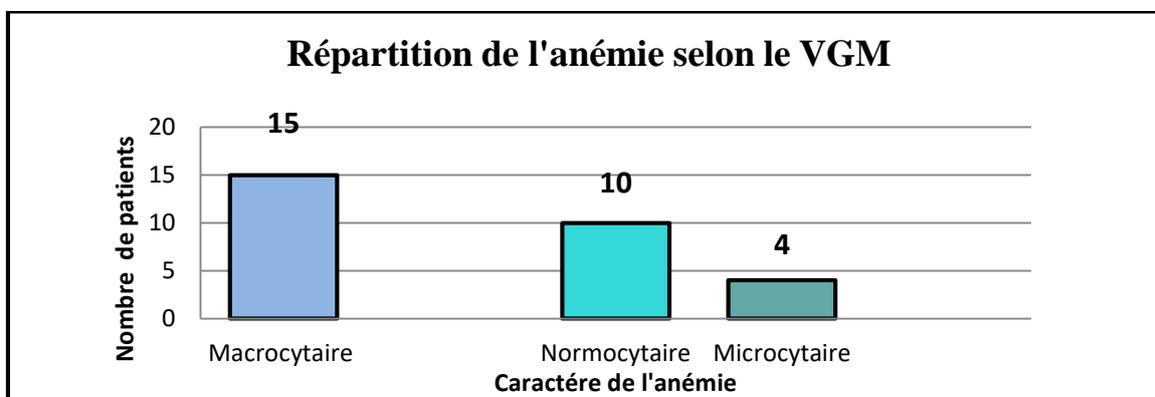
**Tableau I: Résultats de l'hémogramme (érythrocytes)**

<i>Hémogramme</i>	<i>Nombre de patients</i>	<i>Patients (%)</i>	<i>Valeurs moyennes</i>
<i>HB ≥ 10 g/dl</i>	3	10	10.5 (10 -11)
<i>8 &lt; HB &lt;10 g/dl</i>	10	33.3	8.7 (8.1 - 9.8)
<i>HB ≤ 8 g/dl</i>	17	56.6	6.6 (4 - 8)
<i>Macrocytaire (VGM &gt; 100 fl)</i>	15	50	107.8 (100.5 - 119.9)
<i>Normocytaire</i>	10	33.3	90.1 (82 - 94.8)
<i>Microcytaire (VGM &lt; 80 fl)</i>	4	13.3	72.5 (54.3 -79.6)

**Figure 13 : Répartition de l'anémie selon la gravité**

D'après les résultats illustrés dans le (Tableau I) et la (Figure 13), l'anémie est présente chez 100% de nos patients avec un taux moyen d'hémoglobine de 7,7 g/dl (5.7 - 11), elle est sévère ( $\leq 8$  g /dl) chez 56.6 % des cas contre 48% trouvés par (Greenberg et al .,2012) et 62,8% par (Bouchakor,2017). Chez 33.3 % des cas, l'anémie est modéré ( $8 < Hb < 10$ g/dl) contre 35% et 21,4% noté par (Greenberg et al .,2012 ;Bouchakor,2017) respectivement .

Enfin, une légère anémie avec un taux d'HB  $\geq 10$  g/dl chez 10 % de nos patients contre 17 % et 12.8 % enregistré par les études de (Greenberg et al.,2012 ;Bouchakor,2017) respectivement .



**Figure 14** : Répartition de l'anémie selon le VGM

Par ailleurs, nos résultats observés dans le **Tableau I** et **Figure 14**, indiquent une anémie macrocytaire dans 50% des cas contre 38,23% et 31,4% rapportés par l'études de (Bibi ,2010 ;Ahnach et al ., 2015 ;Bouchakor,2017) respectivement .

Une anémie normocytaire est observé dans 33.3 % de nos patients contre 52,9% noté par ( Bibi ,2010 ;Achour ,2015 ) et un taux de 50% enregistré par (Bouchakor,2017).

D'autre part l'anémie microcytaire est à 13.3 %, ce taux concorde avec celui de (Bibi ,2010) qui est de 11.76%

Nos résultats révèlent d'une part, un taux élevé d'anémie sévère par rapport à l'étude Américaine de (Greenberg et al.,2012) et d'autre part, elle est de type macrocytaire comparativement à d'autres séries Algériennes et Maghrébines.

B) Globules blancs (leucocytes) et plaquettes (thrombocytes) :

**Tableau II** : Résultats de l'hémogramme (leucocytes et thrombocytes)

Hémogramme	Nombre de patients	% patient
<i>Leucopénie</i>	15	50
<i>PN &lt; 800 /<math>\mu</math>l</i>	6	40
<i>PN <math>\geq</math> 800 /<math>\mu</math>l</i>	8	53.3
<i>PN &gt; 1800 <math>\mu</math>l</i>	15	100
<i>Hyperleucocytose</i>	2	6.6
<i>Thrombopénie</i>	22	73.3
<i>Plq &gt; 100000</i>	12	54.5
<i>Plq &gt; 50000 &lt; 100000</i>	8	36.3
<i>Plq &lt; 50000</i>	10	45.4
<i>Thrombocytose</i>	0	0

D'après l'analyse des résultats du **Tableau II** il ressort que la leucopénie touche **50 %** des patients, elle est sévère dans **40 %** des cas contre **82%** noté par (**Greenberg et al .,2012**) et **70%** par (**Bouchakor,2017**).

La thrombopénie est retrouvée chez **73.3 %** de nos patients, elle est sévère dans **45.4 %** des cas contre **19%** et **27,7%** noté par (**Greenberg et al ., 2012 ;Bouchakor,2017**), elle est modérée  $> 50000 < 100000$  dans **36.3 %** contre **21,4%** , **21 %** et **63%** par rapport aux études de (**Bouchakor,2017 ;Greenberg et al .,2012 ; Achour ,2015**) respectivement.

Le taux de plaquette est  $\geq 100000$  dans **54.5%** des cas contre **60%** et **50 %** rapportés respectivement par (**Greenberg et al .,2012 ;Bouchakor,2017**).

Nous avons constaté moins de neutropénie et plus de thrombopénie sévère par rapport à la série (**Greenberg et al ., 2012 ;Bouchakor,2017**), néanmoins, la thrombopénie modérée est moindre comparativement à la série (**Achour ,2015**) .

### III. 3.2. Données cytologiques

#### III .3.2.1. Frottis sanguin

**Tableau III : Résultats du frottis sanguin**

<i>Frottis sanguin</i>	<i>Nombre de patients</i>	<i>Patients (%)</i>
<b><i>Globules rouges</i></b>	<b>23</b>	<b>76.7</b>
<i>Macrocytose</i>	<b>13</b>	<b>56,5</b>
<i>Normocytose</i>	7	30.4
<i>Microcytose</i>	12	52.1
<b><i>Globules blancs</i></b>	<b>5</b>	<b>16.6</b>
<i>PNN pseudo-pelgers</i>	2	40
<i>PNN hyposegmentés</i>	<b>4</b>	<b>80</b>
<i>PNN hypersegmentés</i>	1	20
<i>PNN hypogranulés</i>	3	60
<i>PNN hypergranulés</i>	1	20
<b><i>Plaquettes</i></b>	<b>10</b>	<b>33.3</b>
<i>Macrothrombocyte</i>	<b>10</b>	<b>100</b>
<i>Microthrombocyte</i>	0	0
<b><i>Blastes périphériques</i></b>	<b>26</b>	<b>86.6</b>

<i>Blastes</i> ≤ 2%	<b>22</b>	<b>84.6</b>
<i>Blastes</i> > 2 < 5	<b>3</b>	<b>11.5</b>
<i>Blastes</i> ≥ 5 < 10%	<b>0</b>	<b>0</b>
<i>Blastes</i> ≥ 10 ≤ 19	<b>1</b>	<b>3.8</b>

Les résultats figurés dans le (**Tableau III**), illustrent des anomalies morphologiques importantes et variables au niveau des frottis sanguins, mais ceci ne permet pas d'affirmer le diagnostic des SMD.

La macrocytose est retrouvée dans **56.5 %** des cas contre **50%** dans la série de (**Bouchakor,2017**), ce qui confirme les données retrouvées dans l'hémogramme.

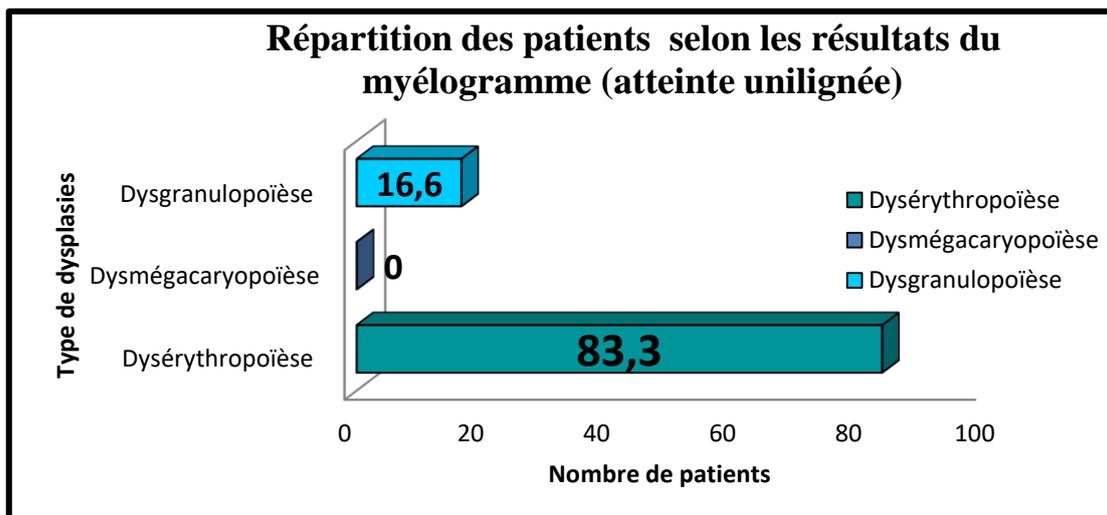
Une normocytose est observée dans **30.4%** des cas contre **20 %** dans la série de (**Bouchakor,2017**) avec une microcytoses de **52.1 %** contre **50%** pour la même étude.

En outre, des anomalies des plaquettes et des macrothrombocytoses sont constatées dans **100%** des cas contre **62 %** observés par (**Bouchakor,2017**).

Les blastes périphériques sont ≤ 2% dans **84.6 %** des cas contre **71,4%** rapportés par série (**Bouchakor,2017**).

Un taux de **11.5%** situé dans l'intervalle de ≥ 2 < 5 % contre **14,2%** dans la même série de (**Bouchakor,2017**) et enfin un pourcentage de **3.8** dans l'intervalle de ≥ 10 ≤ 19%, contre **14.2% trouvés** par (**Bouchakor,2017**).

### III .3.2.2. Myélogramme



**Figure 15 : Répartition des patients selon le myélogramme (atteinte uni lignée)**

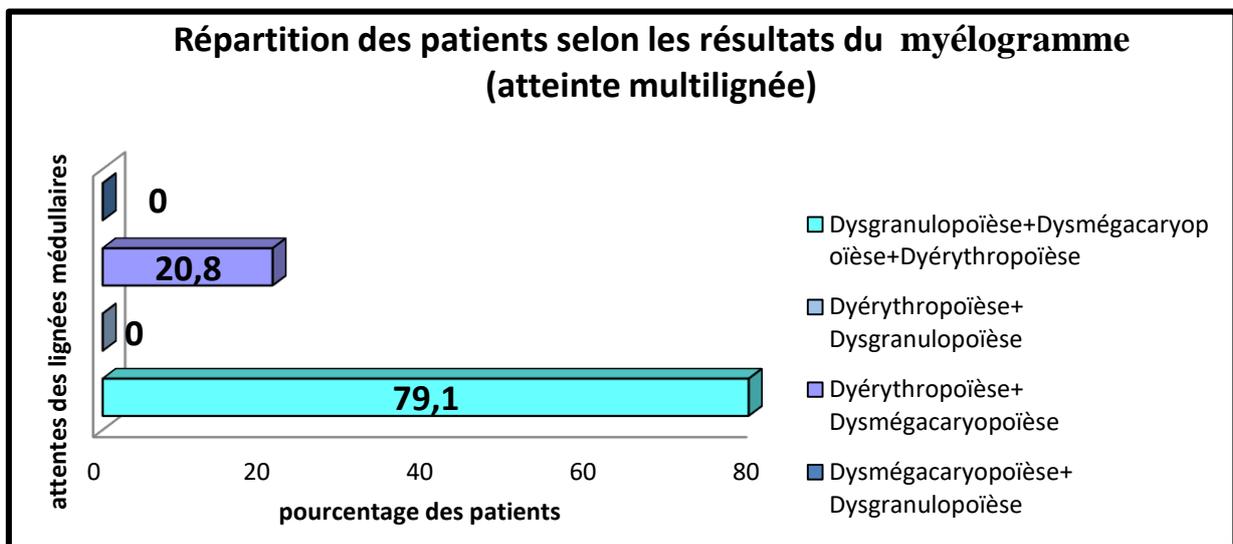
Le myélogramme a été réalisé chez tous les patients pour chercher les signes de dysmyélopoïèse, afin de permettre de poser le diagnostic. Les anomalies morphologiques

étaient présentes chez tous les patients, intéressant une ou plusieurs lignées (dysérythropoïèse, dysmégacaryopoïèse et dysgranulopoïèse) (**figure15**) et (**tableau XX**) (**Annexe 1**).

En effet, la lignée érythroblastique était touchée dans **83.3 %** des cas contre **84.2 %** cité par l'étude de (**Bouchakor,2017**) et **85.2 %** pour l'étude **Marocaine** réalisé par (**Bibi ,2010**).

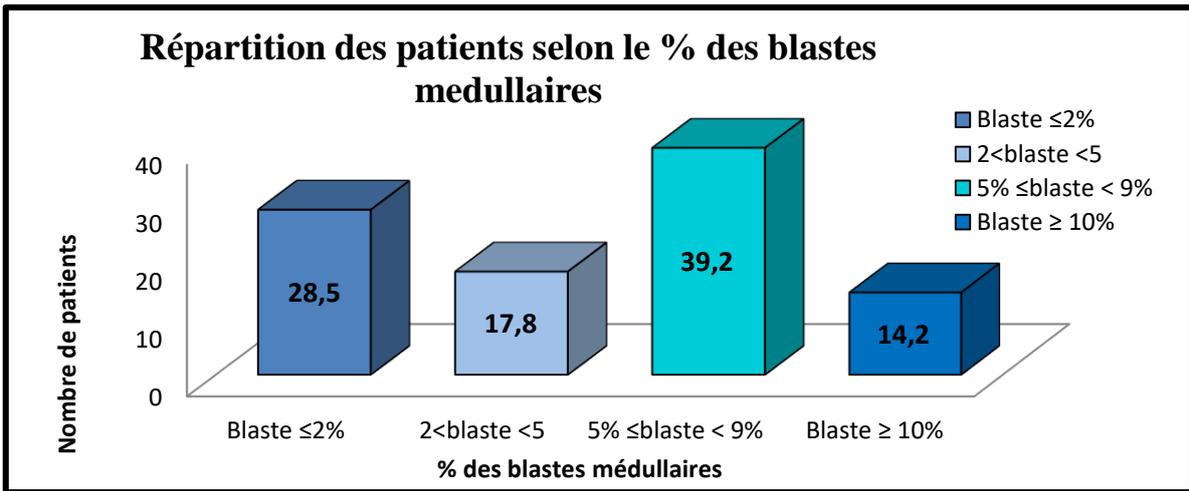
Une atteinte de la lignée granulocytaire est trouvée dans **16.6 %** des cas contre **41.17 %** et **51.4%** pour les études de (**Bibi,2010 ;Bouchakor,2017**) respectivement.

Enfin, aucune mégacaryocyte dystrophique en unilignée n'est constaté **0%**, contre **58.8 %** et **75.7%** rapportée respectivement par et (**Bibi ,2010 ;Bouchakor,2017**).



**Figure 16 : Répartition des patients selon le myélogramme (atteinte multilignée)**

L'analyse des résultats obtenus dans le **Tableau XXI (Annexe 1)** et **Figure 16**, montre que l'atteinte conjointe des trois lignées médullaires ou multilignées : dysgranulopoïèse + dysmégacaryopoïèse + dysérythropoïèse est la plus fréquente avec un taux de **79.1 %**. L'association des deux lignées : dysérythropoïèse + dysmégacaryopoïèse est à **20.8 %**, cependant, aucun cas **0%** n'a été trouvé pour les associations : Dysérythropoïèse + Dysgranulopoïèse et Dysmégacaryopoïèse + Dysgranulopoïèse.



**Figure 17 :** Répartition des patients selon le pourcentage des blastes médullaires

Par ailleurs, les résultats du myélogramme illustrés par le **Tableau XXII (Annexe 1)** et **Figure 17**, ont révélé que les blastes médullaires ≤ 2% sont retrouvés dans 28.5 % des cas contre 47% rapportés par une étude Américaine de (Greenberg et al .,2012) et 32.8 % de la série Algérienne de (Bouchakor,2017).

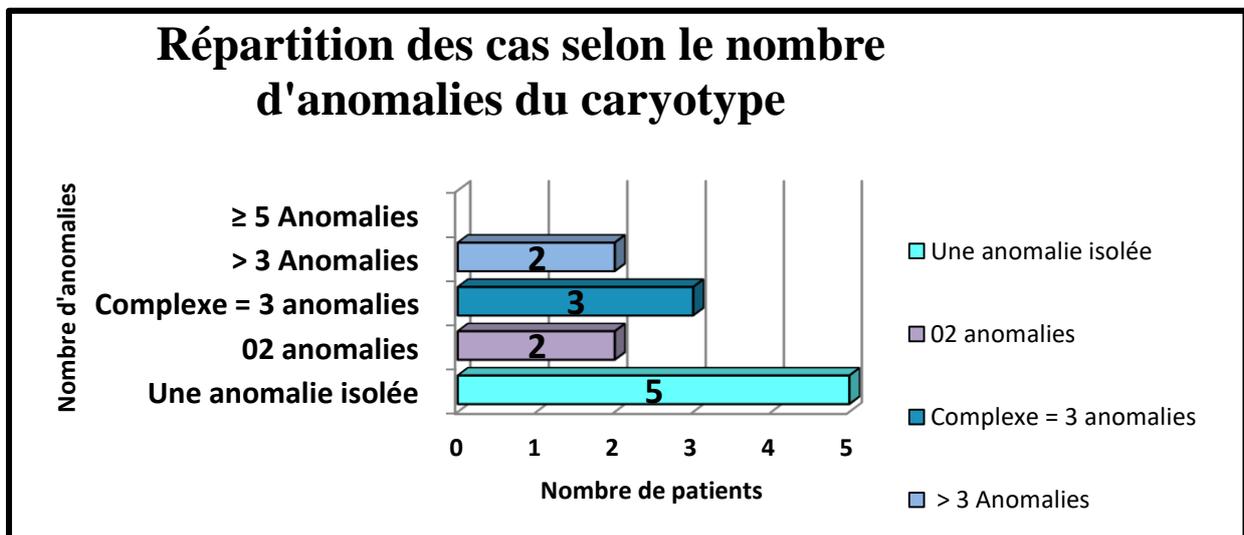
Un taux de 17.8 % des cas dont les valeurs se situent dans l’intervalle de > 2% < 5 % ont été enregistré contre 18% et 20% rapporté par (Greenberg et al .,2012 ; Bouchakor,2017) respectivement.

De plus, 39,2% des cas dont les taux varient entre 5 % et < 9% contre 19% et 31.4 % enregistrés par (Greenberg et al .,2012 ;Bouchakor,2017) respectivement.

Enfin ≥ 10 dans 14.2% des cas contre 17.1 % rapportés par (Bouchakor,2017).

III .4. Données cytogénétiques

III .4.1. Caryotype



**Figure 18 :** Répartition des cas selon le nombre d'anomalies du caryotype

Dans le cadre des recommandations de l'OMS dans le diagnostic et la prise en charge initiale du patient, le caryotype a été réalisé chez la totalité des patients de la cohorte grâce à un prélèvement médullaire.

Les résultats détaillés dans le (**Tableau XXIII**) (**Annexe 1**) montrent tout d'abord, qu'un échec du caryotype est retrouvé chez **10 %** de nos patients. Ce résultat corrobore avec celui de (**Bouchakor,2017**), où l'échec du caryotype été de **10 %** aussi. Toutefois, dans la serie d'étude de (**Haase et al ., 2007**), le taux globale d'échec est de **7%** , cet échec peut être justifié par les conditions de la réalisation du caryotype. En effet, à cause de la pandémie du **Covid19** nous étions dans l'obligation d'effectuer des caryotypes durant une période où l'humidité et la temperature n'étaient pas adaptées à la réalisation du caryotype, en plus d'autres facteurs notamment, la qualité du culot et le nombre de mitoses à interpréter .

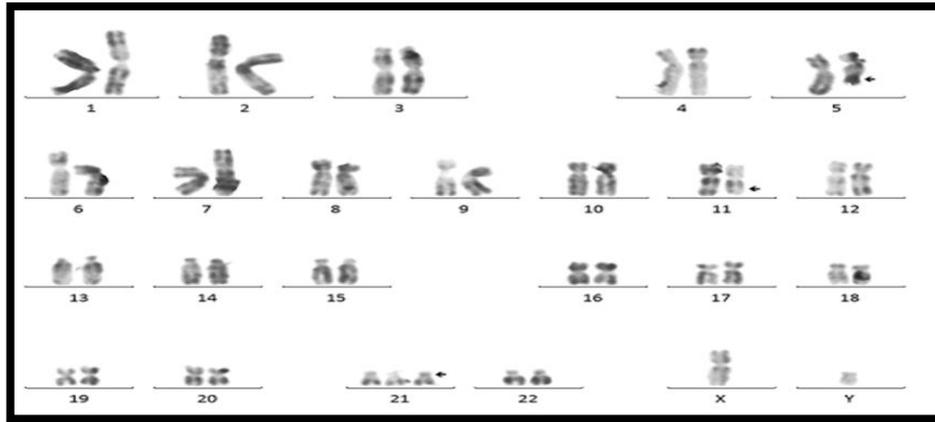
Le caryotype a été contributif et a pu être interprété dans notre étude pour **90 %** des cas contre **97.6 %** rapportés par (**Haase et al ., 2007**). Néanmoins, notre résultat rejoint celui de (**Bouchakor.,2017**).

Nos résultats illustrés dans le (**Tableau XXIII**) (**Annexe 1**) et (**figure 18**), indiquent une absence d'anomalie (**figure 22**) chez **15** patients sur **27** caryotypes interprétés, environ **55.5 %** contre (**48%,63,1%, 60% ,46% et 52.3 %**) trouvés respectivement par (**Haase et al ., 2007 ;Esther et al .,2012 ;Greenberg et al .,2012 ;Ahnach et al .,2015 ;Bouchakor,2017**).

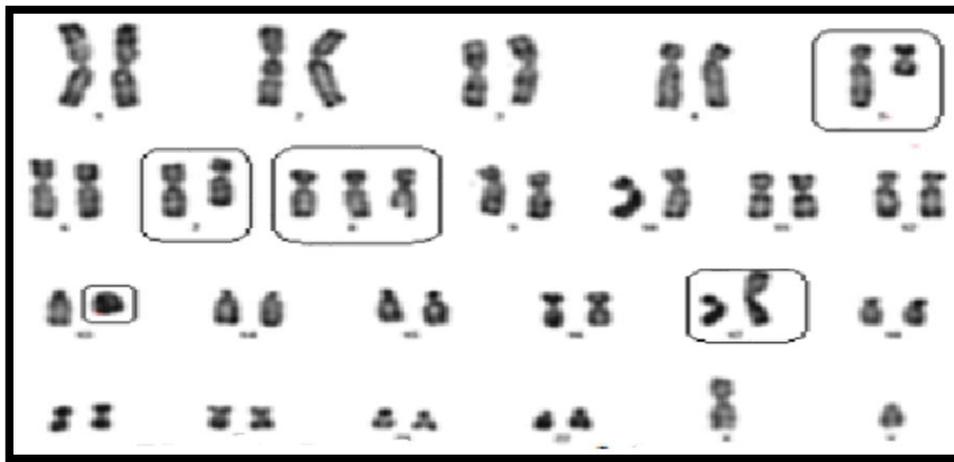
D'autre part, un caryotype pathologique est retrouvé chez **12** patients soit **44.4%** contre (**52 %, 38,6%, 45,3% , 44,6% et 47.7%**) respectivement rapporté par les études (**Haase et al ., 2007 ;Esther et al .,2012 ;Greenberg et al .,2012 ;Ahnach et al .,2015 ;Bouchakor,2017**).

Des anomalies isolées sont retrouvées chez **16.6 %** de nos patients contre **29%** pour la série de (**Haase et al ., 2007**), **18 %** par l'étude de (**Esther et al .,2012**) et **18.5%** noté par (**Bouchakor,2017**). Elles sont associées chez **6.6%** des cas contre **23 % et 25.3%** par rapport aux études de (**Haase et al ., 2007 ;Bouchakor,2017**) respectivement .

Les anomalies du caryotype sont complexes (**ou = 3**) (**figure 19**) dans **10 %** des cas contre **3%** et **11.1 %** des séries de (**Haase et al ., 2007 ;Bouchakor,2017**). Elles sont supérieures à **03** dans **6.6 %** (**figure 20**) comparativement à **11,1%** trouvé par (**Haase et al ., 2007**) et **7.4%** observé par (**Bouchakor ,2017**).



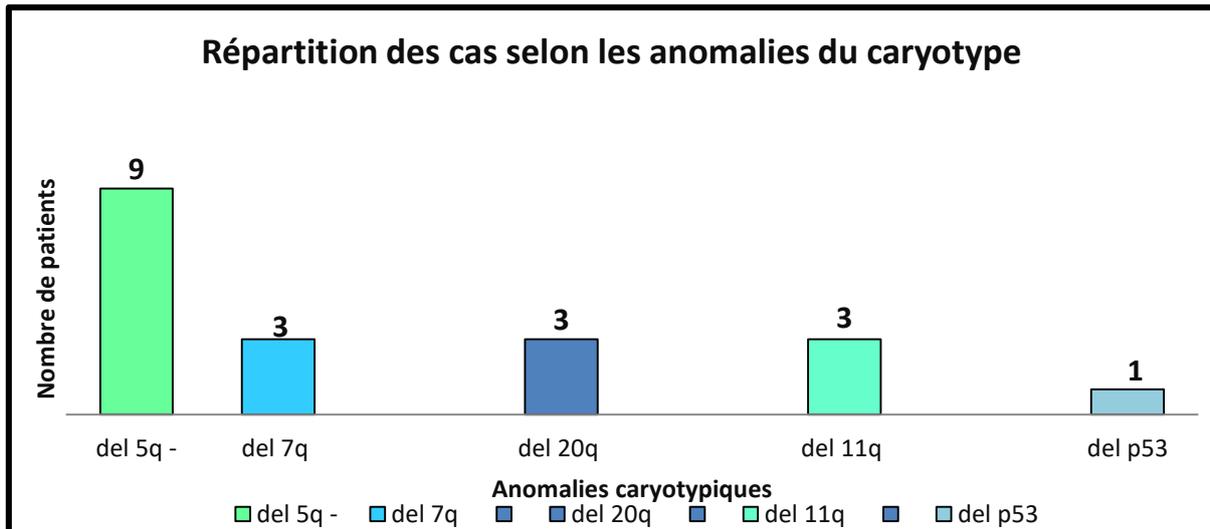
**Figure 19 :** Image d'un caryotype pathologique complexe avec 3 anomalies +21, del5q31q33, del11q23 (bande R) (Originale)



**Figure 20 :** Image d'un caryotype pathologique complexe avec cinq anomalies de 5q(13q33q) , del 7q22, +8 , add 17q11, +mar (bande R) (Originale)

**Tableau IV :** Récapitulatif des anomalies du caryotype

Anomalies caryotype	Nombre de patients	Patients (%)
del 5q -	9	33,3
del 7q	3	11,1
del 20q	3	11,1
del 11q	3	11,1
del p53	1	3,7

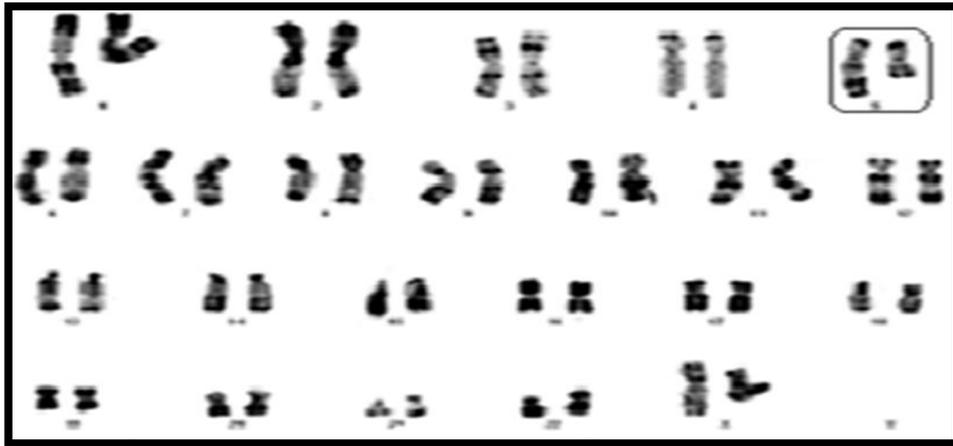


***Figure 21 : Répartition des cas selon les anomalies du caryotype***

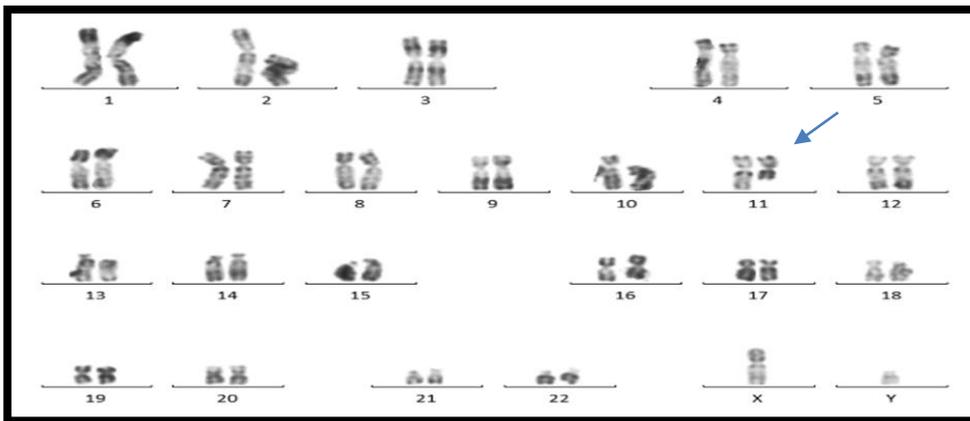
Les anomalies retrouvées suite à la réalisation du caryotype (*Tableau IV*) (*figure 21*) sont par ordre décroissant comme suit : la délétions **5q-** est la plus fréquente avec un total de **9** patients sur **27** soit **33,3 %** (*figure 23*), suivie par la délétion **11q** (MLL), (*figure 24*), **7q** (*figure 25*) et **20q** avec **3** patients sur **27** environ **11,1%**, et enfin, la délétion **17p** (**p53**) avec uniquement un seul cas soit **3.7%**.



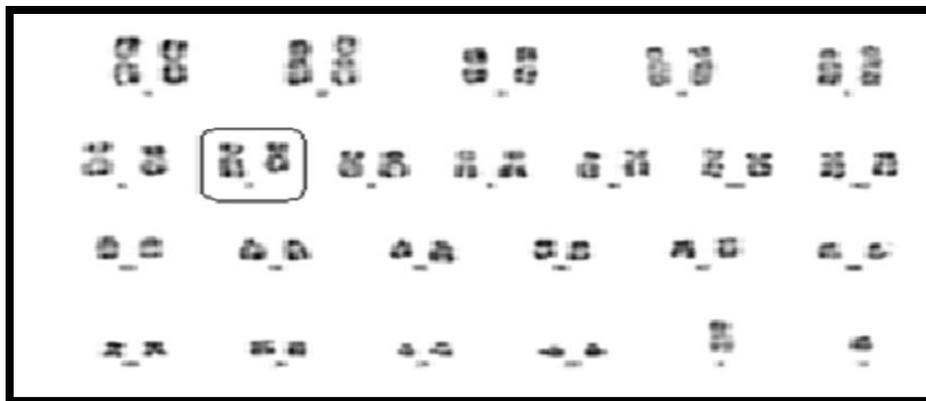
***Figure 22 : Image d'un caryotype normal (bande R)(Originale)***



**Figure 23 :** Image d'un caryotype pathologique avec une seule anomalie del 5q31q33 (bande R) (Originale)

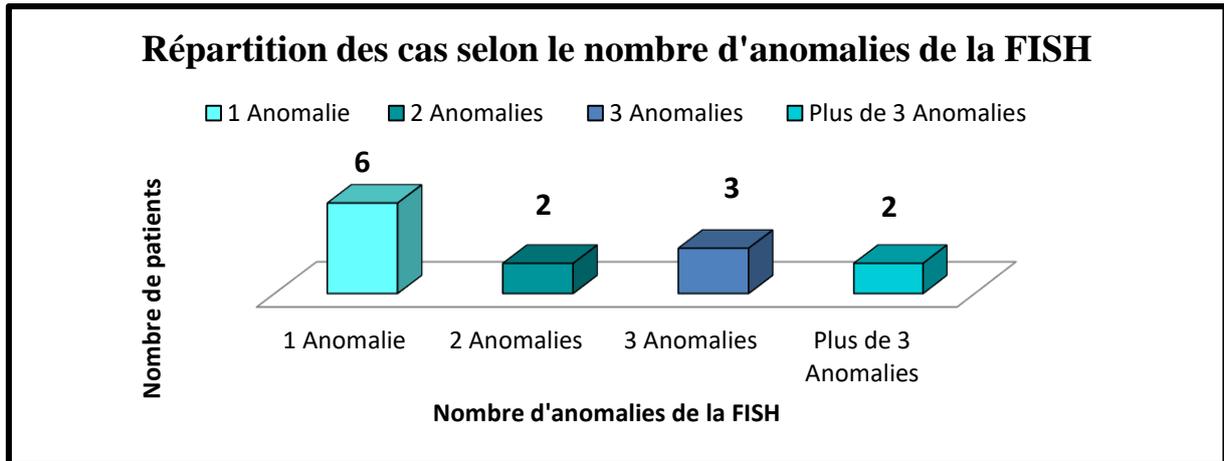


**Figure 24 :** Image d'un caryotype pathologique avec une seule anomalie del(11q23) (bande R) (Originale)



**Figure 25:** Image d'un caryotype pathologique avec une seule anomalie del7q22q31 (bande R) (Originale)

## III .4.2. FISH



**Figure 26: Répartition des cas selon le nombre d'anomalies de la FISH**

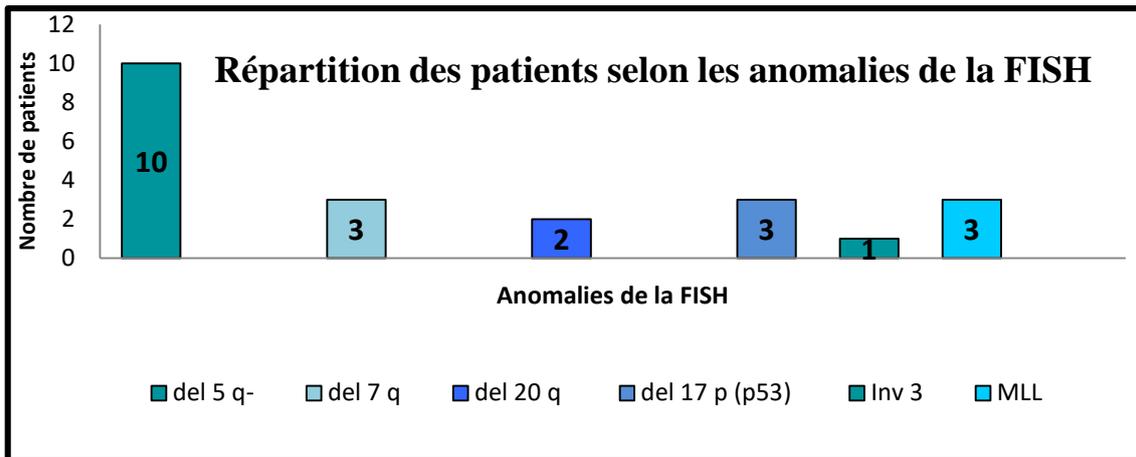
Une *FISH* a été réalisée pour les 27 patients n'a révélé aucune anomalie chez 14 patients soit 51.8% contre 65.7 % pour la série d'étude de (Bouchakor , 2017).

La presence d'anomalies quant à elle, est presente chez 13 patients soit 48.1 % vs 34.3 % pour la même série d'étude de (Bouchakor ,2017) (Tableau XXIV) (Annexe 1) (figure 26).

Les anomalies les plus frequents retrouvées sont recapitulées dans le *tableau V* et *Figure 27*.

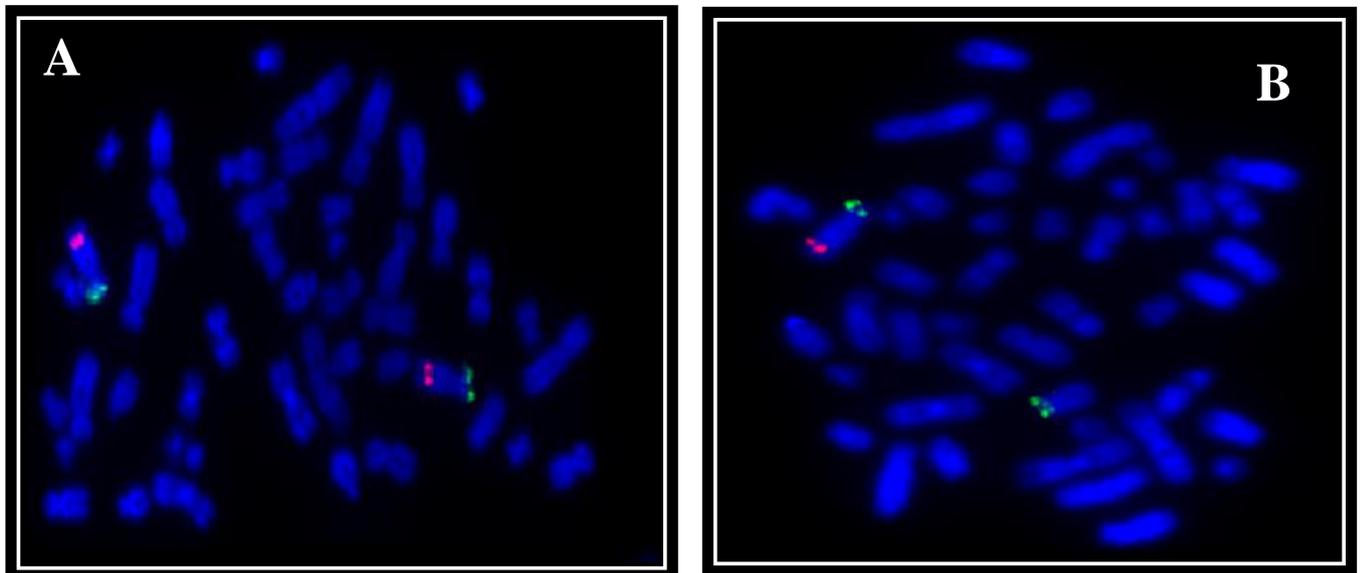
**Tableau V: Récapitulatif des anomalies de la FISH**

<i>Anomalies FISH</i>	<i>Nombre de patients</i>	<i>Patients (%)</i>
<i>del 5 q-</i>	<b>10</b>	<b>37</b>
<i>Monosomie 5</i>	1	3.7
<i>del 7 q</i>	3	11.1
<i>del 20 q</i>	2	7.4
<i>Monosomie 20</i>	1	3.7
<i>del 17 p (p53)</i>	3	11.1
<i>Inv 3</i>	1	3.7
<i>Del 11q (MLL)</i>	3	11.1



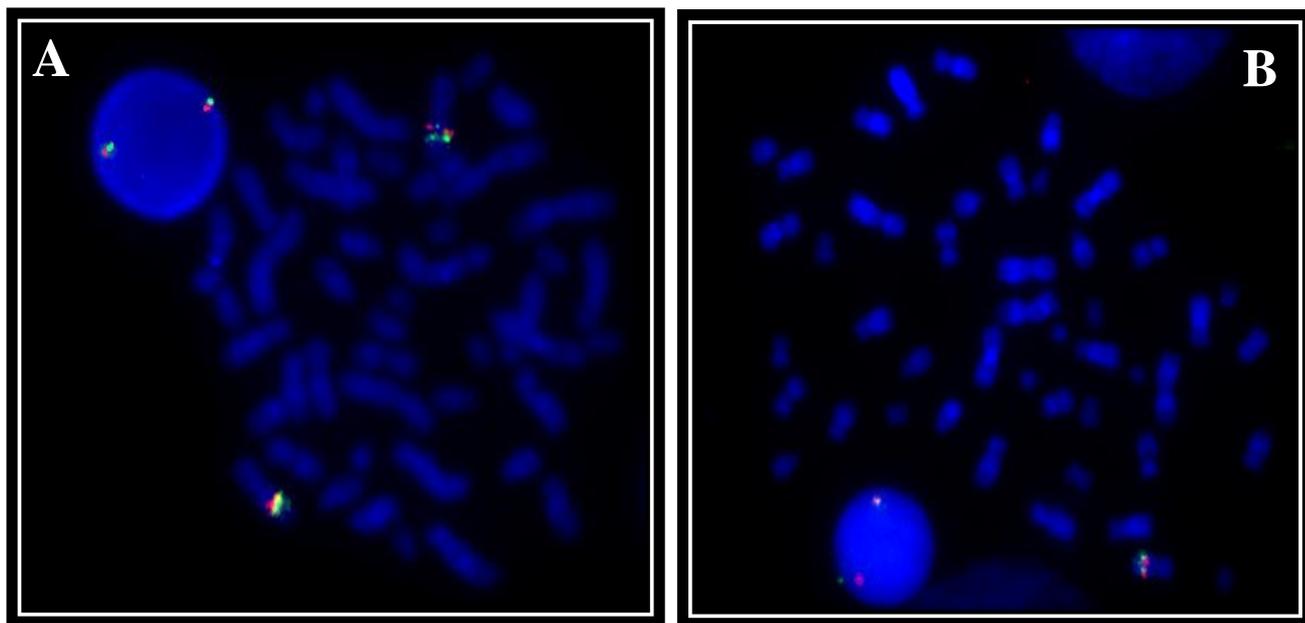
**Figure 27:** Répartition des patients selon les anomalies de la FISH

Les anomalies retrouvées suite à la réalisation de la *FISH* sont représentées dans le (*Tableau V*) (*figure 27*) ; la délétion *5q-* est la plus dominante avec un total de *10* patients sur *27* soit *37* % (*figure 28*), suivie par les délétions *7q*(*figure 29*) , *17 p (p53)* (*figure 30*) et *11q ( MLL)* avec *11.1* %, puis *7.4* % de délétions *20q* (*figure 31*) et *3.7* % de monosomie *5* et *20* .



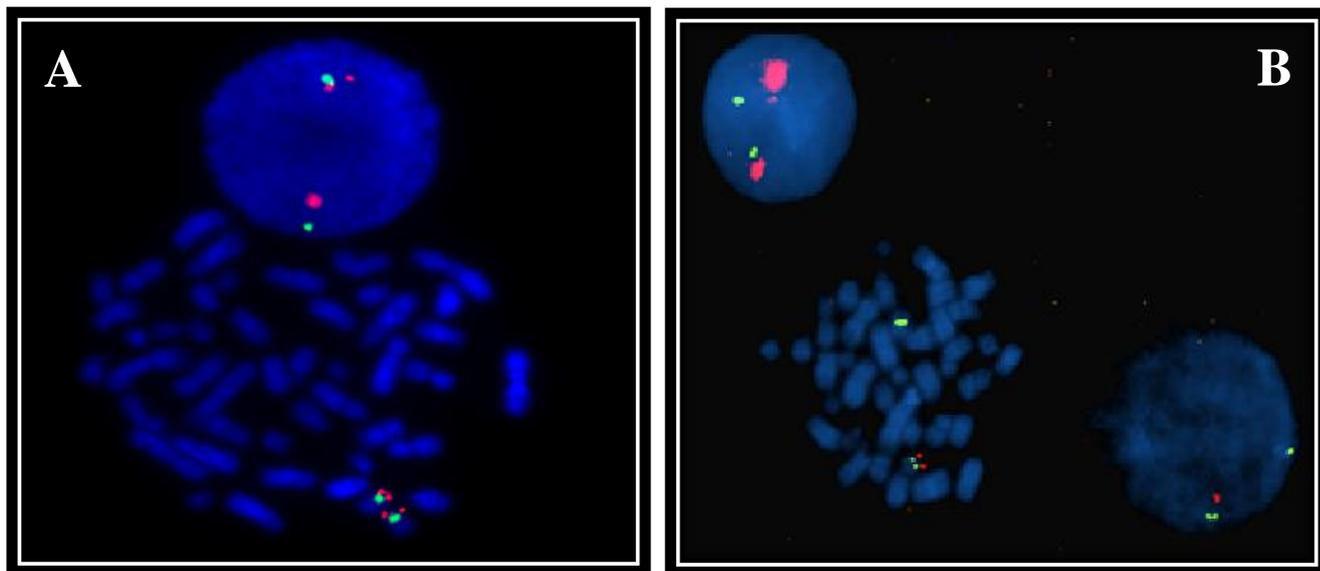
**Figure 28:** MDS : FISH :chromosome 5 (A et B) G×100 (Originale)

*A* : FISH :chromosome 5 normal ; *B* : FISH : deletion du chromosome 5 (*q31 –q33*)



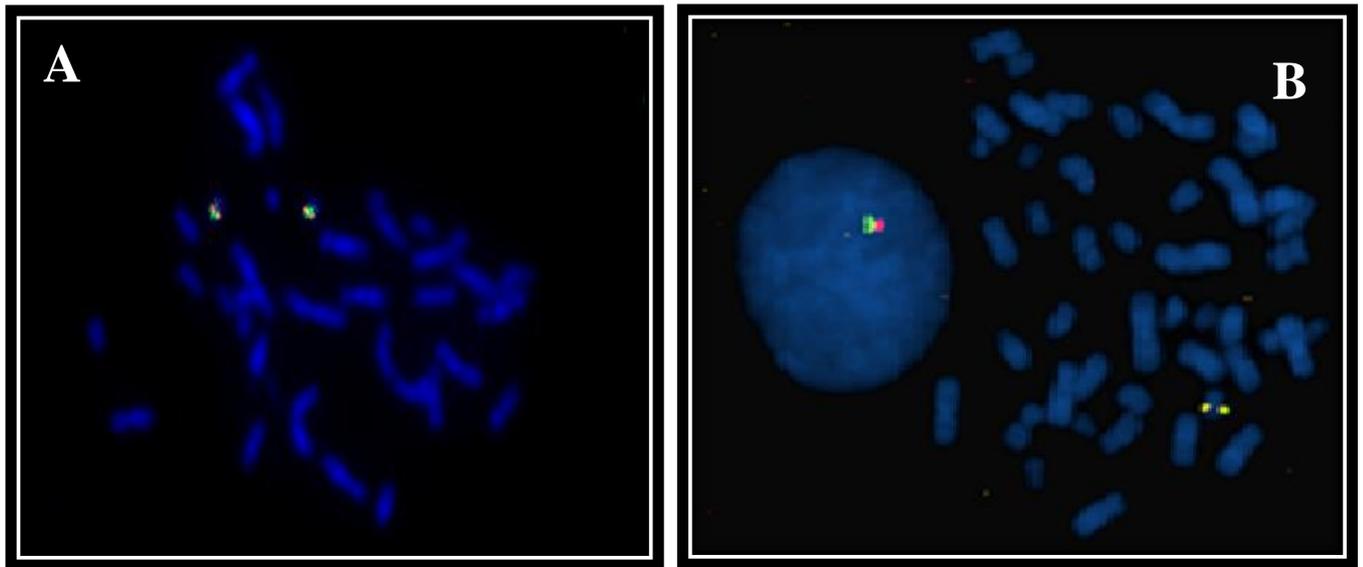
**Figure 29 :** MDS : FISH :chromosome 7 (A et B) G×100 (Originale)

**A :** FISH :chromosome 7 normal ; **B :** FISH : deletion du chromosome 7(q22-q31) .



**Figure 30 :** MDS : FISH :chromosome 17 (A et B) G×100 (Originale)

**A :** FISH :chromosome 17 normal ; **B :** FISH : deletion du chromosome 17 p (*del p( 53 )* ) .



**Figure 31:** MDS : FISH :chromosome 20 (A et B) G×100 (Originale)

**A :** FISH :chromosome 20 normal ; **B :** FISH : deletion du chromosome 20 (q12-q13) ).

### III .4.3. Anomalies cytogénétiques couplées par caryotype et FISH

Le caryotype ainsi que la **FISH** nous ont permis de classer nos patients selon les classifications cytogénétiques, en effet, dans notre étude, une absence d'anomalies au caryotype est retrouvée dans **55,5 %** des cas et confirmée par **FISH** dans **51.8 %** des cas.

Dans un caryotype normal, la **FISH** a objectivé deux anomalies cryptiques, une délétion **5q (del 5 q-)** associée à une délétion **17p (p53)**.

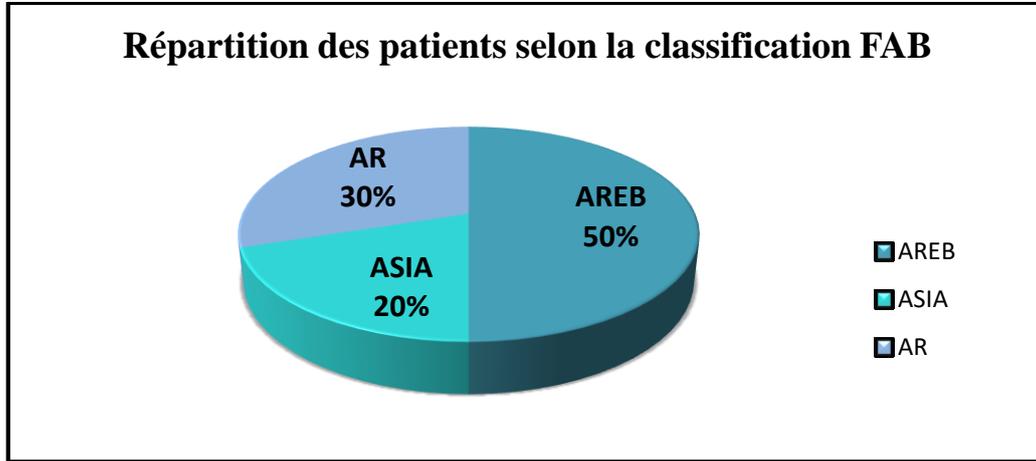
Chez **44,4 %** des patients dont le caryotype est pathologique, la **FISH** le confirme dans **83.3%** des cas, la **del 5q-** est retrouvée dans le caryotype chez **8** patients et confirmée par la **FISH** dans **100 %** des cas. La **del 7q** est constatée chez **3** patients dans le caryotype et confirmée chez **100 %** des cas par la **FISH**. Quant à la **del 20q** est observée chez **3** patients et confirmée par la **FISH** chez **2** patients sur **3**, alors que la **del 17p** est noté chez **2** patients dont une cryptique par **FISH** non détectée par le caryotype.

### III .5. Classification des syndromes myélodysplasiques

#### III .5.1. Classifications morphologiques

**30** patients ont bénéficié des classifications suivantes :

## a) Classification FAB



***Figure 32 : Répartition des patients selon la classification FAB***

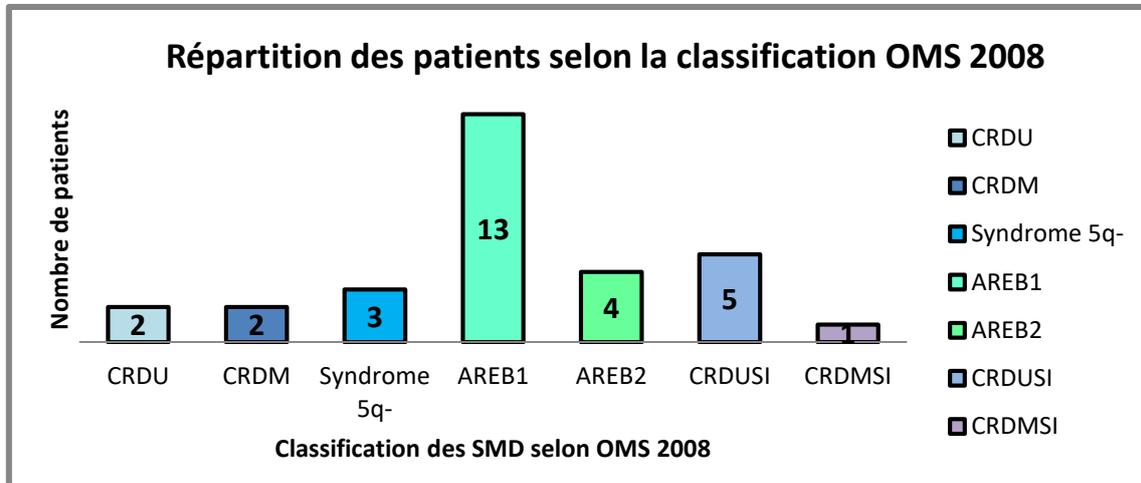
Selon l'ancienne classification du **FAB**, les résultats de notre étude illustrés dans le (tableau XXV) (Annexe 1) et (figure 32), montrent que **30 %** des cas sont des **AR** contre (46,8%, 51,3%, 67% et 29.6%) rapportés par (Greenberg et al ., 1997 ;Belli et al ., 2015 ;Voso et al .,2016 ;Bouchakor,2017).

**20 %** des cas sont des **ASIA** contre (20%, 10,9% , 6% et 17.1%) enregistrés par (Greenberg et al ., 1997 ;Belli et al ., 2015 ;Voso et al ., 2016 ;Bouchakor , 2017) et **50 %** des patients sont des **AREB** contre (33,1%, 21,4% , 27 % et 53.1% ) notés par (Greenberg et al ., 1997 ;Belli et al ., 2015 ;Voso et al ., 2016 ;Bouchakor , 2017).

Nous avons constaté que notre série d'étude se rapproche des résultats de la série **Algérienne** de (Bouchakor,2017 ) et comporte moins d'**AR** par rapport aux **3** séries internationales de (Greenberg et al .1997 ;Belli et al ., 2015 ;Voso et al .,2016). Toutefois, nos résultats rejoignent ceux de (Greenberg et al .,1997) pour les **ASIA** , alors qu'ils sont nettement supérieurs à ceux des séries de (Belli et al ., 2015 ;Voso et al .,2016 ;Bouchakor,2017).

Pour les **AREB**, nos résultats se rapprochent de ceux objectivés par (Bouchakor.,2017), cependant, moins d'**AREB** sont notés par rapport à la series de (Greenberg et al .,1997), ceci peut être justifier par le retard de consultation et le diagnostic très tardif de nos patients.

## b) Classification OMS 2008



**Figure 33** : Répartition des patients selon la classification OMS 2008

L'analyse des résultats de la répartition des patients selon la classification OMS 2008 représenté par le (tableau XXVI ), (tableau XXVII (Annexe 1) et (figure 33), indique que les CRDU sont à 6.6% des cas contre (44.2 % , 9% ,16,4% , 12% et 24.2 %) constaté par les études de (Bibi ., 2010), (Greenberg et al ., 1997 ;Achour et al ., 2015 ; Belli et al ., 2015 ;Bouchakor,2017) respectivement.

La CRDM représente 6.6 % de nos patients contre (47.1% ,47%, 40,4% , 66%, 42% , 48,5% et ,8.5%) des mêmes séries étudiées respectivement par (Bibi .,2010 ;Greenberg et al .,1997 ; Achour et al ., 2015 ;Ahnach et al .,2015 ; Belli et al.,2015 ;Voso et al .,2016 ;Bouchalkor,2017) .

Quant à la CRDUSI, elle est retrouvée chez 16.6% des cas contre (7% , 3,8% ,5% et 11.4 % ) observés par (Greenberg et al ., 1997 ;Achour et al ., 2015 ;Belli et al ., 2015 ;Bouchakor,2017) respectivement.

D'autre part, 56.6 % des patients sont classés AREB contre 20% de la série de (Ahnach et al .,2015) et 48.5 % pour (Bouchakor,2017). 43.3 % des cas sont des AREB1 contre (,15 % ,2.9 % 12,5% , 13,2% , 20% , 15% et 21.4%) des séries de (Greenberg et al .,1997 ; Bibi .,2010 ;Achour et al ., 2015 ;Ahnach et al .,2015 ;Belli et al ., 2015 ;Voso et al .,2016 ;Bouchakor,2017) respectivement.

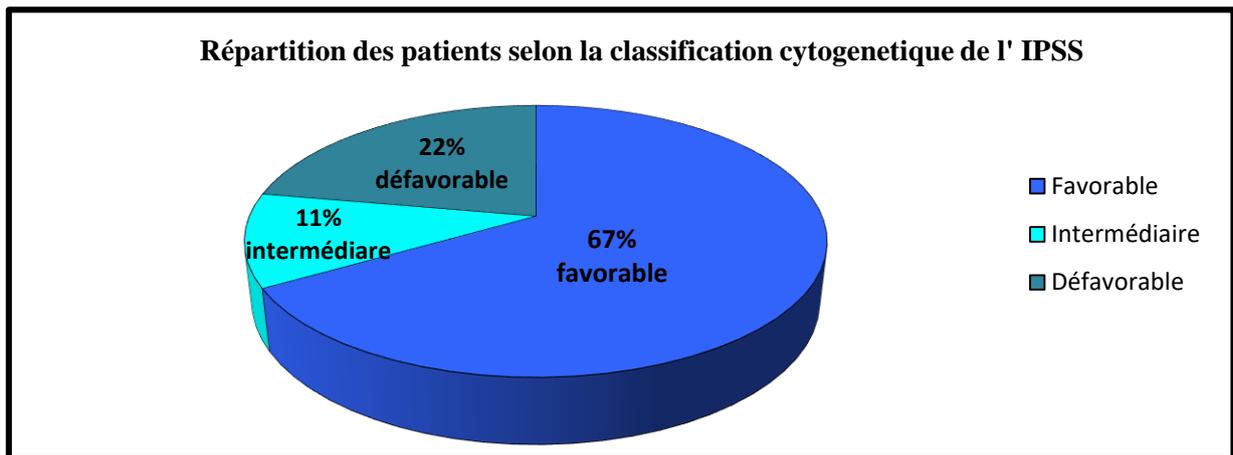
Un taux de **13.3 %** des cas sont des **AREB 2** contre (**18,5%,2.9 % 14,1%,16,4% ,12% et 27.1%** ) des séries de (**Greenberg et al .,1997 ; Bibi ., 2010 ;Achour et al ., 2015 ;Belli et al ., 2015 ;Voso et al .,2016 ;Bouchakor,2017**) respectivement. Ceci confirme que notre étude comporte plus d'**AREB** par rapport aux données bibliographiques, c'est probablement dû au retard de consultation de nos patients.

Enfin, **10%** des cas sont des **SMD** avec **del 5q** isolée contre (**4%, 4 %, 3%, 4,1% ,7% et 2.8%**) cités par (**Greenberg et al ., 1997 ;Achour et al ., 2015 ;Ahnach et al .,2015 ;Belli et al ., 2015 ;Voso et al ., 2016 ; Bouchakor,2017**). Ces résultats se rapprochent des données de la littérature.

### III .5.2. Classifications cytogénétiques

**27** patients ont été classés selon les recommandations de l'**OMS** comme suit :

#### a) Classification cytogénétique de l'IPSS



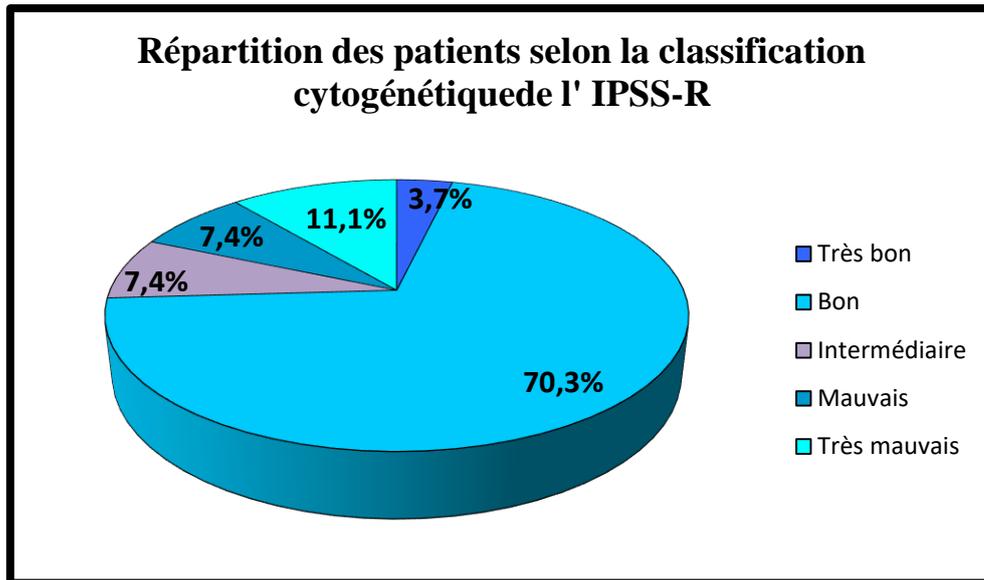
**Figure 34** : Répartition des patients selon la classification cytogénétique de l'IPSS

Selon la classification cytogénétique de l'IPSS (**Tableau XXVIII**)(**Annexe 1**) et (**figure 34**), il apparaît que **67 %** des cas représentent des risques cytogénétique favorable contre **59%** pour les séries Américaine de (**Greenberg et al ., 1997**), **69,4%** , Sud-Américaine de (**Belli et al ., 2015**) et Algérienne **63.4%** de (**Bouchakor, 2017**).

D'autre part, **11%** des cas ont des risques intermédiaires, contre **19%, 18,2% et 17.4%** respectivement des mêmes séries précédentes et **22 %** des cas ont des risques défavorables contre **22%, 12,4% 17.4 %** pour les séries (**Greenberg et al ., 1997 ;Belli et al .,2015 ;Bouchakor , 2017**) respectivement.

**2** patients sur **3** ont une cytogénétique favorable et **1** patient sur **3** ont des risques intermédiaires et défavorables, ceci concorde avec les données bibliographiques.

## b) Classification cytogénétique IPSS-R



**Figure 35 : Répartition des patients selon la classification cytogénétique de l' IPSS-R**

Selon la classification **IPSS-R** représentée par le (Tableau XXIX) (Annexe 1) et (figure35), un taux de **3,7%** de nos patients sont classés en **très bon risque** contre **4%** cités par (Greenberg et al ., 2012), **3%** par (Voso et al ., 2016) et **3.1%** pour la série de (Bouchakor , 2017).

Par ailleurs, **70.3%** sont de **bon risque** contre (**72%** ,**77%** et **68.2**) rapportés respectivement par les trois séries de (Greenberg et al ., 2012 ;Voso et al ., 2016 ;Bouchakor , 2017) .

**7.4 %** des cas ont un risque intermédiaire contre (**13%**, **16,7%** et **11.1%**) respectivement enregistrés par les mêmes auteurs cités au-dessus, tandis que **7,4 %** des cas ont un mauvais risque contre (**4%**, **5,4%** et **6.3 %**) rapportés respectivement par les mêmes séries de (Greenberg et al ., 2012 ;Voso et al ., 2016 ;Bouchakor , 2017) .

Enfin **11,1%** des cas ont un très mauvais risque contre (**7%**, **5,9%** et **11.1%**) trouvés respectivement par les auteurs précédents. Ceci confirme que les **2 patients sur 3** de notre étude, représente un **bon risque** cytogénétique comme prouvé dans la littérature.

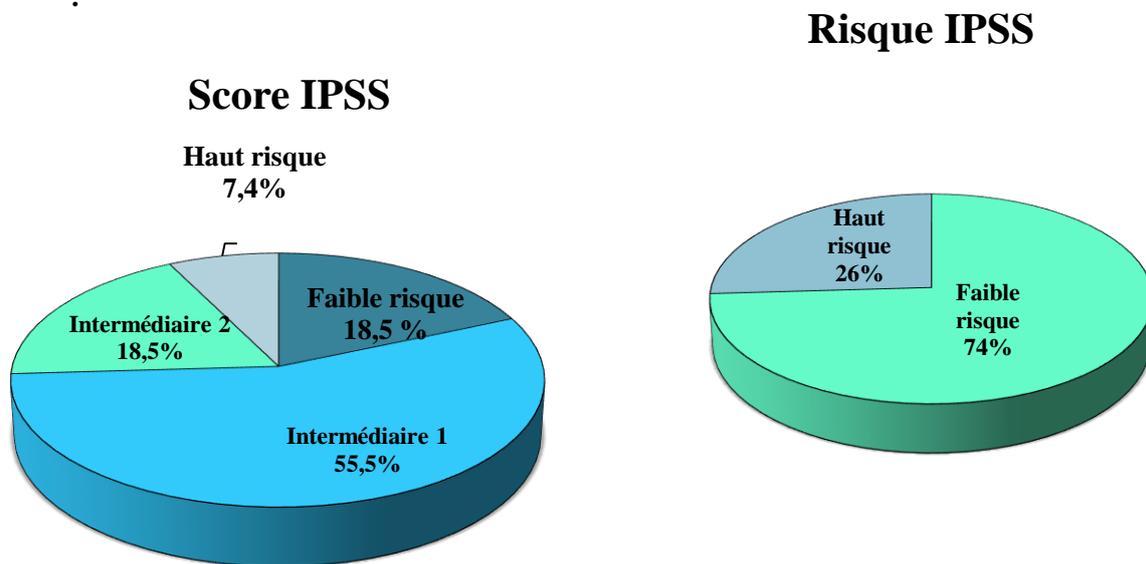
## II .5.3 Classifications pronostiques

## a) Score IPSS

**27 patients sur 30** ont été classés selon le **Score IPSS** sont représentés par le **Tableau VI et Figure 35**

**Tableau VI : Répartition des patients selon le score IPSS**

<i>Score IPSS</i>	<i>Nombre des patients</i>	<i>Patients (%)</i>
<i>Faible risque (score 0)</i>	5	18,5
<i>Intermédiaire 1</i>	15	55,5
<i>Score 0.5</i>	9	33,3
<i>Score 1</i>	6	22,2
<i>Intermédiaire 2</i>	5	18,5
<i>Score 1.5</i>	1	3,7
<i>Score 2</i>	4	14,8
<i>Haut risque</i>	2	7,4
<i>Score 2.5</i>	0	0
<i>Score 3</i>	2	7,4

**Figure 36 : Classification des SMD selon le score IPSS et le risque IPSS**

27 patients l'équivalent de (90 %) sont classés selon l'IPSS en **Faible risque**, dans 18.5 % des cas contre (37%, 32,8% ,11%, 32,6%, 43% et 28.5%) des séries de (Greenberg et al ., 1997 ;Achour et al ., 2015 ;Ahnach et al ., 2015 ;Belli et al ., 2015 ;Voso et al ., 2016 ;Bouchakor , 2017) respectivement.

Pour les risques intermédiaires 1 ils sont évalués à 55.5 % (dont 33,3 % avec un score de 0.5 et 22.2 % avec un score de 1 contre (40%, 36,8% , 56%, 43,4% ,40% et 41.2%) rapportés respectivement par les études de (Greenberg et al ., 1997 ;Achour et al ., 2015 ;Ahnach et al ., 2015 ;Belli et al ., 2015 ;Voso et al ., 2016 ;Bouchakor , 2017).

Les risques intermédiaires 2 sont estimés à **18.5 %** des cas (dont **3.7 %** avec un score de **1.5** et **14.8 %** avec un score de **2**) contre (**16%,11,8%,16%,14,5%,14%** et **25.3%**) respectivement pour les séries de (**Greenberg et al ., 1997 ;Achour et al ., 2015 ;Ahnach et al ., 2015 ;Belli et al ., 2015 ;Voso et al ., 2016 ;Bouchakor , 2017**).

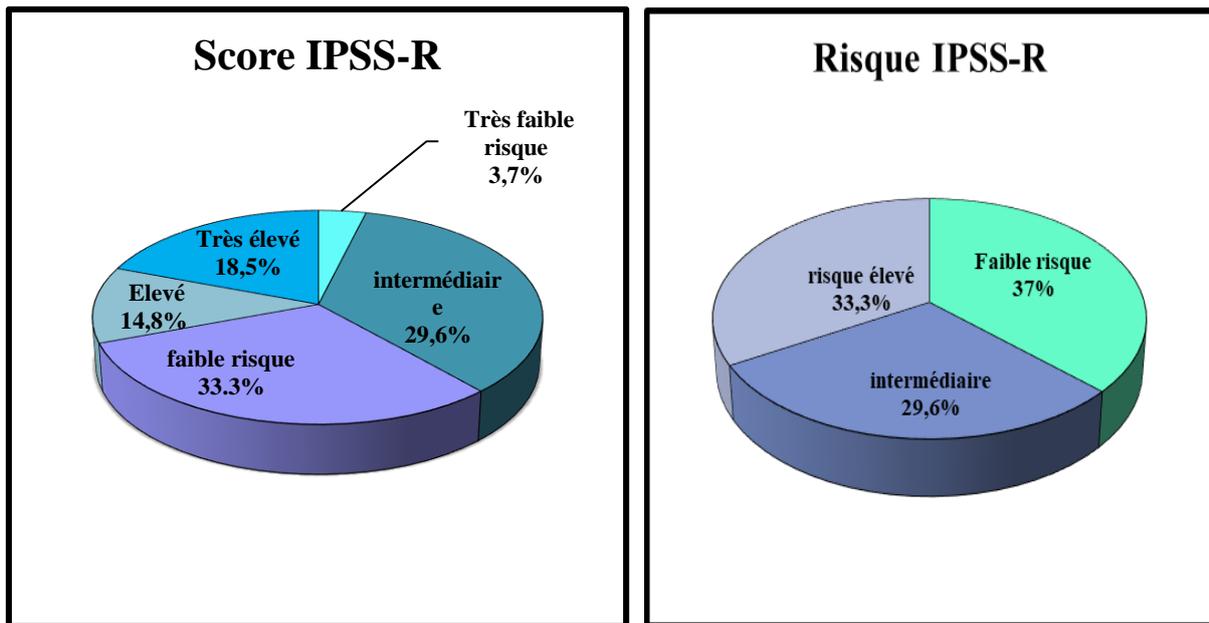
Les hauts risques sont à **7,4 %** (tous avec un score de **3**) contre (**7%, 6,3% ,16%, 9,6%, 3%** et **4.7%**) observés par (**Greenberg et al .,1997 ;Achour et al ., 2015 ;Ahnach et al .,2015 ;Belli et al .,2015 ;Voso et al .,2016 ;Bouchakor,2017**).

Ainsi, grâce au score **IPSS** nous avons pu classer les **SMD** en faible risque (faible risque + intermédiaire 1) et haut risque (intermédiaire 2 + haut risque). En effet, **74%** de nos patients sont classés en faible risque et **26 %** en haut risque (*figure 36*).

#### *b) Score IPSS-R*

**Tableau VII : Répartition des patients selon le score IPSS-R**

<b>Score IPSS-R</b>	<b>Nombre de patients</b>	<b>Patients (%)</b>
<b>Très faible risque</b>	<b>1</b>	<b>3,7</b>
<b>Score 1</b>	<b>1</b>	<b>3,7</b>
<b>Score 1.5</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>Faible risque</b>	<b>9</b>	<b>33,3</b>
<b>Score 2</b>	<b>1</b>	<b>3,7</b>
<b>Score 2.5</b>	<b>3</b>	<b>11,1</b>
<b>Score 3</b>	<b>5</b>	<b>18,5</b>
<b>Intermédiaire</b>	<b>8</b>	<b>29,6</b>
<b>Score 3.5</b>	<b>1</b>	<b>3,7</b>
<b>Score 4</b>	<b>4</b>	<b>14,8</b>
<b>Score 4.5</b>	<b>3</b>	<b>11,1</b>
<b>Elevé</b>	<b>4</b>	<b>14,8</b>
<b>Score 5</b>	<b>2</b>	<b>7,4</b>
<b>Score 5.5</b>	<b>1</b>	<b>3,7</b>
<b>Score 6</b>	<b>1</b>	<b>3,7</b>
<b>Très élevé</b>	<b>5</b>	<b>18,5</b>
<b>Score 6.5</b>	<b>1</b>	<b>3,7</b>
<b>Score 7</b>	<b>1</b>	<b>3,7</b>
<b>Score 7.5</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>Score 8</b>	<b>2</b>	<b>7,4</b>
<b>Score 8.5</b>	<b>1</b>	<b>3,7</b>
<b>Score 9</b>	<b>0</b>	<b>0</b>



**Figure 37:** Classification des SMD selon le score IPSS-R et le risque IPSS-R

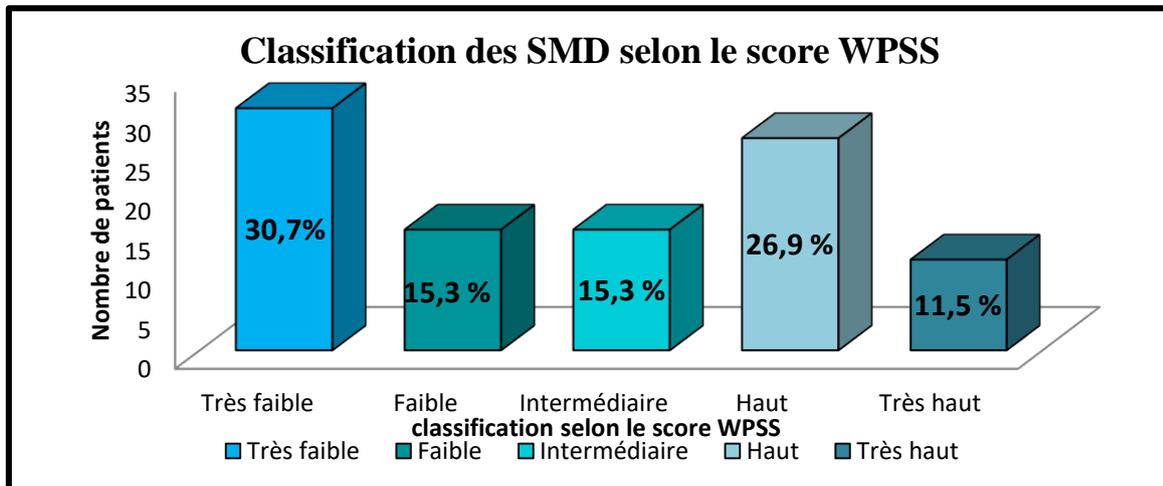
27 patients soit 90% des cas sont classés selon l'IPSS-R (Tableau VII) et (figure 37) comme suit :

- ✓ Très faible risque dans 3.7 % des cas contre (19%, 5.1%, 38% et 4.7%) rapportés respectivement par (Greenberg et al ., 2012 ;Achour et al ., 2015 ;Voso et al .,2016 ;Bouchakor , 2017).
- ✓ En faible risque dans 33.3 % des cas contre 38%,30,4%,38,1 ,33% et 33.3% des études de (Greenberg et al .,2012 ;Achour et al ., 2015 ;Belli et al ., 2015 ;Voso et al ., 2016 ;Bouchakor , 2017) respectivement.
- ✓ Risque intermédiaire dans 39.6 % des cas contre (20%, 30.1%, 17.9% ,18% et 25.3 % ) pour respectivement (Greenberg et al .,2012 ;Achour et al ., 2015 ;Belli et al ., 2015 ;Voso et al ., 2016 ;Bouchakor , 2017).
- ✓ Risque élevé dans 14.8 % des cas contre (13%, 12.9%, 13.6 % , 7% et 7.9%) respectivement pour les mêmes auteurs précédemment cités.
- ✓ Risque très élevé dans 18 % des cas contre (10%,9.2%, 12.1% ,4% et 28.5%) pour (Greenberg et al ., 2012 ;Achour et al ., 2015 ;Belli et al ., 2015 ;Voso et al .,2016 ;Bouchakor,2017) respectivement.

Grâce au score *IPSS-R* illustré par la *figure 36*, il apparaît 33.3 % des *SMD* sont classés en risque élevé, 29.6% en risque intermédiaire et 37% en faible risque.

## C) Score WPSS

27 patients sont classés selon la classification WPSS



**Figure 38 : Classification des SMD selon le score WPSS**

Environ **86.6%** l'équivalent de **27** patients, sont classé selon le score **WPSS** représentés par le (tableau XXX)(Annexe 1) (figure 38), dont **30,7%**, **6%** et **31.7%** des cas sont classés en très faible risque contre **17,8%**, trouvés par (Belli et al ., 2015 ;Voso et al .,2016 ;Bouchakor ., 2017).

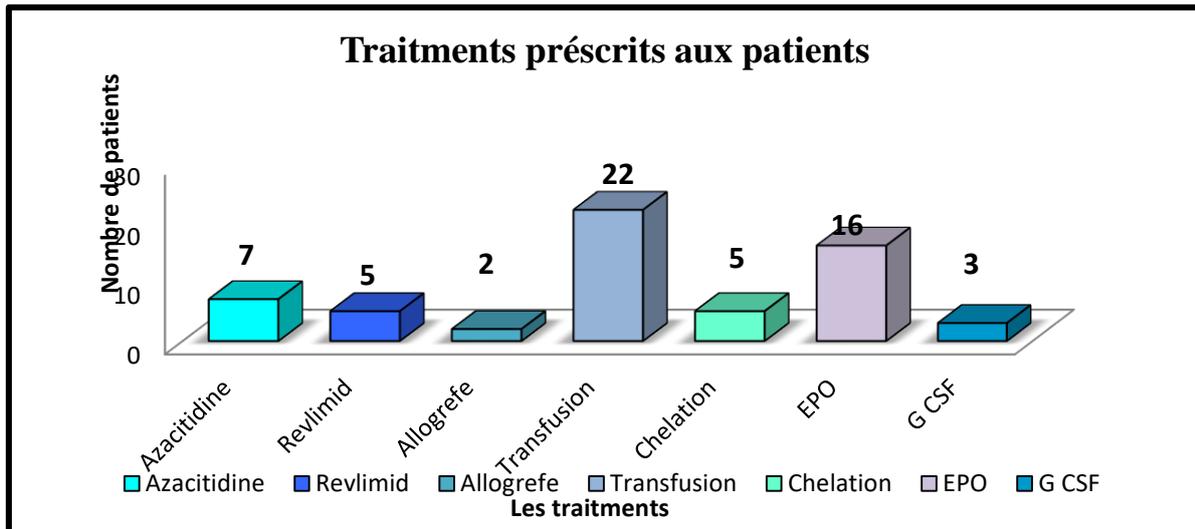
**15.3 %** sont classés en faible risque contre **39,8%**, **55%** et **14.2%** respectivement pour les séries de (Belli et al ., 2015 ;Voso et al ., 2016 ;Bouchakor,2017).

Un taux de **15.3%** des cas sont de risque intermédiaire contre **18,6%** , **17%** et **11.1%** pour les même auteurs cités au-dessus, tandis que **26,9 %** sont classés comme haut risque contre **12,8%** (Belli et al ., 2015), **17 %** (Voso et al .,2016 ) et **26.5 %** (Bouchakor,2017 ).

Enfin, **11.5%** des cas sont classés de très haut risque vs (**11%**, **4%** et **15.8%**) rapportés par les études de (Belli et al ., 2015 ;Voso et al ., 2016 ;Bouchakor , 2017) respectivement .

### III .6. Prise en charge thérapeutique

Les patients ont été stratifiés selon les différentes classifications, afin d'améliorer la prise en charge thérapeutique selon les recommandations de l'OMS.



**Figure 39 : Traitements prescrits aux patients**

a). Traitement des patients à faibles risques

Dans notre étude, **22 patients sur 30 environ (73.3 %)** (*SMD* de faible risque), ont bénéficié d'un support transfusionnel.

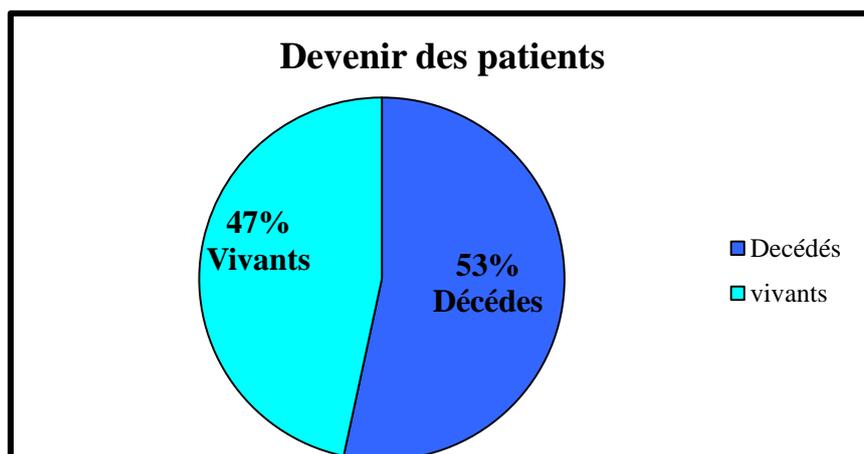
- Les agents stimulateurs de l'érythropoïèse : **16 patients** ont reçu de *l'EPO*.
- **5 patients** avec une (*del 5 q -*) ont reçu du *Revlimid*.
- **5 patients** ont été chélatés.
- **3 patients** ont reçu des facteurs de croissance *G-CSF (Granulocyte colony-stimulating factor.)*

b). Traitement des patients à haut risques

- **7 patients** de haut risque ont reçu de l'Azacitidine.
- **2 patients** ont bénéficié d'une allogreffe (*Tableau XXXI*) (*Annexe 1*)(*figure 39*).

II .6 .1 Devenir des patients

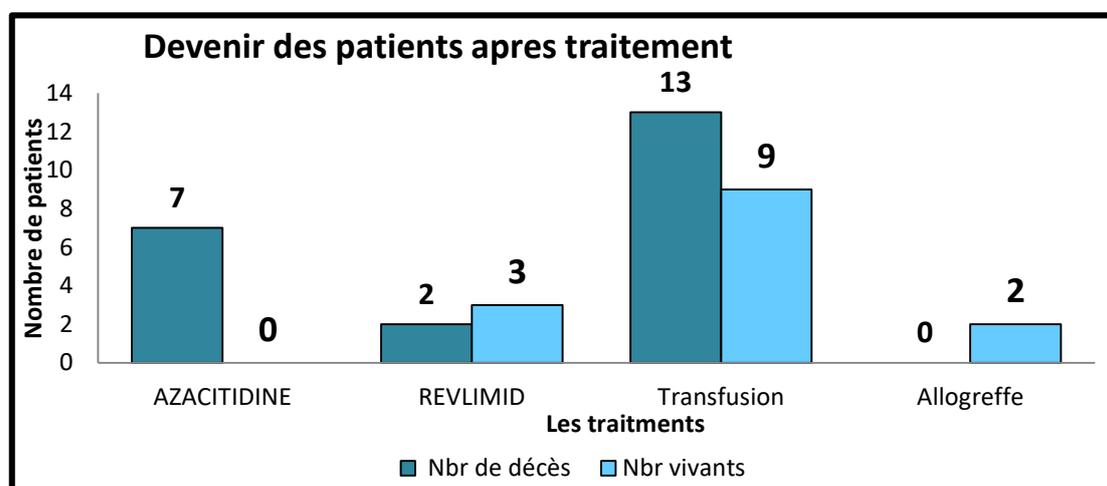
- **16 patients sur 30**, environ (**53.3%**) sont décédés pour différentes raisons.
- **14 patients sur 30**, environ (**46.6 %**) sont vivants (*Tableau VIII*) (*figure 40*).



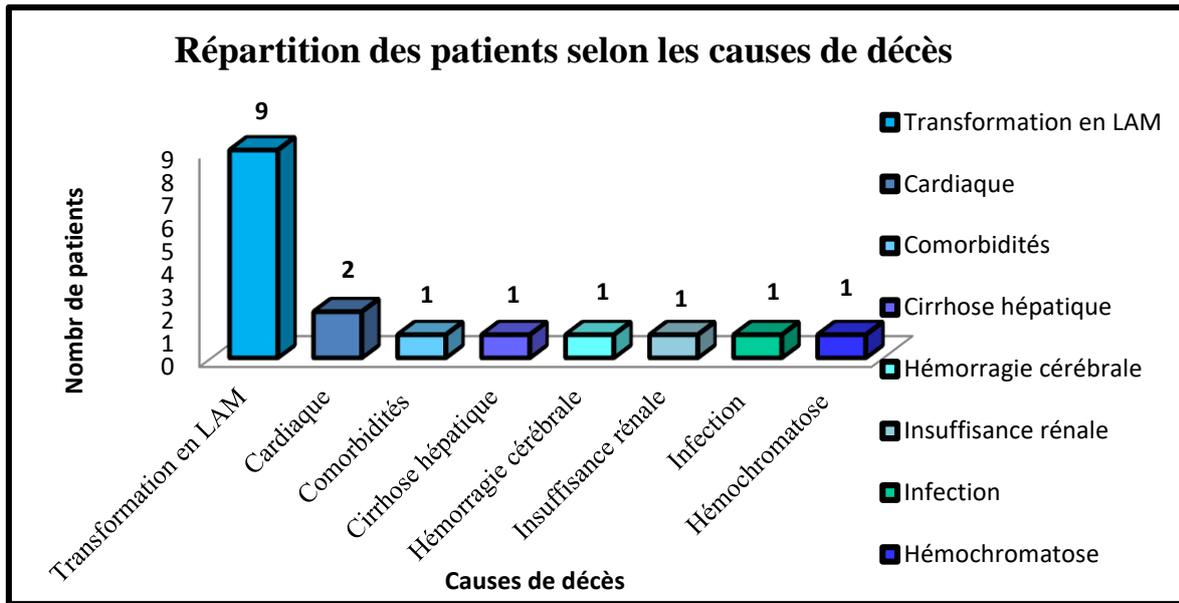
***Figure 40: Devenir des patients***

***Tableau VIII : Devenir des patients après traitement***

Traitements	Nombre de décès	Décès (%)	Nombre de vivants	Vivants (%)
<i>Azacitidine</i>	7	100	0	0
<i>Revlimid</i>	2	40	3	60
<i>Transfusion</i>	13	59	9	40.9
<i>Allogreffe</i>	0	0	2	100



***Figure 41 : Devenir des patients après traitement***



**Figure 42 : Répartition des patients selon les causes de décès**

**a). Evolution de la maladie**

Nous avons résumé ci-dessous le devenir de nos patients après le traitement, comme indiqué sur le (**Tableau XXXII**) (**Annexe 1**) et (**figure 42**) et nous avons conclu ce qui suit :

- **13** patients sur **22** ont bénéficié d'une transfusion sont décédés (**figure41**) dont :
  - ✓ **7** suite à une transformation en **LAM**.
  - ✓ **1** patient suite à une hémorragie cérébrale.
  - ✓ **1** patient dû à une insuffisance rénale.
  - ✓ **1** patient décédé par comorbidités.
  - ✓ **1** patient par une hémochromatose.
  - ✓ **1** patient décédé suite à une infection.
- Tous les patients, soit **100%** qui ont été bénéficié de l'Azacitidine sont décédés (**figure41**) dont :
  - ✓ **71,4 %** des cas, le décès était suite à une transformation en **LAM**.
  - ✓ **14,2%** suite aux comorbidités et à l'arrêt cardiaque.
- Pour le Revlimid sur les **5** patients, **2** sont décédés suite à un arrêt cardiaque et une cirrhose hépatique et **3** autres vivants dont **2** en **RHC** et un greffé (**figure41**).
- Les **2** patients allogreffés sont vivants (**figure 41**) .

# Conclusion et perspectives

## Conclusion et perspectives

- Au terme de ce travail, notre principal objectif est de montrer l'impact de la cytogénétique dans la stratification pronostique des syndromes myélodysplasiques, en s'appuyant sur les résultats des deux techniques distinctes mais complémentaires de la cytogénétique à savoir : la cytogénétique conventionnelle le Caryotype et moléculaire la *FISH*.

-L'analyse des données cliniques et biologiques qui a porté sur **30** patients atteints de SMD a fourni les résultats suivants :

- ❖ Une prédominance du sexe masculin avec une moyenne de **53.3 %** et un sex-ratio de **1.14**.
- ❖ Une incidence considérablement assignée à la tranche d'âge comprise entre **70** et **90** ans.
- ❖ Le tableau clinique est dominé par le syndrome anémique retrouvé chez **96.6 %** des patients.
- ❖ La cytopénie la plus décrite est l'anémie présente chez **100 %** des cas, suivie par la thrombopénie chez **73.3 %** et enfin, une leucopénie trouvée chez la moitié des cas (**50%**) .
- ❖ La cytologie sanguine et médullaire est très décisive dans le diagnostic des SMD par la mise en évidence des signes de dysmyélopoïèse, en multilignée chez **80 %** .et unilignée chez **20 %** dominés par la dysérythroïèse chez **83.3 %** des cas, la dysgranulopoïèse chez **16.6 %** et aucune dysmégacaryopoïèse (**0%**) .

-Les résultats obtenues suite à la réalisation du caryotype et de la *FISH* ont révélé que :

- ❖ Le caryotype est normale dans les SMD chez **55.5 %** des patients et pathologique chez **44.4 %**.Les résultats du caryotype ont été complétés par la réalisation de la *FISH*, qui en plus de confirmer les anomalies ciblées retrouvées au caryotype a détecté chez un patient avec caryotype normal, deux anomalies dites cryptiques, à savoir une *del 5q-* associée à une *del(p53)*.
- ❖ Les anomalies les plus décrites sont comme suit :

- La *del 5q* observée dans **33,3%**, alors que les *del 20q et 11q* sont constatée dans **11,1%**. Ceci a permis de les classer en risque favorable selon la classification cytogénétique IPSS et *bon* selon l'IPSS-R.

Ces données combinées aux résultats biologiques et cytologiques (les cytopénies et le taux de blastes) ont été d'une importance capitale pour établir les scores IPSS et IPSS-R et par conséquent classer ces patients en faibles risques. Un taux de **73.3 %** de ces derniers ont pu bénéficier d'une prise en charge thérapeutique adaptée, notamment la prescription de la thérapie ciblée, et l'immunomodulateur le Revlimid. De plus, **59 %** et **40 %** de décès ont été notés respectivement, au cours de l'évolution sous ces traitements suite aux transformations en LAM et comorbidités par une cardiopathie.

- La *del 7q* est retrouvée chez **11,1%** alors que la *del p53* est noté chez **3.7%**. Ces anomalies cytogénétiques de mauvais pronostiques ont été classées en *risque élevé* selon la classification cytogénétique IPSS, *mauvais* et *très mauvais* selon l'IPSS-R, dont **23.3%** de ces hauts risques avec un excès de blastes ont bénéficié de l'agent hypométhylant l'*Azacitidine*. Cependant, tous les patients sont décédés, dont **71.4 %** suite à une transformation en *LAM* et **14,2%** suite aux comorbidités et à un arrêt cardiaque.

Les autres anomalies se résument en des inversions chez **3.7 %** des cas et monosomies chez **6.1 %**.

En outre, le caryotype couplé à la *FISH*, nous ont permis de classer nos patients selon :

- La classification morphologique OMS en AREB 1 chez **43.3 %** des patients.
- La classification pronostique dont nous distinguons :
  - *IPSS* : **74%** en *faibles risques* et, **26 %** en *haut risque*
  - *IPSS-R* : **33.3 %** en *risque élever*, **29.6 %** en *risque intermédiaire* et **37 %** en *faible risque*.

- La totalité de ces résultats, soutient l'implication de la cytogénétique dans la stratification pronostique des SMD comme cela a été rapporté dans la littérature, avec actuellement des recommandations obligatoires pour la prise en charge des SMD.

- A l'issue de ces résultats on conclut les points suivants :

- Les données cytogénétiques sont l'un des piliers du pronostic des SMD qui permettent une classification pronostique.
  - Les anomalies cytogénétiques peuvent parfois être cryptiques, elles ne sont pas détectées dans un caryotype et nécessitent d'être complétées par la **FISH** pour une étude ciblée des chromosomes.
  - Le problème des SMD en Algérie réside dans le retard de consultation spécialisée, ce qui explique le pourcentage élevé des formes transformés dans notre cohorte.
- Actuellement et selon les nouvelles recommandations, le pronostic des SMD est influencé par les phénomènes moléculaires et mutationnels. De très nombreuses mutations touchent les SMD et ont un impact sur la réponse au traitement, d'où le nouveau score moléculaire. De ce fait, Il serait intéressant pour les jours à venir d'établir un profil moléculaire grâce aux outils technologiques de la biologie moléculaire entre autres **NGS** (séquençage de nouvelle génération) et d'intégrer ce dernier dans le bilan pré-thérapeutique des patients pour mieux guider le clinicien dans sa prise en charge.

# Références

- Abruzzese, E., Buss, D., Rainer, R., Pettenati, M. J., & Rao, P. N., (1996). Progression of a myelodysplastic syndrome to pre-B acute lymphoblastic leukemia: a case report and cell lineage study. *Annals of hematology.*, 73(1), p . 35-38.
- Achour,B., (2015) . Myelodysplastic syndromes in Tunisia: A multicenter study. *12 éme Congrès magrebin d'hématologie Tunisie Mai 2015.*
- Achour, B., (2016). Experience monocentrique dans la prise en charge des SMD Service hématologie clinique, hopital ziza Othmane Tunis. *36 éme congrés de la société française d'hématologie.*, p 09-12 .
- Adès, L., Itzykson, R., & Fenaux, P., (2014). Myelodysplastic syndromes. *The Lancet* ., 383(9936), p .2239-2252.
- Ahnach, M, Oukach,B, Hda, N et al . (2015). Clinical and cytogenetic features of 160 Moroccan patients with primary myelodysplastic syndrome: A single center experience. *12 éme Congrès magrebin d'hématologie Tunisie.*
- Akashi, K., Traver, D., Miyamoto, T., & Weissman, I. L., (2000). A clonogenic common myeloid progenitor that gives rise to all myeloid lineages. *Nature* ., 404(6774) , p . 193-197.
- Andrieu, V., & Benet, B., (2009). Classification des syndromes myélodysplasiques. *Revue francophone des laboratoires.*, 2009(413), p . 49-57.
- Aul, C., Gattermann, N., & Schneider, W., (1995). Epidemiological and etiological aspects of myelodysplastic syndromes. *Leukemia & lymphoma* ., 16(3-4), p. 247-262.
- Avet-Loiseau, H., (2000). Cytogénétique des hémopathies malignes.*Encyclopédie Médico-chirurgicale*, p. 1-7.
- Babushok, D. V., & Bessler, M., (2015). Genetic predisposition syndromes: when should they be considered in the work-up of MDS. *Best practice & research Clinical hematology.*, 28(1), p. 55-68.
- Bally, C., Adès, L., Renneville, A., Sebert, M., Eclache, V., Preudhomme, C. & Fenaux, P., (2014). Prognostic value of TP53 gene mutations in myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia treated with azacitidine. *Leukemia research.*, 38(7), p . 751-755.

- Baylin, S. B., (2005). DNA methylation and gene silencing in cancer. *Nature clinical practice oncology.*, 2(1), p. S4-S11.
- Bejar, R., & Abdel-Wahab, O., (2013). The importance of subclonal genetic events in MDS. *Blood.*, 122(22), p. 3550-3551.
- Bejar, R., Stevenson, K., Abdel-Wahab, O., Galili, N., Nilsson, B., Garcia-Manero, G., & Ebert, B.L., (2011). Clinical effect of point mutations in myelodysplastic syndromes. *New England Journal of Medicine.*, 364(26), p. 2496-2506.
- Bekadja et al , M., (2015). ÉTUDE SMD ALGÉRIE : Syndromes Myélodysplasiques en Afrique du Nord. 12 -ème congrès maghrébin 2015, Hammamet,Tunisie . <http://www.sth.tn/contenu/12-Hammamet-29-et-30-mai-2015/01-> .
- Belakehal S, Bekadja S, Touhami H, Hamladji RM, Mesli N, et al., (2006). Approche épidémiologique des syndromes myélodysplasiques en Algérie (1995 – 2005) . Travail coopératif et multicentrique. SAHTs.
- Bennett, J. M., Catovsky, D., Daniel, M. T., Flandrin, G., Galton, D. A. G., Gralnick, H. R., & Sultan, C., (1982). Proposals for the classification of the myelodysplastic syndromes. *British journal of haematology.*, 51(2), p. 189-199.
- Beran, M., Estey, E., O'brien, S. M., Giles, F. J., Roller, C. A., Kornblau, S., ... & Kantarjian, H. M., (1998). Results of topotecan single-agent therapy in patients with myelodysplastic syndromes and chronic myelomonocytic leukemia. *Leukemia & lymphoma .*, 31(5-6), p. 521-531.
- Beyne-Rauzy, O., Laurent, G., & Adoue, D., (2007). Syndromes myélodysplasiques de l'adulte. *Presse Médicale.*, 36(3), p. 481-491.
- Belli, C. B., Pinheiro, R. F., Bestach, Y., Larripa, I. B., da Silva Tanizawa, R. S., Alfonso, G & Negri Aranguren, P. (2015). Myelodysplastic syndromes in South America: A multinational study of 1080 patients. *American journal of hematology.*, 90 (10), p .851-858.
- Bernasconi, P., Cavigliano, P. M., Boni, M., Calatroni, S., Klersy, C., Giardini, I & Bernasconi, C. (2003). Is FISH a relevant prognostic tool in myelodysplastic syndromes with a normal chromosome pattern on conventional cytogenetics? A study on 57 patients. *Leukemia.*, 17(11), p.2107-2112.

- Benlazar, M., Hadjeb, A., Ouadah, F., Siali, N., Chereti, M., Maghraoui, A., Zemri, N., Zouaoui, Z., (2015). Hematology department, University of Sidi Bel Abbes, ALGERIA. 12<sup>ème</sup> Congrès magrebin d'hématologie Tunisie Mai.
- Bezzou, H. & Mesli, N. (2014). Therapeutic evaluation and overall survival in myélodysplastic syndromes surviving hematology CHU Telemcen. Service of hematology CHU Tlemcen Algeria.
- Bibi Ilham., (2010). Les syndromes myélodysplasiques à propos de 34 cas. Thèse Doctorat faculté de médecine et de pharmacie Fes (Maroc), P 141.
- Björk, J., Albin, M., Mauritzson, N., Strömberg, U., Johansson, B., & Hagmar, L., (2000). Smoking and myelodysplastic syndromes. *Epidemiology*, p. 285-291.
- BJÖRKMAN, S. E., (1956). Chronic refractory anemia with sideroblastic bone marrow: a study of four cases. *Blood.*, 11(3), p. 250-259.
- Bouchakor Moussa, Y., & Abad, M. T., (2018). Application de la cytogénétique aux syndromes myelodysplasiques. Thèse Doctorat faculté de médecine Blida (Alger) p-202.
- Bouchane, Z. (2014). Aspect cyto-hématologique des syndromes myélodysplasiques et leur impact pronostic. Thèse Doctorat faculté de médecine et pharmacie Rabat (Maroc) p-147.
- Boudard, D., Viallet, A., Piselli, S., Guyotat, D., & Campos, L., (2003). In vitro study of stromal cell defects in myelodysplastic syndromes. *Haematologica.*, 88(7), p. 827-829.
- Cazzola, M., Della Porta, M. G., & Malcovati, L., (2013). The genetic basis of myelodysplasia and its clinical relevance. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology.*, 122(25), p. 4021-4034.
- Cason, C. L., & Sample, J. G., (1995). Preparatory information for myelogram. *Journal of the American Association of Neuroscience Nurses.*, 27(3), p. 182-187.
- Chao, M. P., Seita, J., & Weissman, I. L., (2008). Establishment of a normal hematopoietic and leukemia stem cell hierarchy. In Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology. *Cold Spring Harbor Laboratory Press.*, 73, p. 439-449.

- Chen, L. J., Li, J. Y., Zhu, Y., Qiu, H. R., Pan, J. L., Wang, R., ... & Xue, Y. Q., (2007). Conventional and molecular cytogenetic features of myelodysplastic syndrome in China. *Experimental oncology.*, 29(3), p .299-303.
- Cherfi,N, Taoussi,S ,Djouabi,I, Abad M.T.(2017). cytogénétique en hématologie .Enjeux et methodes d'etude. Service Hématologie, Unité Cytogénétique EHS ELCC, CAC Blida.
- Chevassus-au-Louis, N., (2000). FISH, la renaissance de la cytogénétique. *Biofutur.*, 2000 (200), p. 18.
- Chung, Y. J., Robert, C., Gough, S. M., Rassool, F. V., & Aplan, P. D., (2014). Oxidative stress leads to increased mutation frequency in a murine model of myelodysplastic syndrome. *Leukemia research.*, 38(1), p. 95-102.
- Claessens, Y. E., & Fontenay-Roupie, M., (2002). Physiopathologie des syndromes myélodysplasiques. *Pathologie Biologie.*, 50(4), p. 261-267.
- Corey, S. J., Minden, M. D., Barber, D. L., Kantarjian, H., Wang, J. C., & Schimmer, A. D., (2007). Myelodysplastic syndromes: the complexity of stem-cell diseases. *Nature Reviews Cancer.*, 7(2), p. 118-129.
- Cortes, F., & Labastie, M. C., (2000). Contrôle moléculaire du développement du système hématopoïétique chez les vertébrés. *Médecine/sciences.*,16(2), p. 198-204.
- Dameshek, W., (1965). Sideroblastic anaemia: is this a malignancy. *British journal of hematology.*, 11(1), p. 52-58.
- Damm, F., Chesnais, V., Nagata, Y., Yoshida, K., Scourzic, L., Okuno, Y & Renneville, A., (2013). BCOR and BCORL1 mutations in myelodysplastic syndromes and related disorders. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology.*, 122(18), p. 3169-3177.
- Damm, F., Kosmider, O., Gelsi-Boyer, V., Renneville, A., Carbuccia, N., HidalgoCurtis, C., ... & Guerci-Bresler, A., (2012). Mutations affecting mRNA splicing define distinct clinical phenotypes and correlate with patient outcome in myelodysplastic syndromes. *Blood, the Journal of the American Society of Hematology.*, 119(14), p. 3211-3218.
- Della Porta, M. G., & Malcovati, L., (2011). Myelodysplastic syndromes with bone marrow fibrosis. *Haematologica.*, 96(2), p. 180-183.

- Desandes, E., Lacour, B., & Clavel, J., (2016). Les cancers des adolescents et des jeunes patients : vision épidémiologique et organisations des soins en France .*Bulletin du Cancer.*, 103(12), p. 957-965.
- Duchmann, M., Fenaux, P., & Cluzeau, T., (2015). Prise en charge des myélodysplasies. *Bulletin du Cancer.*, 102(11), p. 946-957.
- Dupont, J. M., (2008). Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology. <http://atlasgeneticsoncology.org>
- Esther N O., Francesco A., Nicola D R., et al.(2012) . Cytogénétic Analysis in Patients With Newly Diagnosed Myelodysplastic syndromes in Souther Italy . *Blood*, 120/5200 .
- Fenaux, P., & Ades, L., (2009). Traitement des syndromes myélodysplasiques. *Revue Francophone des Laboratoires.*, 2009(413), p. 77-85.
- Fenaux, P., & Adès, L., (2013). How we treat lower-risk myelodysplastic syndromes. *Blood, the Journal of the American Society of Hematology.*, 121(21), p .4280-4286.
- Fenaux , P ., & Dreyfus , F. (2006).Les syndromes myélodysplasiques de l'adulte Manuel FMC . *Hématologie*, 2(62), p. 122.
- Fenaux, P., & Chomienne, C., (1997). Facteurs de croissance hématopoïétiques. Une place dans le traitement des syndromes myélodysplasiques. *Hématologie.*, 3(2), p. 155-61.
- Fontenay, M., Raynaud, S., Eclache, C., Rose, C., Gardin, C., & Guerci, A., (2008). Consensus français sur les syndromes myélodysplasiques (SMD): diagnostic, classifications, traitement. Groupe Francophone des Myélodysplasies (GFM).
- Forghieri, F., Paolini, A., Morselli, M., Bigliardi, S., Bonacorsi, G., Leonardi, G.,& Colaci, E.,(2015). NPM1 mutations may reveal acute myeloid leukemia in cases otherwise morphologically diagnosed as myelodysplastic syndromes or myelodysplastic / myeloproliferative neoplasms. *Leukemia & lymphoma.*, 56(11), p. 3222-3226.
- Gauthier, J., Damaj, G., & Yakoub-Agha, I., (2015). Le traitement pré-greffe chez les patients atteints d'un syndrome myélodysplasique de haut risque. *Bulletin du Cancer.*, 102(4), p. 340-348.

- Germing, U., Strupp, C., Kundgen, A., Bowen, D., Aul, C., Haas, R., & Gattermann, N., (2004). No increase in age-specific incidence of myelodysplastic syndromes. *Haematologica.*, 89(8), p. 905-910.
- Gerstung, M., Pellagatti, A., Malcovati, L., Giagounidis, A., Della Porta, M. G., Jädersten, M., & Killick, S., (2015). Combining gene mutation with gene expression data improves outcome prediction in myelodysplastic syndromes. *Nature communications.*, 6(1), p. 1-11.
- Giralt, S. A., Horowitz, M., Weisdorf, D., & Cutler, C., (2011). Review of stem-cell transplantation for myelodysplastic syndromes in older patients in the context of the Decision Memo for Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Myelodysplastic Syndrome emanating from the Centers for Medicare and Medicaid Services. *Journal of clinical oncology.*, 29(5), p .566.
- Gore, S. D., Fenaux, P., Santini, V., Bennett, J. M., Silverman, L. R., Seymour, J. F. & List, A. F., (2013). A multivariate analysis of the relationship between response and survival among patients with higher-risk myelodysplastic syndromes treated within azacitidine or conventional care regimens in the randomized AZA-001 trial. *Hematological.*, 98(7), p . 1067-1072.
- Graubert, T. A., Shen, D., Ding, L., Okeyo-Owuor, T., Lunn, C. L., Shao, J., & McLellan, M. D., (2012). Recurrent mutations in the U2AF1 splicing factor in myelodysplastic syndromes. *Nature genetics.*, 44(1), p. 53.
- Greenberg, P., Cox, C., LeBeau, M. M., Fenaux, P., Morel, P., Sanz, G., & Ohyashiki, K., (1997). International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology.*, 89(6), p.2079-2088.
- Greenberg, P., Stone, R. M., Al-Kali, A., Barta, S. K., Bejar, R., Bennett, J. M., & Fathi, A. T., (2017). Myelodysplastic syndromes, version 2.2017, NCCN clinical practice guidelines in oncology. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network.*, 15(1), p. 60-87.
- Greenberg, P., Tuechler, H., Schanz, J., Sanz, G., Garcia-Manero, G., Solé, F., & Kantarjian, H., (2012). Revised international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes. *Blood.*, 120(12), p. 2454-2465.
- Greenberg, P., Tuechler H, Schanz J , et al. (2012). Revised International Pronostic Scoring System (IPSS-R). *Blood.*,3, p. 420-489.

- Haase, D., Germing, U., Schanz, J., Pfeilstöcker, M., Noesslinger, T., Hildebrandt, B & Aul, C. (2007). New insights into the prognostic impact of the karyotype in MDS and correlation with subtypes: evidence from a core dataset of 2124 patients. *Blood.*, 110(13), p.4385-4395.
- Hagiwara, S., Yuo, A., Miwa, A., Takezako, N., Hirano, N., & Togawa, A., (1998). A rare atypical myeloproliferative-disorder-like hemopathy with marked dysplasia, peripheral dominant myeloblast proliferation and extramedullary hematopoiesis was converted into typical acute myeloid leukemia with an interval of complete hematological remission. *International journal of hematology.*, 67(4),p. 411-416.
- Hellström-Lindberg, E., & Cazzola, M., (2008). The role of JAK2 mutations in RARS and other MDS. *ASH Education Program Book.*, 2008(1), p. 52-59.
- Imbert, M., & El Khoury, M., (2006). Coloration de May-Grünwald-Giemsa. *Biologie clinique*. Edition Elsevier, Masson.
- <http://www.emc-consulte.com/articleFrame.jsp>.
- Imyanitov, E. N., Togo, A. V., & Hanson, K. P., (2004). Searching for cancer-associated gene polymorphisms: promises and obstacles. *Cancer letters.*, 204(1), p. 3-14.
- Itzykson, R, Fenaux.P.,(2017). Prognosis of myelodysplastic syndromes. *Correspondances en Onco-Hématologie.*, 12(1), p.2272-1894.
- Itzykson, R., Kosmider, O., Cluzeau, T., Mansat-De Mas, V., Dreyfus, F., BeyneRauzy, O., & Preudhomme, C., (2011). Impact of TET2 mutations on response rate to azacitidine in myelodysplastic syndromes and low blast count acute myeloid leukemias. *Leukemia.*, 25(7), p.1147-1152.
- Itzykson, R., Thépot, S., Quesnel, B., Dreyfus, F., Beyne-Rauzy, O., Turlure, P., & Delaunay, J., (2011). Prognostic factors for response and overall survival in 282 patients with higher-risk myelodysplastic syndromes treated with azacitidine. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology.*, 117(2), p.403-411.
- Jaffe, E. S. (Ed.), (2001). Pathology and genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. *World health organization classification of tumours ., Vol. 3. Iarc.*

- Jaffray, J. Y., Giollant, M., Perissel, B., & Vago, P., (2002). Du caryotype «monocouleur» au caryotype «multicouleur»: applications de la M-Fish en hématologie et en oncologie. *Bulletin du cancer.*, 89(2), p. 174-80.
- Jiang, Y., Dunbar, A., Gondek, L. P., Mohan, S., Rataul, M., O'Keefe, C., & Maciejewski, J. P., (2009). Aberrant DNA methylation is a dominant mechanism in MDS progression to AML. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology.*, 113(6), p.1315-1325.
- Kantarjian, H., Fenaux, P., Sekeres, M. A., Becker, P. S., Boruchov, A., Bowen, D., & Shammo, J., (2010). Safety and efficacy of romiplostim in patients with lower-risk myelodysplastic syndrome and thrombocytopenia. *Journal of Clinical Oncology.*, 28(3), p.437-444.
- Kikuchi, S., Kobune, M., Iyama, S., Sato, T., Murase, K., Kawano, Y., & Sato, Y., (2012). Improvement of iron-mediated oxidative DNA damage in patients with transfusion-dependent myelodysplastic syndrome by treatment with deferasirox free radical. *Biology and Medicine.*, 53(4), p. 643-648.
- Kode, A., Manavalan, J. S., Mosialou, I., Bhagat, G., Rathinam, C. V., Luo, N., & Brum, A., (2014). Leukaemogenesis induced by an activating  $\beta$ -catenin mutation in osteoblasts. *Nature.*, 506(7487), p.240-244.
- Krause, H., Manz, M. G., & Gerber, B., (2013). Syndrome myélodysplasique : physiopathologie, diagnostic et traitement. *In Forum Médical Suisse.*, 13 (2728), p. 548-557.
- Lafage-Pochitaloff, M., (1995). Apport de l'hybridation in situ en fluorescence (FISH) en cytogénétique hématologique. *Hématologie.*, 1(4), p.313-8.
- Lafage-Pochitaloff, M., (2003). Notions de base en cytogénétique conventionnelle et moléculaire : application au diagnostic des hémopathies malignes. *Pathologie et biologie.*, 51(6), p. 307-311.
- Layton, D. M., & Mufti, G. J., (1986). Myelodysplastic syndromes: their history, evolution and relation to acute myeloid leukaemia. *Blut.*, 53(6), p. 423-436.
- Lazarus, H. M., & Schmaier, A. H. (Eds.), (2018). Concise guide to hematology. *Springer.*, 21(6), p.233-252.

- Lessard, M., Hélias, C., Struski, S., Perrusson, N., Uettwiller, F., Mozziconacci, M. J., & Cornillet-Lefebvre, P., (2007). Fluorescence in situ hybridization analysis of 110 hematopoietic disorders with chromosome 5 abnormalities: do de novo and therapy-related myelodysplastic syndrome–acute myeloid leukemia actually differenciation. *Cancer genetics and cytogenetics.*, 176(1), p. 1-21.
- Levine, E. G., & Bloomfield, C. D., (1992). Leukemias and myelodysplastic syndromes secondary to drug, radiation, and environmental exposure. *In Seminars in oncology.*, 19(1), p. 47-84.
- Linman, J. W., & Bagby Jr, G. C., (1978). The preleukemic syndrome (hemopoietic dysplasia). *Cancer.*, 42(S2), p.854-864.
- Lodé, L., & Avet-Loiseau, H., (2007). Anomalies chromosomiques et géniques dans les hémopathies malignes. Encyclopédie Médico-chirurgicale -Edition Elsevier Masson SAS, Paris.
- Loghavi, S., Al Ibraheemi, A., Zuo, Z., Garcia Manero, G., Yabe, M., Wang, S. A., & Medeiros, L. J., (2015). TP 53 overexpression is an independent adverse prognostic factor in de novo myelodysplastic syndromes with fibrosis. *British journal of haematology.*, 171(1), p.91-99.
- Loken, M. R., van de Loosdrecht, A., Ogata, K., Orfao, A., & Wells, D. A., (2008). Flow cytometry in myelodysplastic syndromes: report from a working conference. *Leukemia research.*, 32(1), p. 5-17.
- Lowenthal, R. M., & Marsden, K. A., (1997). Myelodysplastic syndromes. *International journal of hematology.*, 65(4), p.319-338.
- Ma, X., Does, M., Raza, A., & Mayne, S. T. (2007). Myelodysplastic syndromes: incidence and survival in the United States. *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society.*, 109(8), p. 1536-1542.
- Mattei, M. G., & Mattei, J. F., (1986). L'hybridation in situ en cytogénétique. *Médecine /Science.*,1(2), p.35-41.
- Malcovati, L., Della Porta, M. G., Strupp, C., Ambaglio, I., Kuendgen, A., Nachtkamp, K., & Germing, U., (2011). Impact of the degree of anemia on the outcome of patients with

myelodysplastic syndrome and its integration into the WHO classification-based Prognostic Scoring System (WPSS). *Haematologica.*, 96(10), p. 1433-1440.

- Malcovati, L., Papaemmanuil, E., Bowen, D. T., Boultonwood, J., Della Porta, M. G., Pascutto, C., & Galli, A., (2011). Clinical significance of SF3B1 mutations in myelodysplastic syndromes and myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology.*, 118(24), p.6239-6246.

- Navarro, I., Ruiz, M. A., Cabello, A., Collado, R., Ferrer, R., Hueso, J & Nolasco, A. (2006). Classification and scoring systems in myelodysplastic syndromes: a retrospective analysis of 311 patients. *Leukemia research.*, 30(8), p. 971-977.

- Nazha, A., Narkhede, M., Radivoyevitch, T., Seastone, D. J., Patel, B. J., Gerds, A. T., & Carraway, H. E., (2016). Incorporation of molecular data into the Revised International Prognostic Scoring System in treated patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia.*, 30(11), p. 2214-2220.

- Neukirchen, J., Schoonen, W. M., Strupp, C., Gattermann, N., Aul, C., Haas, R., & Germing, U., (2011). Incidence and prevalence of myelodysplastic syndromes: data from the Düsseldorf MDS-registry. *Leukemia research.*, 35(12), p. 1591-1596.

- Nilsson, L., strand-Grundström, I., Arvidsson, I., Jacobsson, B., HellströmLindberg, E., Hast, R., & Jacobsen, S. E., (2000). Isolation and characterization of hematopoietic progenitor/stem cells in 5q-deleted myelodysplastic syndromes: evidence for involvement at the hematopoietic stem cell level. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology.*, 96(6), p.2012-2021.

- Nisse, C., Lorthois, C., Dorp, V., Eloy, E., Haguenoer, J. M., & Fenaux, P., (1995). Exposure to occupational and environmental factors in myelodysplastic syndromes. Preliminary results of a case-control study. *Leukemia.*, 9(4), p.693-699.

- Park, S., Grabar, S., Kelaidi, C., Beyne-Rauzy, O., Picard, F., Bardet, V., & Cheze, S., (2008). Predictive factors of response and survival in myelodysplastic syndrome treated with erythropoietin and G-CSF: the GFM experience. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology.*, 111(2), p.574-582.

- Pavlaki, K., Pontikoglou, C. G., Demetriadou, A., Batsali, A. K., Damianaki, A., Simantirakis, E., & Papadaki, H. A., (2014). Impaired proliferative potential of bone marrow

mesenchymal stromal cells in patients with myelodysplastic syndromes is associated with abnormal WNT signaling pathway. *Stem cells and development.*, 23(14), p. 1568-1581.

- Pfeilstöcker, M., Karlic, H., Nösslinger, T., Sperr, W., Stauder, R., Krieger, O., & Valent, P., (2007). Myelodysplastic syndromes, aging, and age: correlations, common mechanisms, and clinical implications. *Leukemia & lymphoma.*, 48(10), p.1900-1909.

- Raaijmakers, M. H., Mukherjee, S., Guo, S., Zhang, S., Kobayashi, T., Schoonmaker, J. A., & Aung, Z., (2010). Bone progenitor dysfunction induces myelodysplasia and secondary leukemia. *Nature.*, 464(7290), p.852-857.

- Raza, A., Gezer, S., Mundle, S., Gao, X. Z., Alvi, S., Borok, R., & Parcharidou, A., (1995). Apoptosis in bone marrow biopsy samples involving stromal and hematopoietic cells in 50 patients with myelodysplastic syndromes. *Blood.*, 86(1), p.268-276.

- Rhoads, C. P., & Barker, W. H., (1938). Refractory anemia: analysis of one hundred cases. *Journal of the American Medical Association.*, 110(11), p.794-796.

- Rollison, D. E., Howlader, N., Smith, M. T., Strom, S. S., Merritt, W. D., Ries, L. A., & List, A. F., (2008). Epidemiology of myelodysplastic syndromes and chronic myeloproliferative disorders in the United States, 2001-2004, using data from the NAACCR and SEER programs. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology.*, 112(1), p. 45-52.

- Saarni, M. I., & Linman, J. W., (1973). Preleukemia: The hematologic syndrome preceding acute leukemia. *The American journal of medicine.*, 55(1), p.38-48.

- Sanz-De Pedro, M., Wang, W., Kanagal-Shamanna, R., Khoury, J. D., (2018). Myelodysplastic Syndromes: Laboratory Workup in the Context of New Concepts and Classification Criteria. *Current Hematologic Malignancy Reports.*, 7(2), p.1558-8211.

- Shih, A. H., & Levine, R. L., (2011). Molecular biology of myelodysplastic syndromes. *In Seminars in oncology.*, 38(5), p. 613-620.

- Sloand, E. M., & Rezvani, K., (2008). The role of the immune system in myelodysplasia: implications for therapy. *In Seminars in hematology.*, 45(1), p. 39-48.

- Sokol, L., Caceres, G., Volinia, S., Alder, H., Nuovo, G. J., Liu, C. G., & Moscinski, L., (2011). Identification of a risk dependent microRNA expression signature in myelodysplastic syndromes. *British journal of haematology.*, 153(1), p. 24-32.
- Solly, F., Koering, C., Mohamed, A. M., Maucort-Boulch, D., Robert, G., Auberger, P., & Tavernier-Tardy, E., (2017). A miRNA–DNMT1 Axis Is Involved in Azacitidine Resistance and Predicts Survival in Higher-Risk Myelodysplastic Syndrome and Low Blast Count Acute Myeloid Leukemia. *Clinical Cancer Research.*, 23(12), p.3025-3034.
- Sorror, M. L., (2013). How I assess comorbidities before hematopoietic cell transplantation. *Blood, the Journal of the American Society of Hematology.*, 121(15), p.2854-2863.
- Spiriti, M. A., Latagliata, R., Niscola, P., Cortelezzi, A., Francesconi, M., Ferrari, D., ... & Musto, P., (2005). Impact of a new dosing regimen of epoetin alfa on quality of life and anemia in patients with low-risk myelodysplastic syndrome. *Annals of hematology.*, 84(3), p. 167-176.
- Steensma, D., (2012). Historical perspectives on myelodysplastic syndromes. *Leukemia research.*, 36(12), p. 1441-1452.
- Stom, S. Vélez-Bravo, V. Estey, E. H., (2008). Epidemiology of myelodysplastic syndromes. *Semin Hematol.*, 45(1), p. 8-13.
- Strom, S., Gu, Y., Gruschkus, S. K., Pierce, S. A., & Estey, E. H., (2005). Risk factors of myelodysplastic syndromes: a case–control study. *Leukemia.*, 19(11), p.1912-1918.
- Tefferi, A., & Vardiman, J. W., (2009). Myelodysplastic syndromes. *New England Journal of Medicine.*, 361(19), p.1872-1885.
- Thol, F., Scherr, M., Kirchner, A., Shahswar, R., Battmer, K., Kade, S., & Thiede, C., (2015). Clinical and functional implications of microRNA mutations in a cohort of 935 patients with myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia. *Haematologica.*, 100(4), p.122.
- Tormo, M., Marugán, I., & Calabuig, M., (2010). Myelodysplastic syndromes: an update on molecular pathology. *Clinical and Translational Oncology.*, 12(10), p.652-661.

- Troussard, X., Malet, M., Chéze, S et Collignon, A., (2011). Épidémiologie des syndromes myélodysplasiques (SMD) et des syndromes myélodysplasiques/ myéloprolifératifs (SMD/SMP). *Hematologie.*, 17 (2), p. 124-31.
- Vallespí, T., Imbert, M., Mecucci, C., Preudhomme, C., & Fenaux, P., (1998). Diagnosis, classification, and cytogenetics of myelodysplastic syndromes. *Haematologica.*, 83(3), p. 258-275.
- Vasilatou, D., Papageorgiou, S. G., Kotsiote, F., Kontos, C. K., Tsiotra, P., Mpakou, V., & Pappa, V., (2013). Expression analysis of mir-17-5p, mir-20a and let7a microRNAs and their target proteins in CD34+ bone marrow cells of patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia research.*, 37(3), p. 251-258.
- Voso, M., Fenu, S., Latagliata, R., Buccisano, F., Piciocchi, A., Aloe-Spiriti, M. A & Niscola, P. (2013). Revised International Prognostic Scoring System (IPSS) predicts survival and leukemic evolution of myelodysplastic syndromes significantly better than IPSS and WHO Prognostic Scoring System; the Gruppo Romano Mielodisplasie Italian Regional Database. *J Clin Oncol.*, 31(21),P. 2671-7.
- Warlick, E. D., & Smith, B. D., (2007). Myelodysplastic syndromes: review of pathophysiology and current novel treatment approaches. *Current Cancer Drug Targets.*, 7(6), p.541-558.
- West, R. R., Stafford, D. A., Farrow, A., & Jacobs, A., (1995). Occupational and environmental exposures and myelodysplasia: a case-control study. *Leukemia research.*, 19(2), p.127-139.
- Wijermans, P., Lubbert, M., Verhoef, G., Bosly, A., Ravoet, C., Andre, M., & Ferrant, A., (2000). Low-dose 5-aza-2'-deoxycytidine, a DNA hypomethylating agent, for the treatment of high-risk myelodysplastic syndrome: a multicenter phase II study in elderly patients. *Journal of clinical oncology.*, 18(5), p.956-956.
- Yang, W., Stotler, B., Sevilla, D. W., Emmons, F. N., Murty, V. V., Alobeid, B., & Bhagat, G. (2010). FISH analysis in addition to G-band karyotyping: utility in evaluation of myelodysplastic syndromes. *Leukemia research.*, 34(4), p.420-425.

# *Annexes 1*

## ANNEXE 1

**Tableau I : Différents stades d'évolution des lignées Sloand, Rezvani., (2008)**

<i>Les pools</i>	<i>Erythroïdèse</i>	<i>Granulopoïèse</i>	<i>Thrombopoïèse</i>
<i>Pool blastique</i>	Proérythroblaste	Myéloblaste	Mégacaryoblaste
<i>Pool de prolifération/maturation</i>	Erythroblast basophile I et II Erythroblast polychromatophile	Promyelocyte Myelocyte Metamyelocyte	Promegakaryocyte Mégacaryocyte granuleux
<i>Pool de stockage</i>	Erythroblaste acidophile Réticulocyte	Granulocyte (= polynucléaire)	Mégacaryocyte thrombocytogène

**Tableau II : Classification Franco-Américano-Britannique des syndromes myélodysplasiques Andrieu et Benet.,(2009)**

<i>Sous-type de myélodysplasie</i>	<i>Blastes circulants (%)</i>	<i>Blastes médullaires (%)</i>	<i>Monocytes S&gt;1×10<sup>9</sup>/L</i>	<i>Survie (MOIS)</i>
<i>Anémie réfractaire (RA)</i>	< 1	<5	-	50
<i>Anémie réfractaire avec sidéroblastes en couronne (RARS)</i>	< 1	<5	-	75
<i>Anémie réfractaire avec excès de blastes (RAEB)</i>	< 5	5-20	-	11
<i>Anémie réfractaire avec excès de blastes en transformation (RAEB-T)</i>	> 5	21-29	+/-	5
<i>Leucémie myélomonocytaires chronique (monocytes circulants &gt;1×10<sup>9</sup> /L) (CMML)</i>	< 5	< 20	+	11

**Tableau III : Classification de l'Organisation mondiale de la santé OMS .,(2001)**

<i>Type</i>	<i>Sang</i>	<i>Moelle</i>
<i>AR</i>	Anémie	Blastes <5% Dysplasie érythroïde isolée
<i>AR+sidéroblastes</i>	Anémie	AR+15% sidéroblastes en anneau
<i>Cytopénie réfractaire avec dysplasie multilignée</i>	Cytopénies	AR+dysplasie en 2 ou 3 lignées
<i>CRDM+sidéroblastes</i>	Cytopénies	CDRM+15% sidéroblastes en anneau
<i>AREB (1et 2)</i>	Cytopénies Blastes < 5% Monocytes < 1 G /L	1 : 5%<Blastes <10 % 2/ 10%<Blastes < 20 %

**ANNEXE 1**

<i>Syndrome 5q-SMD inclassable</i>	Anémie + plaquettes N ou $\nearrow$	
	-	-

**Tableau IV : Classification des syndromes myélodysplasiques selon l'OMS., (2008)**

<i>Pathologie</i>	<i>Sang</i>	<i>Moelle</i>
<i>Cytopénie réfractaire avec dysplasie unilignée (RCUD)</i> *Anémie réfractaire (RA) *Neutropénie réfractaire (RN) *Thrombopénie réfractaire (RT)	*Cytopénie isolée ou bicytopénie *Absence ou rares blastes (<1%)	*Dysplasie unilignée $\geq 10\%$ des cellules de la lignée touchée sont dysplasiques * $< 5\%$ blastes * $< 15\%$ des précurseurs érythroïdes sont des sidéroblastes en couronne
<i>Anémie réfractaire avec sidéroblastes en couronne (RARS)</i>	*Anémie *Pas de blastes	*Dysplasie érythroïde isolée * $\geq 15\%$ des précurseurs érythroïdes sont des sidéroblastes en couronne * $< 5\%$ blastes
<i>Cytopénie réfractaire avec dysplasie multi lignée (CRDM)</i>	*Cytopénie (S) *Absence ou rares blastes (<1%) *pas de corps d'Auer * $< 1 \times 10^9$ /L monocytes	*Dysplasie $\geq 10\%$ des cellules dans 2 ou plusieurs lignées myéloïdes (granules et / ou érythroïde et /ou mégakaryocytaire ) * $< 5\%$ blastes *Pas de corps d'Auer * $\pm 15\%$ de sidéroblastes en couronne
<i>Anémie réfractaire avec excès de blastes -1 (AREB-1)</i>	*Cytopénie (s) * $< 5\%$ blastes *Pas de corps d'Auer * $< 1 \times 10^9$ /L monocytes	*dysplasie uni ou multilignée *5-9 % blastes *Pas de corps d'Auer
<i>Anémie réfractaire avec excès de blastes-2 (AREB-2)</i>	*Cytopénie (s) *5-19% blastes *Corps d'Auer $\pm$ * $< 1 \times 10^9$ /L monocytes	*Dysplasie uni ou multilignée *10-19% blastes *Corps d'Auer $\pm$
<i>Syndrome myélodysplasique non classable (MDS-I)</i>	*Cytopénies * $< 1\%$ blastes	*Dysplasie évidente dans moins de 10 % des cellules dans une ou plusieurs lignées myéloïdes * $< 5\%$ Blastes
<i>Syndrome myélodysplasique avec délétion 5q isolée</i>	*Anémie *Généralement plaquettes normales ou augmentées *Absence ou rares blastes (<1%)	*Mégakaryocytes en nombre normal ou augmenté avec noyau hypolobé * $< 5\%$ blastes *Anomalie cytogénétique isolée del(5q) *Pas de corps d'Auer

**ANNEXE 1**

**Tableau V: Classification des Syndromes Myélodysplasiques selon l’OMS ,(2016)**

<i>Sous –classes</i>	<i>Lignée(s) dysplasique(s)</i>	<i>Cytopénies</i>	<i>Sidéroblastes en couronne</i>	<i>Blastes sanguins et médullaires</i>	<i>Anomalies cytogénétiques (caryotype)</i>
<b>SMD avec dysplasie unilignée :SMD-Du</b>	<b>1</b>	<b>1 ou 2</b>	<5% avec ou sans mutation SF3B1 5-15% si absence mutation SF3B1	MO<5% Sang <1% pas de corps d’Auer	N’importe laquelle sauf celles correspondant aux critères de SMD avec del (5q) isolée
<b>SMD avec dysplasie multilignée : SMD-DM</b>	<b>2 ou 3</b>	<b>1 à 3</b>	<5% avec ou sans mutation SF3B1 5-15% si absence mutation SF3B1	MO < 5 % Sang < 1 % pas de corps d’Auer	N’importe laquelle sauf celles correspondant aux critères de SMD avec del (5q) isolée
<b>SMD-S avec dysplasie unilignée SMD-S-DU</b>	<b>1</b>	<b>1 ou 2</b>	≥15% avec ou sans mutation SF3b1 5-15% si présence mutation SF3B1	MO < 5 % Sang < 1 % pas de corps d’Auer	N’importe laquelle sauf celles correspondant aux critères de SMD avec del (5q) isolée
<b>SMD-S avec dysplasie multilignée : SMD-S-DM</b>	<b>2 ou 3</b>	<b>1 à 3</b>	≥15% avec ou sans mutation SF3b1 5-15% si présence mutation SF3B1	MO < 5 % Sang < 1 % pas de corps d’Auer	N’importe laquelle sauf celles correspondant aux critères de SMD avec del (5q) isolée
<b>SMD avec délétion 5q isolée</b>	<b>1 à 3</b>	<b>1 ou 2</b>	Indiffèrent	MO < 5 % Sang < 1 % pas de corps d’Auer	Del (5q) isolée ou associée a une seule anomalie (hors monosomie 7 ou del (7q)
<b>SMD-EB-1</b>	<b>0 à 3</b>	<b>1 à 3</b>	Indiffèrent	MO :5-9% ou Sang :2-4% Pas de corps d’Auer	N’importe laquelle
<b>SMD-EB-2</b>	<b>0 à 3</b>	<b>1 à 3</b>	Indiffèrent	MO :10-19% ou sang :5-19 % Corps d’Auer	N’importe laquelle
<b>Avec 1% de blastes sanguins</b>	<b>1 à 3</b>	<b>1 à 3</b>	Indiffèrent	MO <5% Sang <1 % Pas de corps d’Auer	N’importe laquelle
<b>Avec 1% de blastes dans le sang</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	Indiffèrent	MO <5% Sang <1 % Pas de corps d’Auer	N’importe laquelle
<b>Basé sur la présence d’une anomalie cytogénétique</b>	<b>0</b>	<b>1 à 3</b>	<15 %	MO <5% Sang <1 % Pas de corps d’Auer	N’importe laquelle

**ANNEXE 1**

**Tableau VI : Classification cytogénétique de l'IPSS Greenberg et al .,(1997)**

<i>Risque</i>	<i>Anomalies</i>	<i>% de patients</i>	<i>Médiane de survie/mois</i>
<b>Favorable</b>	Normal ou del 5q, del 20q, -Y comme anomalie isolée	<b>59%</b>	<b>54</b>
<b>Intermédiaire</b>	Toutes les autres anomalies ≤ 2 anomalies	<b>19%</b>	<b>31</b>
<b>Défavorable</b>	-7/7q anomalies complexes (3 anomalies au moins)	<b>22%</b>	<b>11</b>

**Tableau VII : Classification cytogénétique de l'IPSS-R Greengerb et al .,(2012)**

<b>Statut</b>	<b>Taux des patient (%)</b>	<b>Caryotype</b>	<b>Survie médiane (années)</b>	<b>Délai jusqu'à 25% de LAM (années)</b>
<b>Très favorable</b>	<b>4%</b>	-Y,del(11q)	<b>5.4</b>	<b>NA</b>
<b>Favorable</b>	<b>72%</b>	Normal, del(5q),del(12p),double avec del(5q)	<b>4.8</b>	<b>9.7</b>
<b>Intermédiaire</b>	<b>13%</b>	Del(7q), +8,+19,i(17q),autre anomalie simple ou double	<b>2.7</b>	<b>25</b>
<b>Défavorable</b>	<b>4%</b>	-7, inv(3)/t(3q)/del(3q),double avec -7/del(7q) ;complexe avec 3 anomalies	<b>1.5</b>	<b>1.7</b>
<b>Très défavorable</b>	<b>7%</b>	Complexe > 3 anomalies	<b>0.7</b>	<b>0.7</b>

**Tableau VIII : Score IPSS (International prognostic scoring system) Greenberg et al .,(1997)**

<i>Variables</i>	<i>0 point</i>	<i>0.5 point</i>	<i>1 point</i>	<i>1.5 point</i>	<i>2 points</i>
<b>Blastes médullaires</b>	< 5%	5-10%	-	11-20%	21-30%
<b>Caryotype</b>	Bon pronostic	Intermédiaire	Mauvais pronostic	-	-
<b>Cytopénie</b>	0-1 lignée atteinte	2-3 lignées atteintes	-	-	-
<b>Groupe pronostique</b>	Bon	Intermédiaire 1	Intermédiaire 2	Intermédiaire 2	Mauvais
<b>Score</b>	<b>0</b>	<b>0.5-1</b>	<b>1.5-2</b>	<b>1.5-2</b>	<b>≥2.5</b>

## ANNEXE 1

Cytopénies : hémoglobine (Hb) < 10 g/dL, polynucléaires neutrophiles (PNN) < 1800/mm<sup>3</sup>, plaquettes < 100000/mm<sup>3</sup>

**Tableau IX : Score IPSS-R Itzykson et Fenaux .,(2017)**

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

**Tableau X : Score globale IPSS-R Itzykson et Fenaux .,(2017)**

<i>Groupe</i>	<i>Score</i>
<i>Très faible</i>	≤1.5
<i>Faible</i>	>1.5-3
<i>Intermédiaire</i>	>3-4.5
<i>Elevé</i>	> 4.-6
<i>Très élevé</i>	> 6

**Tableau XI: Définition du wpss (adapté par l'OMS 2007) Bouchakour .,(2017)**

<i>Score</i>	<i>0</i>	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>
<i>Classification OMS</i>	AR /ARSC/5q-	CRDM/CRDMSC	AREB1	AREB2
<i>Classification cytogénétique (caryotype)</i>	Faible : caryotype normal, del(5q),del(20q),-Y	Intermédiaire .les autres anomalies chromosomiques	Haut : caryotype complexe (≥3 anomalies ),anomalie du chromosome 7	-
<i>Dépendance transfusionnelle</i>	Aucune	Régulière : chaque 8 semaines durant 3mois	-	-

**Tableau XII : Classification Moléculaire des syndromes myélodysplasiques Nazha et al .,(2016)**

<i>Gène</i>	<i>Fréquence des mutations</i>	<i>Fonction génique</i>	<i>Pronostic</i>
<i>SF3B1</i>	15-30 %	Épissage	Favorable

## ANNEXE 1

<i>TET2</i>	15-25 %	Hydroxyméthylation de l'ADN	Neutre
<i>ASXL1</i>	10-20 %	Modification des histones	Défavorable
<i>RUNX1</i>	5-15 %	Facteur de transcription	Défavorable
<i>TP53</i>	5-10 %	Facteur de transcription	Défavorable
<i>DNMT3A</i>	5-10 %	Méthylation de l'ADN	Défavorable
<i>NRAS, KRAS</i>	5-10 %	Traduction du signal	Défavorable
<i>SRSF2</i>	5-10 %	Épissage	Défavorable
<i>U2AF1</i>	5-10 %	Épissage	Défavorable (faibles risques)
<i>BCOR-L1</i>	5-6 %	Répression de la transcription	Défavorable
<i>ZRSR2</i>	5 %	Épissage	Neutre
<i>EZH2</i>	3-7 %	Modifications des histones	Défavorable
<i>ETV6</i>	3 %	Facteur de transcription	Défavorable
<i>JAK2</i>	3-4 %	Traduction du signal	Favorable
<i>IDH1, IDH2</i>	4-5 %	Modification des histones	Défavorable
<i>UTX</i>	1-2 %	Modification des histones	Défavorable

**Tableau XIII : Répartition des patients selon la tranche d'âge**

<i>Tranches d'Age (ans)</i>	<i>Nombre de patients</i>
[30-50[	02
[50-70[	13
[70-90[	14
>90	01

**Tableau XIV : Répartition des patients selon l'incidence**

<i>Tranches d'Age (ans)</i>	<i>Nombre de femme</i>	<i>Nombre d'homme</i>
[30-50[	01	01
[50-70[	07	06
[70-90[	06	08
>90	00	01

**Tableau XV : Répartition des patients selon le sexe**

<i>Sexe</i>	<i>Nombre de patients</i>	<i>Patients (%)</i>
<i>Féminin</i>	14	46.7

**ANNEXE 1**

<i>Masculin</i>	<b>16</b>	<b>53.3</b>
<i>Total</i>	<b>30</b>	<b>100</b>

**Tableau XVI : Répartition des patients selon les antécédents**

<i>Antécédents</i>	<i>Nombre de patients</i>	<i>Patients (%)</i>
<i>LA (leucémie aigüe)</i>	<b>2</b>	<b>6.6</b>
<i>Néo poumon</i>	<b>1</b>	<b>3.3</b>
<i>Néo cerveaux</i>	<b>1</b>	<b>3.3</b>
<i>Néo sein</i>	<b>2</b>	<b>6.6</b>
<i>Autres antécédents</i>	<b>2</b>	<b>6.6</b>

**Tableau XVII : Répartition des patients selon le nombre de comorbidités**

<i>Nombre de comorbidités</i>	<i>Nombre de patients</i>	<i>Patients (%)</i>
<i>01 comorbidité</i>	<b>06</b>	<b>35.2</b>
<i>02 comorbidités</i>	<b>08</b>	<b>47</b>
<i>03 comorbidités</i>	<b>01</b>	<b>5.8</b>
<i>&gt;03</i>	<b>02</b>	<b>11.7</b>

**Tableau XVIII : Répartition des patients selon le type de comorbidités**

<i>Comorbidités</i>	<i>Nombres de patients</i>	<i>Patients (%)</i>
<i>HTA</i>	<b>11</b>	<b>36.6</b>
<i>Diabète</i>	<b>05</b>	<b>16.6</b>
<i>Goitre</i>	<b>03</b>	<b>10</b>
<i>Troubles Gastro-intestinales</i>	<b>03</b>	<b>10</b>
<i>Cardiopathie</i>	<b>02</b>	<b>6.6</b>
<i>Pulmonaire</i>	<b>02</b>	<b>6.6</b>
<i>Anémie</i>	<b>01</b>	<b>3.3</b>

## ANNEXE 1

**Tableau XIX : Répartition des patients selon la circonstance de découverte**

<i>Circonstances de découverte</i>	<i>Nombre de patients</i>	<i>Patients (%)</i>
<i>Syndrome anémique</i>	<b>29</b>	<b>96.6</b>
<i>Syndrome hémorragique</i>	5	16.6
<i>Syndrome infectieux</i>	6	20
<i>Splénomégalie</i>	2	6.6

**Tableau XX : Répartition des patients selon les résultats du myélogramme (atteinte unilignée)**

<i>Myélogramme</i>	<i>Nombre de patients</i>	<i>Patients (%)</i>
<i>Atteinte unilignée</i>	6	20
<i>Dysérythroïèse</i>	<b>5</b>	<b>83.3</b>
<i>Dysmégacaryoïèse</i>	0	0
<i>Dysgranuloïèse</i>	1	16.6

**Tableau XXI : Répartition des patients selon les résultats du myélogramme (atteinte multilignée)**

<i>Myélogramme</i>	<i>Nombre de patients</i>	<i>Patients (%)</i>
<i>Atteinte multilignée</i>	24	80
<i>Dysgranuloïèse + Dysmégacaryoïèse + Dyérythroïèse</i>	<b>19</b>	<b>79.1</b>
<i>Dyérythroïèse + Dysgranuloïèse</i>	00	00
<i>Dyérythroïèse + Dysmégacaryoïèse</i>	05	20.8
<i>Dysmégacaryoïèse + Dysgranuloïèse</i>	00	00

**Tableau XXII : Répartition des patients selon le nombre de blastes médullaires**

<i>Nombre de blastes médullaires</i>	<i>Nombre de patients</i>	<i>Patients (%)</i>
<i>Blaste ≤ 2%</i>	8	28,5
<i>2 &lt; blaste &lt; 5</i>	5	17,8
<i>5% ≤ blaste &lt; 9%</i>	<b>11</b>	<b>39,2</b>
<i>Blaste ≥ 10%</i>	4	14,2

**ANNEXE 1**

**Tableau XXIII : Récapitulatif des résultats du caryotype**

<i>Le caryotype</i>	<i>Nombre de patients</i>	<i>Patients (%)</i>
<i>Echec du caryotype</i>	3	10
<i>Echec de la culture</i>	0	0
<i>Caryotype obtenu</i>	27	90
<i>Caryotype normal</i>	<b>15</b>	<b>55.5</b>
<i>Caryotype pathologique :</i>	12	44.4
-Une anomalie isolée	5	16,6
-Anomalies associées (2 anomalies)	2	6,6
- Complexe = 3 anomalies	3	10
- > 3 Anomalies	2	6,6

**Tableau XXIV : Récapitulatif des résultats de la FISH**

<i>Résultats de la FISH</i>	<i>Nombre de patients</i>	<i>Patients (%)</i>
<i>Aucune anomalie</i>	14	51.8
<i>Présence d'anomalies</i>	13	48.1
1 Anomalie	<b>6</b>	<b>22.2</b>
2 Anomalies	2	7.4
3 Anomalies	3	11.1
Plus de 3 Anomalies	2	7.4

**Tableau XXV : Répartition des patients selon la classification FAB**

<i>Classification FAB</i>	<i>Nombre de patients</i>	<i>Patients (%)</i>
<i>AREB</i>	<b>15</b>	<b>50</b>
<i>ASIA</i>	6	20
<i>AR</i>	9	30

**Tableau XXVI : Répartition des patients selon la classification OMS 2008**

<i>Classification OMS</i>	<i>Nombre patients</i>	<i>Patients (%)</i>
<i>CRDU</i>	2	6,6
<i>CRDM</i>	2	6,6
<i>Syndrome 5q-</i>	3	10
<i>AREB1</i>	<b>13</b>	<b>43.3</b>
<i>AREB2</i>	4	13.3
<i>CRDUSI</i>	5	16,6
<i>CRDMSI</i>	1	3,3

## ANNEXE 1

**Tableau XXVII : Répartition des patients selon la classification OMS 2016**

<i>Classification OMS 2016</i>	<i>Nombre de patients</i>	<i>Patients (%)</i>
<i>SMD-DU</i>	2	6.6
<i>SMD-RS-DU</i>	5	16.6
<i>SMD-DM</i>	2	6.6
<i>SMD-RS-DM</i>	1	3.3
<i>SMD-EB1</i>	<b>13</b>	<b>43.3</b>
<i>SMD-EB2</i>	4	13.3
<i>SMD avec del 5q-</i>	3	10

**Tableau XXVIII : Répartition des patients selon la classification cytogénétique IPSS**

<i>Classification IPSS</i>	<i>Nombre de patients</i>	<i>Patients (%)</i>
<i>Favorable</i>	<b>18</b>	<b>66.6</b>
<i>Intermédiaire</i>	3	11.1
<i>Défavorable</i>	6	22.2

**Tableau XXIX : Répartition des patients selon la classification cytogénétique IPSS-R**

<i>Classification IPSS-R</i>	<i>Nombre de patients</i>	<i>Patients (%)</i>
<i>Très bon</i>	1	3,7
<i>Bon</i>	<b>19</b>	<b>70,3</b>
<i>Intermédiaire</i>	2	7,4
<i>Mauvais</i>	2	7,4
<i>Très mauvais</i>	3	11,1

**Tableau XXX : Répartition des patients selon le score WPSS**

<i>WPSS</i>	<i>Nombre de patients</i>	<i>Patients (%)</i>
<i>Très faible</i>	<b>8</b>	<b>29,6</b>
<i>Faible</i>	4	14,8
<i>Intermédiaire</i>	4	14,8
<i>Haut</i>	<b>8</b>	<b>26,9</b>
<i>Très haut</i>	3	11,1

**Tableau XXXI : Différents traitements prescrits aux patients**

<i>Traitement</i>	<i>Nombre de patients</i>	<i>Patients (%)</i>
<i>Agents hypomethylants (Azacitidine)</i>	7	23.3
<i>Les immunomodulateurs (Revlimid)</i>	5	16.6
<i>Allogreffe</i>	2	6.6
<i>Transfusions</i>	22	73.3
<i>Chélation</i>	5	16.6
<i>Les agents stimulateurs de l'érythropoïèse EPO</i>	16	53.3
<i>Facteurs de croissance G CSF</i>	3	10

**Tableau XXXII: Récapitulative des causes de décès**

<i>Causes de décès</i>	<i>Nombre de patients</i>	<i>Patients (%)</i>
<i>Transformation en LAM</i>	9	52,9
<i>Cardiaque</i>	2	11,7
<i>Comorbidités</i>	1	5,8
<i>Cirrhose hépatique</i>	1	5,8
<i>Hémorragie cérébrale</i>	1	5,8
<i>Insuffisance rénale</i>	1	5,8
<i>Infection</i>	1	5,8
<i>Hémochromatose</i>	1	5,8

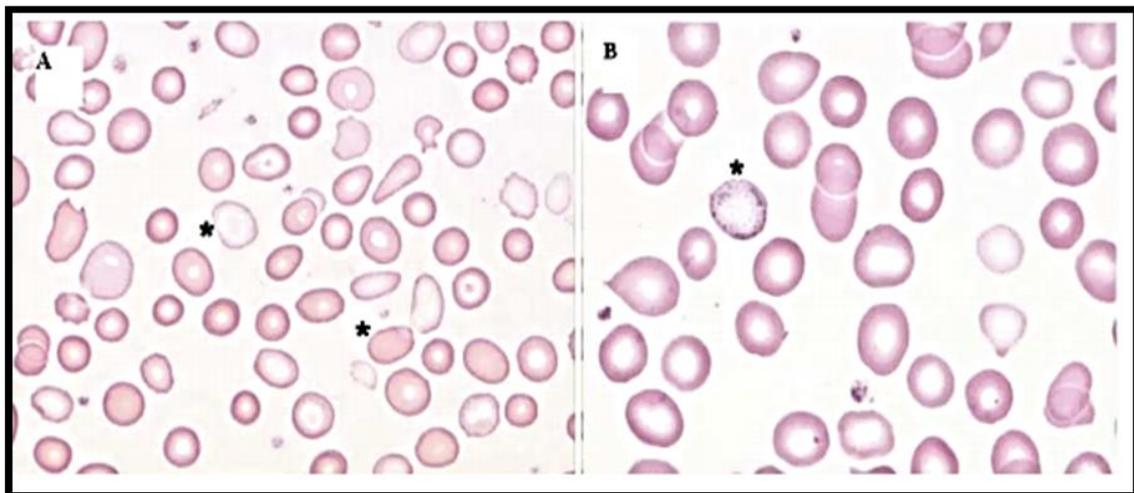
# Annexe 2

## I. Anomalies observées lors du frottis sanguin :

### I. 1 Signes de dysérythropoièse :

- ✚ L'anisocytose : présence d'hématies de taille diverses
- ✚ La poïkilocytose : C'est la présence d'hématies de formes diverses
- ✚ Une macrocytose : Elle représente une augmentation du diamètre apparent de l'hématie
- ✚ Une anisochromie, C'est la présence d'hématies de coloration variable, pouvant aller jusqu'à la présence d'une double population.

D'autres anomalies, relativement peu spécifiques, sont parfois observées telle que la présence de quelques ponctuations basophiles. Ces inclusions arrondies bleutées, nombreuses et de petite taille, dispersées dans l'ensemble du cytoplasme, correspondent à des agrégats de ribosomes et d'ARN et sont à rechercher à plus fort grossissement (objectif x 100) .



**Figure 1: Erythropoïèse d'un frottis de sang (A×40 ; B×63) Bouchane.,(2014)**

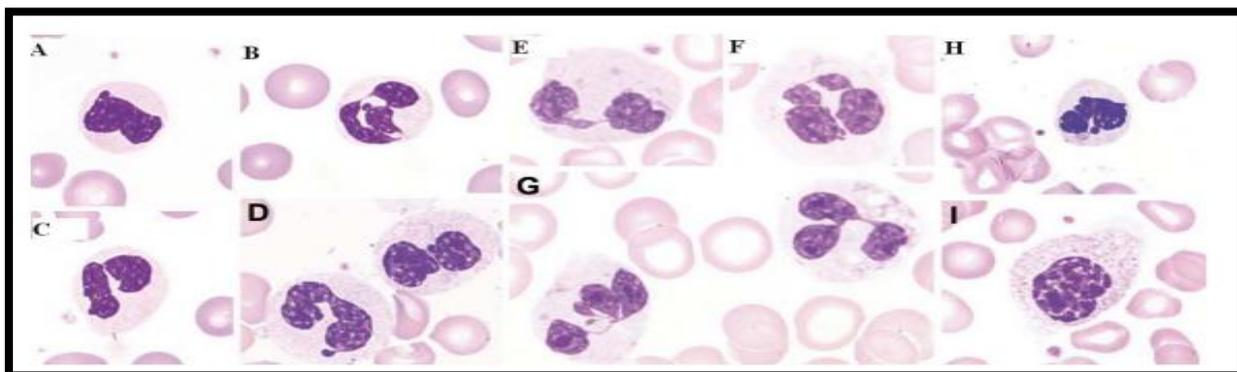
### I . 2 Signes de dysgranulopoïèse :

Les anomalies qualitatives ayant la plus grande valeur diagnostique et doivent être recherchés attentivement sur le frottis de sang. Ils comprennent :

- ✚ **Des anomalies cytoplasmiques** avec la présence de polynucléaire neutrophile hypogranuleux ou dégranulés caractérisés par la diminution ou l'absence des

granulations normalement présentes, conférant parfois un aspect transparent au cytoplasme.

- ✚ **Des anomalies de segmentation du noyau :** Les polynucléaires neutrophiles hyposegmentés sont caractérisés par un noyau possédant deux lobes voir un seul lobe, s'accompagnant parfois d'une condensation anormale de la chromatine, Ces anomalies qualitatives peuvent poser des problèmes de diagnostic différentiel .

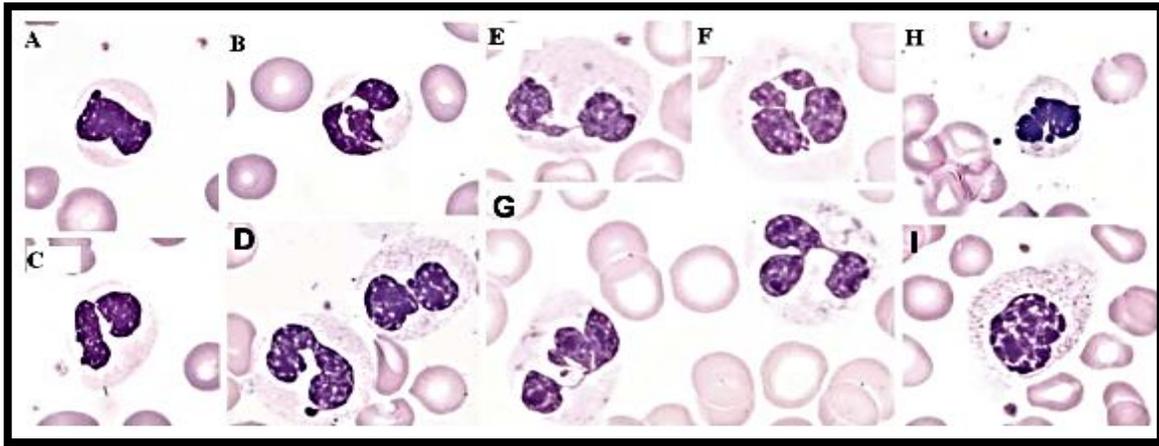


**Figure 2: Dysgranulopoïèse d'un Frottis de sang (A à I, x63). Bouchane., (2014)**

(Noter les polynucléaires hypo segmentés (A à I), s'accompagnant parfois d'une condensation anormale de la chromatine (I), hypogranuleux ou dégranulés (A à I), avec parfois des corps de Dohle (E, G). Les noyaux sont parfois dystrophiques (F, G, H)

### I . 3 Signes de dysmégacaryopoïèse :

La dysmégacaryopoïèse se traduit dans le sang par la présence de plaquettes de grande taille voir de plaquettes géantes, c'est-à-dire d'une taille supérieure à celle d'un globule rouge, et/ou de plaquettes présentant des variations de contenu parfois vides de granulations.



**Figure 3 : Dysmégacaryopoïèse : anomalies des plaquettes d'un Frottis de sang (A à D x63).**

**Bouchane., (2014)**

(Exemples de plaquettes géantes (\*, A, B). Hétérogénéité du contenu en granulations parfois peu nombreuses (flèche, B, C, D))

Matériel non biologiques :

- Automate d'hématologie **Sysmex** pour le comptage
- Hotte à flux laminaire **ADS laminaire**
- Hotte chimique **LABOPUR (H200)** pour manipulation de produits toxiques.
- Incubateur **JOUAN (IGO150)** pour culture cellulaire (5% de CO<sub>2</sub>).
- Centrifugeuse **Jouant (BR4i)** .
- Bain marie **Memmert** thermostaté 0 à 100° C.
- Deux réfrigérateurs **EQUITEC** +4°C. (**REF :ER344C**)
- Congélateur - 20°C.
- Microscope **CARL ZEISS ( PhotoFluor LM-75)** équipé d'un système d'acquisition et de traitement d'image avec imprimante, dont l'un permettant l'analyse en fluorescence. Ce système est doté d'un équipement assurant la conservation des documents .
- Bacs en porcelaine.
- Palteaux en inox.
- Haricots, les portes lames **SIMPORT (REF :M750-20AS)** , les portoirs des tubes coniques 15 ml et 50 ml, minuteur .
- Micropipettes **Biocontrol** à différents volumes de 5 microlitres jusqu'à 1000 microlitres.
- Thermobrite **CytoCell LTD** : équipement pour dénaturation et hybridation pour FISH.

## ❖ Consommables :

- Garrot (temps de pose < 60s).
  - Tube contenant anticoagulant : (EDTA)
  - seringues.
  - embouts.
  - lames et lamelles **Thermo SCIENTIFIC** .
  - flasques de culture.
  - Eppendorfs.
  - pipettes de transfert stériles.
  - Compresses.
  - Désinfectants.
- Réactifs pour la culture et la sortie de culture cellulaire :
- RPMI complets contient : Un milieu RPMI 1640 **eurobio** (**REF :CM1RPM00-01**)
  - Un sérum de veau fœtal **eurobio** (**REF :CBVCLF00-0U**)
  - L glutamine
  - pénicilline
  - streptomycine
  - Héparine **Heparine LEO**.
  - Synchron A et B **EuroClone** (**REF : EKAMTS-008**)
  - Colchicine **IrvineScientific** (**REF : Catalog #9311**)
  - KCL
  - Méthanol **CARLO ERBA**.

- Acide acétique. **CARLO ERBA.**

□ Réactifs pour caryotype en bandes R :

- Tampon de dénaturation (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) **Sigma-Aldrich-S0751 MSDS**

- Giemsa **RAL Diagnostics (REF : 320310-0125)**

- Tampon de coloration : (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>+Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>,12H<sub>2</sub>O)

-Eau distillée stérile

□ **Réactifs pour la FISH :**

- Tampon 20 SSC

- Tween 20.

- Ethanol.

- Igepal 0,1 et 0,3

- DAPI

- Les sondes **cytozell aquarius (REF : LPH025)**

- Eau distillée stérile

❖ **Cultures cellulaires :**

- Inscrire tous les renseignements sur les flasques (nom, prénom, type de prélèvement (Sang ou moelle), date 24 hr synchronisation.
- Mélanger la quantité prélevée avec 10 cc **RPMI** complet
- Mettre les flasques en position horizontale bouchon dévissé à ¼ de tour sur un plateau en inox désinfecté
- Mettre le plateau dans une étuve à **CO<sub>2</sub>** (5% + humidité) à **+37C°**.
- **Synchro A à 16 hr** : Verser **100 µl** du produit « synchro A » dans chaque flacon sous hotte dans le but de faire arrêter le cycle cellulaire en phase S.

## ANNEXE 2

- **Synchro B à 8hr** du matin : Retirer les flasques, mettre sous hotte et rajouter 100 µl de « synchro B » dans le but de faire redémarrer le cycle cellulaire
- Après **5hr** : Rajouter la colchicine 60µl pour bloquer les mitoses en métaphase (30mn)

### ❖ Etalement :

- Verser le contenu du flasque dans un tube conique avec les renseignements du patient
- Centrifuger pendant 8 mn à 1300 tours
- Jeter le surnageant
- Ajouter 1cc de KCl

Réaliser le choc hypotonique (mélanger autant de fois que possible)

- Laisser reposer dans une étuve sèche à **+37°C** pendant **25 mn**
- Préparer le fixateur qui contient **1/3** d'acide acétique et **2/3** de méthanol

### **Préfixation**

- Faire sortir le prélèvement de l'étuve
- Ajouter 01 cc de fixateur
- Mélanger doucement puis refermer
- Centrifuger à 1300 tours pendant 8 mn
- Eliminer le surnageant (garder 1/3 de culot et 2/3 de surnageant)

### **Première fixation**

- Rajouter 01 cc de fixateur et mélanger doucement
- Compléter jusqu'à 08 cc avec le fixateur
- Mélanger délicatement
- Centrifuger 1300 tours pendant 8 minutes

- Eliminer le surnageant (garder 1/3 et 2/3)

### *Deuxième fixation*

- Rajouter 01 cc de fixateur et mélanger doucement
- Compléter jusqu'à 08 cc avec le fixateur
- Mélanger délicatement
- Centrifuger à 1300 tours pendant 8 mn
- Eliminer le surnageant (garder 1/3 et 2/3)
- Conserver le surnageant à +4°C

#### ❖ Lecture du caryotype

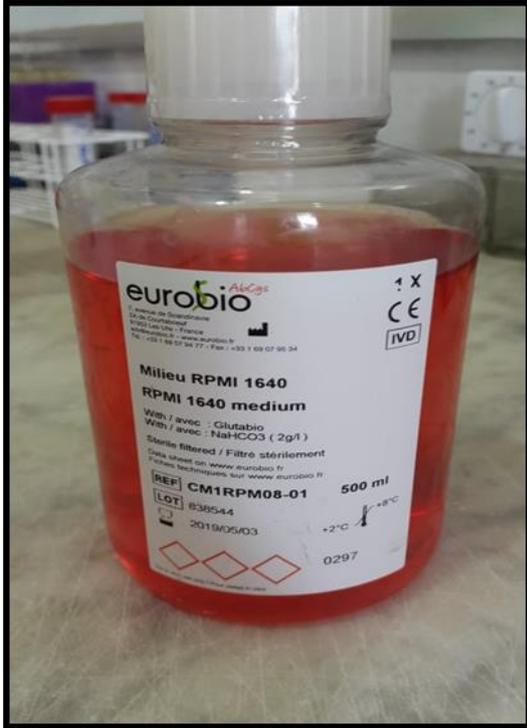
L'huile d'immersion est ajoutée sur les lames avant la lecture sous microscope. Il est nécessaire d'analyser au moins 20 mitoses. Ainsi les chromosomes sont classés en fonctions de leur taille décroissante, leur indice centromérique et les bandes (*EHS ELCC Frantz Fanon –Blida*).

#### ❖ Lecture de FISH :

Elle se fait à l'aide d'un microscope à fluorescence qui contient une lampe à mercure de 100-watts et d'objectifs plan apochromatique **G×20** ou **G ×100**.

Le filtre triplet bande *DAPI/FITC/Texas Red* est optimal pour la visualisation des 3 fluorochromes simultanément. Pour chaque zone de lecture, on observe entre 20 à 30 mitoses (tout dépend de la richesse des cellules) (*EHS ELCC Frantz Fanon –Blida*).

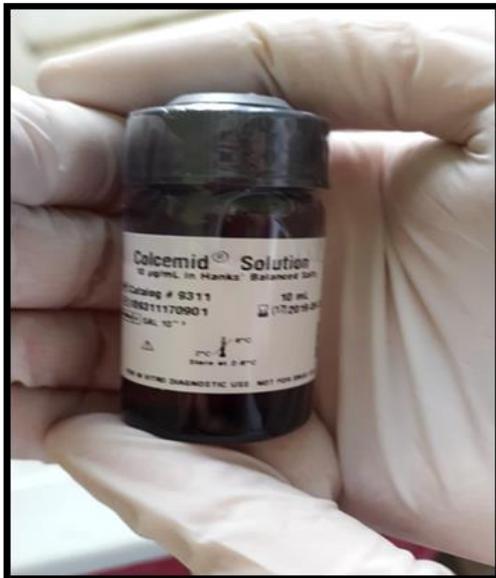
Les lames sont analysables pendant plusieurs mois voire des années si elles sont conservées à l'obscurité et au-dessous de la température ambiante à (+4°C).



**Figure 4 :** Milieu RPMI



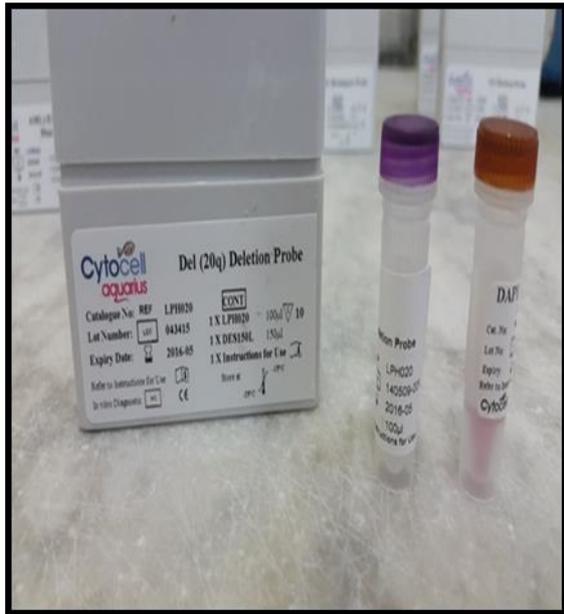
**Figure 5 :** Kit de Prélèvement



**Figure 6 :** Colchicine



**Figure 7 :** Thermomètre



**Figure 8** : Sonde de del (20q)



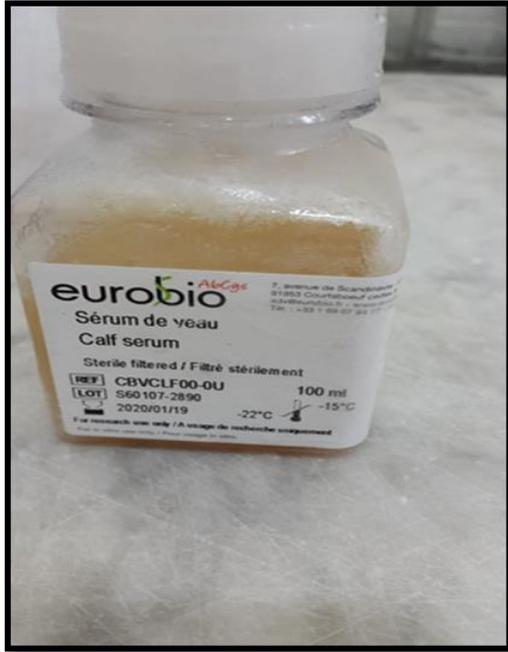
**Figure 9** : Sonde de del (5q)



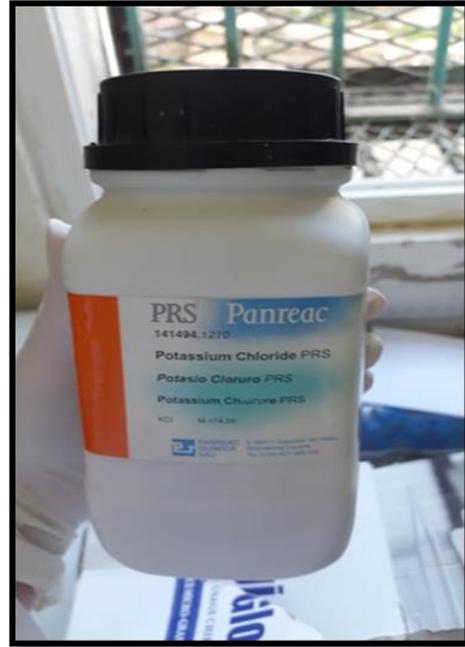
**Figure 10** : Sonde de del (P53)



**Figure 11** : Sonde de del (7q)



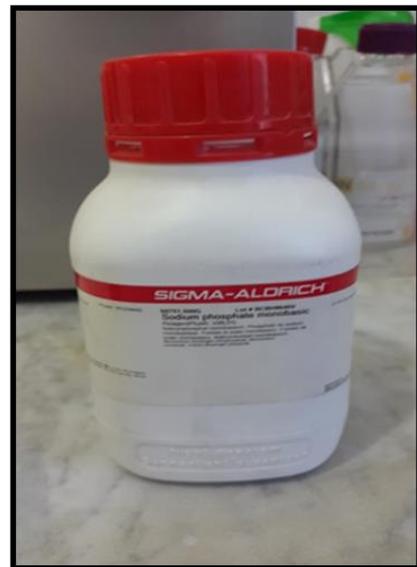
**Figure 12** : Sérum de veau foetal



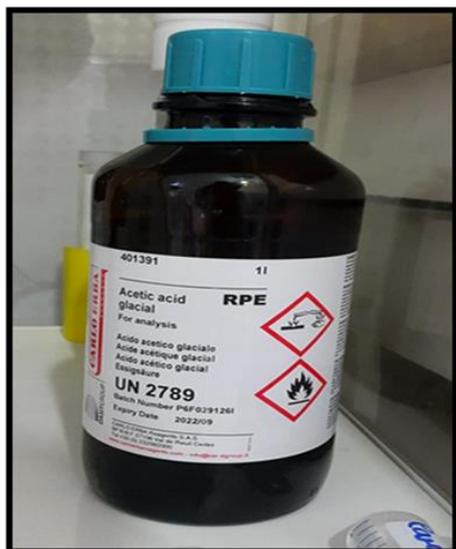
**Figure 13** : Potassium chloride PRS



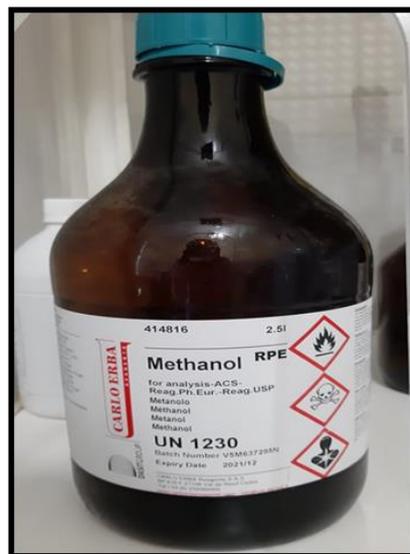
**Figure 14** : Heparine



**Figure 15** :  $\text{NH}_2\text{PO}_4$



**Figure 16** : Acide acétique



**Figure 17** : Méthanol



**Figure 18** : Synchro B



**Figure 19** : Synchro A



**Figure 20** : Micropipette  
500ml



**Figure 21** : Hotte chimique



***Figure 22*** : Centrifugeuse



***Figure 23*** : bain-marie



***Figure 24*** : Etuve a CO2



***Figure 25*** : ThermoBrite



**Figure 26** : Etuve Sèche



**Figure 27** : Agitateur magnétique



**Figure 28**: Porte-lames



**Figure 29** : RPMI Complet



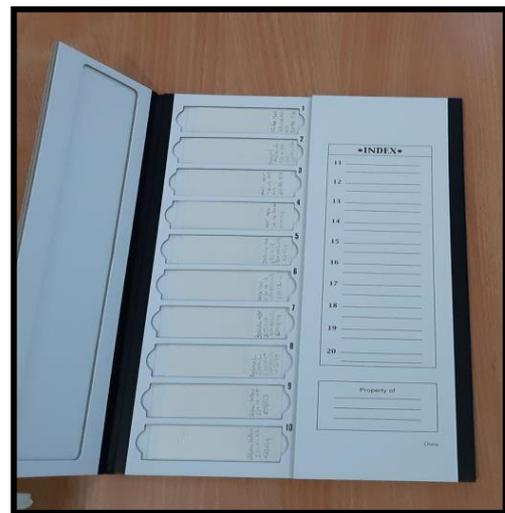
***Figure 30*** : Pipette de transfert



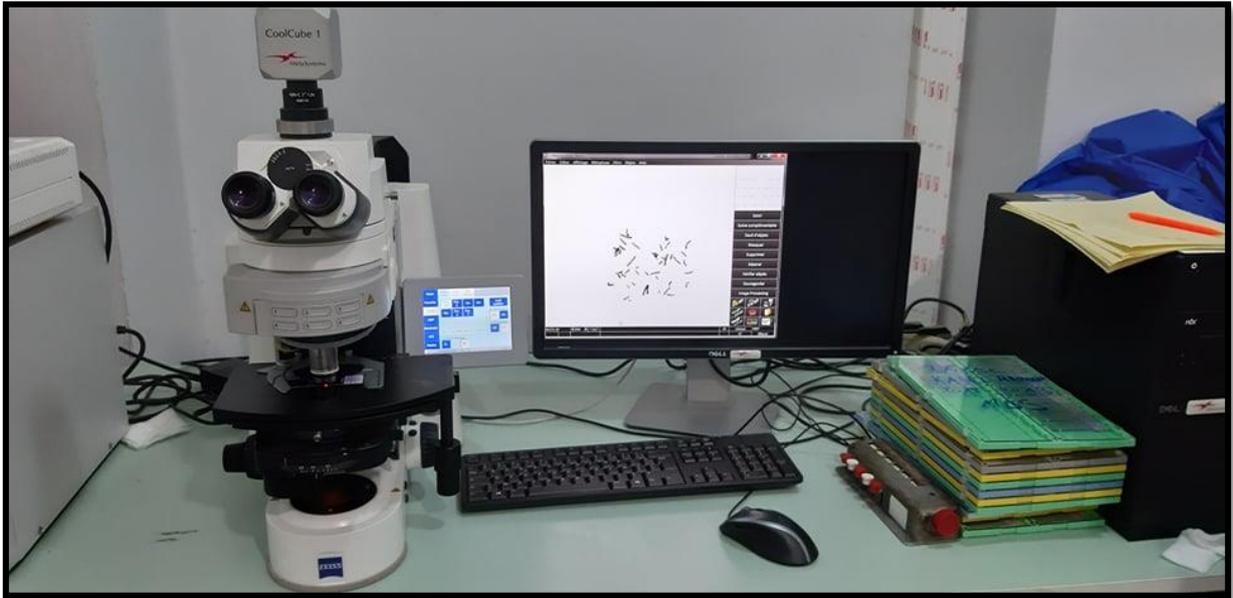
***Figure 31*** : Portoir pour lames



***Figure 32***: Giemsa



***Figure 33*** : Porte-lames



***Figure 34*** : Microscope