

À PROPOS DE L'AUTEUR



James A. Kennedy, MD PhD, FRCPC

Le Dr Kennedy est hématologue en tumeurs malignes au Sunnybrook Health Sciences Centre et professeur adjoint à l'Université de Toronto. Il a complété le programme combiné MD/PhD à Toronto, et ses recherches aux cycles supérieurs ont porté sur le développement de modèles expérimentaux de tumeurs malignes hématologiques. S'appuyant sur cette expérience, il a complété par la suite sa résidence en médecine interne et en hématologie, également à l'Université de Toronto. Il a effectué un stage postdoctoral combiné de recherche et de clinique, en hématologie maligne, partageant son temps entre le Princess Margaret Cancer Centre et le Brigham & Women's Hospital/ Harvard Medical School. Du point de vue de la recherche, James s'intéresse à la compréhension des événements génétiques qui interviennent dans le processus leucémogénique, et à la façon dont ceux-ci peuvent être ciblés par des thérapies. Ses intérêts cliniques au Sunnybrook Health Sciences Centre englobent la leucémie aiguë, l'insuffisance médullaire et les tumeurs malignes myéloïdes chroniques.

SÉQUENÇAGE DE NOUVELLE GÉNÉRATION POUR LES TUMEURS MALIGNES MYÉLOÏDES – PROGRÈS ET APPLICATIONS PRATIQUES

Au cours des deux dernières décennies, le séquençage de nouvelle génération (SNG) a révolutionné notre compréhension de la pathogenèse des néoplasies myéloïdes (NM) et de leur prise en charge clinique. Alors que le séquençage traditionnel par la méthode de Sanger permet l'interrogation de loci uniques, le SNG permet le séquençage parallèle de plusieurs emplacements génomiques, allant d'ensembles de gènes ciblés, à l'ensemble du génome. Initialement, le SNG était principalement utilisé en recherche, où la capacité d'interroger de grandes régions du génome facilitait la découverte de gènes mutés de manière récurrente dans les cancers myéloïdes. Peu de temps après, le SNG est entré dans le domaine clinique où il est maintenant couramment utilisé dans le diagnostic, le pronostic et la prise de décision en matière de traitement. La grande disponibilité du SNG clinique s'accompagne cependant de son lot unique de défis. Les hématologues doivent interpréter des rapports moléculaires complexes et appliquer de manière appropriée et en temps réel, les informations mutationnelles aux soins de leurs patients. Par conséquent, une approche systématique dans l'interprétation des rapports de SNG est cruciale; c'est ce que nous couvrirons dans ce qui suit.

1) Comprendre l'étendue des altérations génétiques détectables par votre panel

Une compréhension détaillée des mutations présentes dans les NM a émergé au cours des 20 dernières années. Le séquençage du génome entier et de l'exome d'échantillons de patients a conduit à la découverte d'un ensemble d'environ 40 gènes mutés de manière récurrente dans la leucémie myéloïde aiguë (LMA), le syndrome myélodysplasique (SMD) et les néoplasies myéloprolifératives (NMP). Il est important de noter que ces gènes peuvent être organisés en un nombre limité de catégories biologiques, mettant en évidence les processus cellulaires clés dont la dérégulation entraîne une myélopoïèse pathologique : l'épissage de l'ARN, la régulation épigénétique, le complexe cohésine, les facteurs de transcription, la réponse aux dommages à l'ADN et la transduction du signal (**Tableau 1**)^{1,2}.

Des panels de SNG « myéloïdes » ciblés ont été développés en se basant sur ces gènes mutés de façon récurrente.

L'Association of Molecular Pathology a proposé une liste minimale de gènes pour les néoplasies myéloïdes chroniques (**Tableau 1, gènes en gras**)³. Le contenu des panels de cellules myéloïdes peut cependant varier en fonction des gènes spécifiques inclus ainsi que de leurs régions couvertes (c.-à-d. : points chauds ou séquence codante complète). Les panels myéloïdes de première génération peuvent ne pas contenir de gènes dont la pertinence pour les NM est apparue plus récemment, tels que le *PPM1D* (impliqué dans la thérapie des NP)⁴ et le *DDX41* (impliqué dans le SMD/LMA familial)⁵. Les plates-formes de SNG peuvent également différer d'un point de vue technique, influençant leur sensibilité et les types de variants pouvant être détectés. Par exemple, certains panels utilisent l'ARN comme matériau de départ, et peuvent détecter des réarrangements réciproques de gènes, tels que *PML-RARA*, *RUNX1-RUNX1T1* et *CBFB-MYH11*, qui nécessitaient

Catégorie moléculaire	Gènes
Facteurs d'épissage	<i>SF3B1, SRSF2, U2AF1, ZRSR2</i>
Régulation épigénétique	
Méthylation de l'ADN	<i>DNMT3A, TET2, IDH1/2</i>
Méthylation des histones	<i>ASXL1, EZH2, BCOR, BCORL1, KMT2A, SETBP1</i>
Sous-unités de cohésine	<i>STAG2, RAD21, SMC1A, SMC3</i>
Facteurs de transcription	<i>RUNX1, ETV6, CEBPA, CUX1, GATA2, PHF6</i>
Transduction du signal	
JAK-STAT	<i>JAK2, CALR, MPL, CSF3R</i>
RAS	<i>KRAS, NRAS, PTPN11, CBL, NF1, GNAS, BRAF</i>
Autres	<i>FLT3, KIT</i>
Réparation de l'ADN	<i>TP53, PPM1D</i>
Divers	<i>NPM1, DDX41, ETNK1</i>

Tableau 1. Gènes mutés récurrents dans les néoplasies myéloïdes. Les gènes en gras font partie de la liste minimale des gènes recommandés par l'Association of Molecular Pathology pour les néoplasies myéloïdes chroniques; adapté de McClure et al, 2018.

auparavant des tests autonomes basés sur la RT-PCR ou la cytogénétique/FISH pour leur détection⁶.

Pour aider les cliniciens, les rapports de SNG contiennent une mine d'informations, y compris les régions génomiques interrogées, la technologie du test, le pipeline d'analyse bio-informatique, ainsi que les types d'altérations génétiques qui peuvent être détectées avec leurs limites de sensibilité associées. Il est important pour les cliniciens d'être familiers avec ces détails techniques afin d'apprécier pleinement les forces et les limites de la plate-forme de SNG utilisée, et comment cela peut affecter en fin de compte, les variants qui sont rapportés.

2) Réviser les variants rapportés et les preuves de leur pathogénicité

Bien que les pratiques varient, les laboratoires moléculaires suivent les directives générales pour la déclaration des mutations⁷. Les variants génétiques sont répertoriés selon la nomenclature de la *Human Genome Variation Society (HGVS)* (**Tableau 2**)⁸. Les variants détectés peuvent aller de polymorphismes germinaux bénins, à des mutations activatrices (« driver ») pathogènes, en passant par des mutations accidentelles passagères sans impact perceptible sur la leucémogénèse. Compte tenu de cette

complexité, les annotations des variants basées sur les évidences effectuées par des spécialistes du diagnostic moléculaire, sont une étape d'analyse essentielle en amont.

Pour les NM, la méthode idéale pour distinguer les altérations associées aux tumeurs et les changements de la lignée germinale, consiste à comparer les schémas de mutation dans les fibroblastes cutanés à ceux présents dans le sang. Cependant, une telle analyse se limite généralement à l'investigation des syndromes de prédisposition héréditaire. Au lieu de cela, des polymorphismes germinaux probables sont identifiés à l'aide de données provenant de grandes bases de données qui ont regroupé les informations génétiques de populations saines, telles que la *Genome Aggregation Database* (gnomAD)⁹. En pratique, les variants dont la fréquence est supérieure à 1 % dans la population générale sont présumés représenter des polymorphismes germinaux. Ils sont filtrés et exclus avant d'être rapportés cliniquement. La variation dans les fréquences alléliques (VFA) peut également suggérer des altérations de la lignée germinale (c'est-à-dire : 40-60 % pour un statut hétérozygote); cependant, la VFA n'est pas une estimation entièrement fiable de la zygosité car elle peut être

influencée par le nombre de copies ainsi que la proportion relative du clone de la cellule mutante¹¹. Les panels de SNG des cellules myéloïdes, bien que principalement axés sur la détection de variants somatiques, incluent des gènes tels que *TP53*, *RUNX1*, *GATA2*, *CEBPA* et *DDX41*, dont l'altération de la lignée germinale, peut prédisposer au développement de néoplasies myéloprolifératives^{5,10}. L'identification de tels variants dans le sang de patients ayant des antécédents familiaux ou une histoire clinique suggestive, devrait inciter à l'analyse plus poussée des fibroblastes de la peau pour confirmer le statut de la lignée germinale et référer vers le conseil génétique.

Un deuxième défi concerne l'évaluation de la pathogénicité des variants détectés. Ceci est généralement fait en regroupant les données probantes provenant de sources telles que des bases de données sur le cancer à grande échelle (c.-à-d. : *The Catalogue of Somatic Mutations in Cancer*; COSMIC)¹², des bases de données sur des populations saines (c.-à-d. : *gnomAD*), des bases de données de mutations cliniquement annotées (c.-à-d. : *ClinVar*), les outils *in silico* qui prédisent les conséquences fonctionnelles d'une mutation donnée (c.-à-d. : *SIFT*), et avant tout, littérature scientifique¹¹. Il existe un système largement utilisé, à

Type de variant	Exemples	Composition	Description
Substitution	JAK2 (NM_004972.3) c.1849G>T p.(Val617Phe)	Gène : <i>JAK2</i> <i>ID transcription</i> : NM_004972.3 <i>Changement ADNc</i> : c.1849G>T <i>Changement acide aminé</i> : p.(Val617Phe)	ADNc nucléotide 1849 (G) changé à T Acide aminé 617(Val) changé à Phe
Non-sens	<i>TET2</i> (NM_001127208.2) c.5298C>G p.Tyr1766*	Gène : <i>TET2</i> <i>ID transcription</i> : NM_001127208.2 <i>Changement ADNc</i> : c.5298C>G <i>Changement acide aminé</i> : p.(Tyr1766*)	ADNc nucléotide 5298 (C) changé à G Acide aminé 1766(Tyr) changé à codon stop
Insertion – en dehors du cadre de lecture (« frameshift »)	<i>CALR</i> (NM_004343.3) c.1154_1155insTTGTC p.(Lys385Asnfs*47)	Gène : <i>CALR</i> <i>ID transcription</i> : NM_004343.3 <i>Changement ADNc</i> : c.1154_1155insTTGTC <i>Changement acide aminé</i> : p.(Lys385Asnfs*47)	Insertion de TTGTC entre ADNc positions 1154 et 1155 Lys385 changé pour Asn et cadre de relecture altéré par codon stop 47 acides aminés plus loin
Délétion – en dehors du cadre de relecture	<i>EZH2</i> (NM_004456.4) c.928delA p.Thr310Leufs*11	Gène : <i>EZH2</i> <i>ID transcription</i> : NM_004456.4 <i>Changement ADNc</i> : c.928delA <i>Changement acide aminé</i> : p.(Thr310Leufs*11)	délétion de A à ADNc position 928 Thr310 changé pour Leu et cadre de relecture altéré par codon stop 11 acides aminés plus loin
Duplication – dans le cadre (« in-frame »)	<i>SRSF2</i> (NM_001195427.1) c.281_283dupGCC p.(Arg94dup)	Gène : <i>SRSF2</i> <i>ID transcription</i> : NM_001195427.1 <i>Changement ADNc</i> : c.281_283dupGCC <i>Changement acide aminé</i> : p.(Arg94dup)	Duplication nucléotides ADNc 281-283 (GCC) Duplication acide aminé 94 (Arg)
Délétion – dans le cadre	<i>CALR</i> (NM_004343.3) c.1191_1199del p.(Glu398_Asp400del)	Gène : <i>CALR</i> <i>ID transcription</i> : NM_004343.3 <i>Changement ADNc</i> : c.1191_1199del <i>Changement acide aminé</i> : p.(Glu398_Asp400del)	Délétion 9 nucléotides ADNc entre positions 1191 et 1199 Délétion acides aminés 398 à 400
Site d'épissure	CBL NM_005188.3 c.1096-1G>C	Gène : <i>CBL</i> <i>ID transcription</i> : NM_005188.3 <i>Changement ADNc</i> : c.1096-1G>C	nucléotide 1096 ADNc début de l'exon 8. Dans la séquence génomique correspondante, 1 nucléotide antérieur à nt 1096 (position -1) fait partie du site accepteur d'épissure (AG). La substitution de G à C perturbe le site accepteur d'épissure, entraînant la suppression de l'exon 8 ⁴³ .

Tableau 2. Exemples de nomenclature des variants; adapté de den Dunnen et al., 2016.

Niveau		Niveau d'évidence	Description
I	Variants avec une forte signification clinique	A	Inclus dans les lignes directrices professionnelles relatives au diagnostic de la maladie, au pronostic et/ou au traitement Ciblé par un traitement approuvé par la FDA
		B	Décrit dans des études avec de solides statistiques, avec le consensus d'experts dans le domaine
II	Variants avec une potentielle signification clinique	C	Décrit dans plusieurs petites études publiées, avec un certain consensus Ciblé par des thérapies approuvées par la FDA dans différents types de tumeurs ou des thérapies à l'étude
		D	Décrit dans des essais précliniques ou quelques rapports de cas, sans consensus
III	Variants avec signification clinique indéterminée		Non observé à une fréquence allélique significative dans les bases de données de population normale ou de sous-population spécifique, ou dans les bases de données pan-tumeurs ou spécifique à une tumeur Aucune preuve publiée convaincante de l'association au cancer
IV	Variants bénins ou probablement bénins		Observé à une fréquence allélique significative dans les bases de données générales ou de sous-populations spécifiques Aucune preuve publiée convaincante de l'association au cancer

Tableau 3. Un système à 4 niveaux pour catégoriser les variations de séquence somatique — basé sur les recommandations consensuelles de l'Association for Molecular Pathology; adapté de Li et al, 2016

quatre niveaux, fondé sur les données probantes et qui sert à catégoriser les variants (**Tableau 3**). Il facilite l'identification des variants d'importance clinique pour les hématologues⁷.

3) Application clinique des données mutationnelles obtenues

Diagnostic : Les critères diagnostiques des NMP de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) de 2016 reposent fortement sur les paramètres de la FSC, de l'évaluation morphologique moelle osseuse et la cytogénétique, avec un rôle relativement plus faible pour les mutations génétiques¹³. Bien qu'un cadre de gènes communs soit muté dans les NMP, les altérations génétiques définissant clairement la maladie sont rares, à quelques exceptions près. Les mutations activatrices dans *JAK2* sont présentes dans environ 99 % des cas de polycythémie vraie, et la majorité des patients atteints de thrombocythémie essentielle et de myélofibrose portent une mutation activatrice dans *JAK2*, *CALR* ou *MPL*¹⁴. Dans le domaine pédiatrique, plus de 90 % des cas de leucémie myélomonocytaire juvénile sont porteurs d'une mutation activatrice dans les gènes impliqués dans la régulation de la voie *RAS* (*KRAS*, *NRAS*, *PTPN11*, *CBL* ou *NF1*), conduisant à leur incorporation dans ses critères diagnostiques¹³. Enfin, des mutations du gène d'épissage *SF3B1* sont présentes chez les patients atteints de NM avec des sidéroblastes en couronne (SC)¹⁵. La spécificité de cette association se reflète dans les critères diagnostiques de l'OMS pour le SMD-SC, où, en présence de cytopénies et de dysplasie, la détection d'une mutation *SF3B1* peut permettre d'établir ce diagnostic lorsque les SC ne représentent que 5 % de toutes les cellules érythroïdes nucléées, par rapport au seuil traditionnel de 15 %¹³.

Inversement, la majorité des gènes mutés récurrents dans les tumeurs malignes myéloïdes ne sont pas spécifiques à une entité particulière de maladie; par exemple, les mutations *TET2* sont répandues dans les LMA, SMP, NMP et les NMP/SMD qui se chevauchent¹⁶. Pour compliquer encore davantage les choses, des mutations somatiques récurrentes dans les gènes associés aux NM ont été identifiées dans le sang d'individus sans maladie hématologique¹⁷⁻¹⁹. Ces mutations sont un puissant prédicteur indépendant pour le développement futur des NM. Le risque absolu de transformation maligne est cependant faible, de 0,5 à 1 % par an environ, ce qui conduit à cette entité appelée « hémato-poïèse clonale de signification indéterminée ».

Catégorie de risque	Anomalies génétiques
Favorable	t(8;21)(q22;q22.1); <i>RUNX1-RUNX1T1</i> inv(16)(p13.1q22) or t(16;16)(p13.1;q22); <i>CBFB-MYH11</i> <i>NPM1</i> muté sans <i>FLT3-ITD</i> ou avec <i>FLT3-ITD</i> ^{bas*} <i>CEBPA</i> biallélique muté
Intermédiaire	<i>NPM1</i> sauvage sans <i>FLT3-ITD</i> ou avec <i>FLT3-ITD</i> ^{bas**} <i>NPM1</i> muté avec <i>FLT3-ITD</i> ^{haut} t(9;11)(p21.3;q23.3); <i>MLLT3-KMT2A</i> Anomalies cytogénétiques non classées comme favorables ou défavorables
Défavorable	t(6;9)(q23;q34.1); <i>DEK-NUP214</i> t(v;11q23.3); réarrangement <i>KMT2A</i> t(9;22)(q34.1;q11.2); <i>BCR-ABL1</i> inv(3)(q21.3q26.2) ou t(3;3)(q21.3;q26.2); <i>GATA2</i> , <i>MECOM (EVII)</i> -5 ou del(5q); -7; -17/anor(17p) Caryotype complexe ou monosomale [§] <i>NPM1</i> sauvage avec <i>FLT3-ITD</i> ^{haut} <i>RUNX1</i> [¶] muté <i>ASXL1</i> [¶] muté <i>TP53</i> muté

Tableau 4A. Stratification du risque dans la LMA selon l'European LeukemiaNet (ELN); adapté de Döhner et al, 2016.

* Ratio Allélique, calculé par *FLT3-ITD/FLT3-sauvage*; bas < 0.5; haut ≥ 0.5.

** Sans lésions génétiques à risque défavorable.

§ Cytogénétique complexe : 3 ou plus anomalies chromosomiques non apparentées; caryotype monosomale : 1 monosomie unique en association avec au moins 1 monosomie supplémentaire ou anomalie chromosomique.

¶ Sauf si cela se produit avec un sous-type de LMA à risque favorable.

(CHIP) »²⁰. Ainsi, la clonalité, telle que définie par la présence de mutations somatiques associées à la NP, ne devrait pas être considérée comme une preuve définitive d'une maligne hématologique franche en l'absence d'altérations de la FSC ou d'une pathologie de la moelle osseuse.

Pronostic : Compte tenu du rôle pathogène central des mutations génétiques dans les NM, il s'ensuit qu'elles ont le potentiel de nous aider à mieux comprendre le risque de la maladie. L'European Leukemia Net (ELN) a proposé un schéma de

stratification du risque pour la LMA basé sur les résultats cytogénétiques et le SNG (**Tableau 4A**)²¹. Les mutations bialléliques dans *CEBPA* ou *NPM1* confèrent un pronostic favorable, tandis que les mutations dans *ASXL1*, *RUNX1*, *TP53* et *FLT3-ITD* (en particulier avec un rapport allélique élevé) confèrent un risque défavorable, ce qui incitera les cliniciens à envisager une consolidation avec une allogreffe de cellules souches (alloGCS) chez les patients admissibles.

La stratification du risque basée sur le SNG émerge également dans les

hémopathies malignes myéloïdes chroniques. Les mutations dans *ASXL1*, *EZH2*, *IDH1/2*, *SRSF2* et *U2AF1* (à Q157) définissent un groupe à haut risque moléculaire (HRM) dans la myélofibrose^{22,23}, et sont intégrées aux facteurs de risque traditionnels dans les systèmes de stratification pronostique tels que le MIPSS702424 et MIPSS70 version plus 2.0²⁵ (**Tableau 4B/C**) qui s'efforcent d'identifier les patients pour lesquels une alloGCS doit être envisagée. Il en est de même pour le SMD; plusieurs groupes ont mis au point des modèles de prédiction du risque qui améliorent le système traditionnel International Prognosis Scoring System (IPSS) et l'IPSS-R, en intégrant des données mutationnelles²⁶⁻²⁸. Bien que les caractéristiques moléculaires exactes de ces systèmes varient, des thèmes communs ont émergé. Par exemple, un nombre absolu plus élevé de gènes mutés ainsi que des altérations du *TP53* (en particulier bi-alléliques) confèrent un impact pronostique négatif²⁹, tandis que les altérations du *SF3B1* sont généralement associées à une maladie à faible risque, bien que cela puisse être modulé par une co-mutation²⁸. Un atout notable de ces nouveaux outils de score pronostic est qu'au lieu de simplement classer les patients en grandes catégories, des prédictions de résultats personnalisées sont générées pour chaque patient, ce qui permet une estimation plus précise du risque de la maladie.

Thérapie : Le profil génétique d'une NM peut également fournir des informations clés concernant la réponse au traitement. Par exemple, les LMA

Facteurs de risque	Score
Hémoglobine < 100 g/l	1
Leucocytes > 25 x 10 ⁹ /l	2
Plaquettes < 100 x 10 ⁹ /l	2
Blastes circulants ≥ 2 %	1
Symptômes constitutionnels*	1
Fibrose de MF grade ≥2	1
Catégorie à HRM [§]	1
Absence de mutation de type 1 <i>CALR</i>	1
2 ou plus, mutations à HRM	2

Groupe de risque	Score global	SG médiane
Bas	0 à 1	27,7 ans
Intermédiaire	2 à 4	7,1 ans
Haut	≥ 5	2,3 ans

Tableau 4B. Myélofibrose - MIPSS70; adapté de Guglielmelli et al, 2018.

*Perte de poids > 10 % du poids de base dans l'année précédant le diagnostic, fièvre inexpliquée ou sueurs excessives persistant pendant plus de 1 mois.

§Catégorie à HRM : mutation dans l'un des *ASXL1*, *EZH2*, *SRSF2* ou *IDH1/2*

Facteurs de risque	Score
Anémie	
80 à 99 g/l (femme); 90 à 109 g/l (homme)	1
< 80 g/l (femme); < 90 g/l (homme)	2
Blastes circulants $\geq 2\%$	1
Symptômes constitutionnels*	2
Catégorie à HRM [§]	2
Absence de mutation de type 1 <i>CALR</i>	2
2 ou plus, mutations à HRM	3
Cytogénétique [¶]	
Défavorable	3
Très haut risque	4

Groupe de risque	Score global	SG médiane
Très faible	0	Non atteinte
Faible	1 à 2	16,4 ans
Intermédiaire	3 à 4	7,7 ans
Haut	5 à 8	4,1 ans
Très haut	≥ 9	1,8 ans

Tableau 4C. Myélofibrose - MIPSS70 version plus 2.0; adapté de Tefferi et al, 2018.

*Perte de poids > 10 % du poids de base dans l'année précédant le diagnostic, fièvre inexplicable ou sueurs excessives persistant pendant plus de 1 mois.

§Catégorie à HRM : mutation dans l'un des *ASXL1*, *EZH2*, *SRSF2*, *U2AF1/2* ou *U2AF1* à l'acide aminé Q157.

¶ Classification cytogénétique selon la référence 44.

– Favorable : caryotype normal; 20q– isolée; 13q– isolée; +9 isolée; anomalie isolée du chromosome sexuel; translocation/duplication isolée du chromosome 1.

– Défavorable : +8 isolée; 7q– isolée; translocations isolées n'impliquant pas le chromosome 1; deux anomalies n'incluant pas une anomalie à très haut risque (THR); anomalies simples/multiples de 5q–; caryotype complexe sans anomalie à THR; caryotype monosomique sans anomalie à THR; anomalies isolées non classées autrement.

– Très haut risque : monosomie 7 simple/multiple; anomalies uniques/multiples inv(3)/3q21; anomalies simples/multiples i(17q); anomalies simples/multiples 12p–/12p11.2; anomalies uniques/multiples 11q–/11q23; trisomies autosomiques simples/multiples autres que +8 ou +9 (p. ex., +21, +19).

avec un *IDH1/2* muté ont un seuil apoptotique intrinsèquement inférieur, ce qui les rend particulièrement sensibles à une déplétion de la protéine anti-apoptotique, *BCL-2*³⁰. Par conséquent, les LMA avec *IDH* mutés, sont très sensibles aux schémas thérapeutiques contenant l'inhibiteur *BCL-2*, vénétoclax^{31,32}. Dans le SMD, il y a beaucoup d'intérêt à utiliser les données moléculaires pour prédire la réactivité aux agents hypométhylants (AHM). Dans certaines études, les mutations *TET2* ont prédit une réponse thérapeutique favorable, en particulier chez les individus où il s'agit d'une mutation clonale précoce^{33–35}. Dans une étude récente utilisant une approche d'apprentissage automatique, aucune mutation génétique simple ou combinaisons de mutations génétiques n'a prédit la réponse aux AHM; au lieu de cela, huit combinaisons génomiques prédisant la résistance aux AHM ont été identifiées. Bien qu'une validation plus poussée soit nécessaire, de telles analyses mettent en évidence le pouvoir d'évaluer les mutations génétiques, non pas isolément, mais en réseaux afin de discerner leur pertinence clinique.

La découverte du portrait mutationnel des NM a également alimenté le

développement de nouvelles thérapies qui ciblent des mutations génétiques spécifiques. Les inhibiteurs de *FLT3* midostaurine et gilteritinib sont apparus comme des traitements efficaces pour la LMA nouvellement diagnostiquée et en rechute/réfractaire (R/R) avec une mutation du gène *FLT3*, respectivement^{36,37}. De même, l'ivosidénib et l'énasidénib ont montré des résultats prometteurs pour la LMA R/R mutante *IDH1* et *IDH2*^{38,39}. D'autres thérapies ciblées en sont actuellement aux premiers stades de développement. Par exemple, l'éprenetapopt, une petite molécule qui restaure la fonction p53 de type sauvage aux cellules porteuses de mutations *TP53*, est actuellement à l'étude dans les NM avec une mutation *TP53*⁴⁰. L'inhibiteur du spliceosome H3B-8800 est en cours d'évaluation dans le cadre d'essais cliniques de phase précoce, dans l'espoir d'exploiter la vulnérabilité inhérente des cellules présentant des mutations hétérozygotes des facteurs d'épissage, à une inhibition supplémentaire de la machinerie d'épissage^{41,42}. Ensemble, ces thérapies laissent présager un avenir passionnant où le SNG guidera les approches thérapeutiques personnalisées chez les

patients atteints de NM.

Conclusion

L'avènement de la technologie de SNG a révolutionné notre compréhension de la pathogenèse des NP, tout en offrant un potentiel significatif pour une application clinique. Alors que les preuves continuent de s'accumuler afin de souligner son utilité, les médecins doivent apprendre à intégrer cette information dans la pratique courante. En plus de se tenir au courant de la littérature en constant développement dans ce domaine, une compréhension pratique des détails techniques et bio-informatiques relatifs à la plate-forme de séquençage utilisée est également nécessaire. Alors que les cliniciens continuent de se familiariser avec le SNG, l'avenir est extrêmement prometteur. Le profilage moléculaire sera au cœur des efforts continus visant à fournir des soins personnalisés aux patients, grâce à des prédictions individualisées du risque de la maladie et à des schémas thérapeutiques adaptés.

Remerciements : L'auteur tient à remercier la Dre Marta Davidson pour ses commentaires critiques sur le manuscrit.

1. Sperling AS, Gibson CJ, Ebert BL. The genetics of myelodysplastic syndrome: from clonal haematopoiesis to secondary leukaemia. *Nat Rev Cancer*. 2017;17(1):5-19. doi:10.1038/nrc.2016.112
2. Kennedy JA, Ebert BL. Clinical Implications of Genetic Mutations in Myelodysplastic Syndrome. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2017;35(9):968-974. doi:10.1200/JCO.2016.71.0806
3. McClure RF, Ewalt MD, Crow J, et al. Clinical Significance of DNA Variants in Chronic Myeloid Neoplasms: A Report of the Association for Molecular Pathology. *J Mol Diagn JMD*. 2018;20(6):717-737. doi:10.1016/j.jmol.2018.07.002
4. Lindsley RC, Saber W, Mar BG, et al. Prognostic Mutations in Myelodysplastic Syndrome after Stem-Cell Transplantation. *N Engl J Med*. 2017;376(6):536-547. doi:10.1056/NEJMoa1611604
5. Feurstein S, Drazer M, Godley LA. Germline predisposition to hematopoietic malignancies. *Hum Mol Genet*. 2021;30(20):R225-R235. doi:10.1093/hmg/ddab141
6. Ferrone CK, Wong H, Semenuk L, et al. Validation, Implementation, and Clinical Impact of the OncoPrint Myeloid Targeted-Amplicon DNA and RNA Ion Semiconductor Sequencing Assay. *J Mol Diagn JMD*. 2021;23(10):1292-1305. doi:10.1016/j.jmol.2021.07.010
7. Li MM, Datto M, Duncavage EJ, et al. Standards and Guidelines for the Interpretation and Reporting of Sequence Variants in Cancer: A Joint Consensus Recommendation of the Association for Molecular Pathology, American Society of Clinical Oncology, and College of American Pathologists. *J Mol Diagn JMD*. 2017;19(1):4-23. doi:10.1016/j.jmol.2016.10.002
8. den Dunnen JT, Dalgleish R, Maglott DR, et al. HGVS Recommendations for the Description of Sequence Variants: 2016 Update. *Hum Mutat*. 2016;37(6):564-569. doi:10.1002/humu.22981
9. Karczewski KJ, Francioli LC, Tiao G, et al. The mutational constraint spectrum quantified from variation in 141,456 humans. *Nature*. 2020;581(7809):434-443. doi:10.1038/s41586-020-2308-7
10. DiNardo CD, Routbort MJ, Bannan SA, et al. Improving the detection of patients with inherited predispositions to hematologic malignancies using next-generation sequencing-based leukemia prognostication panels. *Cancer*. 2018;124(13):2704-2713. doi:10.1002/cncr.31331
11. Bacher U, Shumilov E, Flach J, et al. Challenges in the introduction of next-generation sequencing (NGS) for diagnostics of myeloid malignancies into clinical routine use. *Blood Cancer J*. 2018;8(11):113. doi:10.1038/s41408-018-0148-6
12. Tate JG, Bamford S, Jubb HC, et al. COSMIC: the Catalogue Of Somatic Mutations In Cancer. *Nucleic Acids Res*. 2019;47(Database issue):D941-D947. doi:10.1093/nar/gky1015
13. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016;127(20):2391-2405. doi:10.1182/blood-2016-03-643544
14. Marneth AE, Mullally A. The Molecular Genetics of Myeloproliferative Neoplasms. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2020;10(2):a034876. doi:10.1101/cshperspect.a034876
15. Papaemmanuil E, Cazzola M, Boultonwood J, et al. Somatic SF3B1 mutation in myelodysplasia with ring sideroblasts. *N Engl J Med*. 2011;365(15):1384-1395. doi:10.1056/NEJMoa1103283
16. Delhommeau F, Dupont S, Della Valle V, et al. Mutation in TET2 in myeloid cancers. *N Engl J Med*. 2009;360(22):2289-2301. doi:10.1056/NEJMoa0810069
17. Xie M, Lu C, Wang J, et al. Age-related mutations associated with clonal hematopoietic expansion and malignancies. *Nat Med*. 2014;20(12):1472-1478. doi:10.1038/nm.3733
18. Genovese G, Köhler AK, Handsaker RE, et al. Clonal hematopoiesis and blood-cancer risk inferred from blood DNA sequence. *N Engl J Med*. 2014;371(26):2477-2487. doi:10.1056/NEJMoa1409405
19. Jaiswal S, Fontanillas P, Flannick J, et al. Age-related clonal hematopoiesis associated with adverse outcomes. *N Engl J Med*. 2014;371(26):2488-2498. doi:10.1056/NEJMoa1408617
20. Steensma DP, Bejar R, Jaiswal S, et al. Clonal hematopoiesis of indeterminate potential and its distinction from myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2015;126(1):9-16. doi:10.1182/blood-2015-03-631747
21. Döhner H, Estey E, Grimwade D, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. *Blood*. 2017;129(4):424-447. doi:10.1182/blood-2016-08-733196
22. Vannucchi AM, Lasho TL, Guglielmelli P, et al. Mutations and prognosis in primary myelofibrosis. *Leukemia*. 2013;27(9):1861-1869. doi:10.1038/leu.2013.119
23. Tefferi A, Finke CM, Lasho TL, et al. U2AF1 mutation types in primary myelofibrosis: phenotypic and prognostic distinctions. *Leukemia*. 2018;32(10):2274-2278. doi:10.1038/s41375-018-0078-0
24. Guglielmelli P, Lasho TL, Rotunno G, et al. MIPSS70: Mutation-Enhanced International Prognostic Score System for Transplantation-Age Patients With Primary Myelofibrosis. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2018;36(4):310-318. doi:10.1200/JCO.2017.76.4886
25. Tefferi A, Guglielmelli P, Lasho TL, et al. MIPSS70+ Version 2.0: Mutation and Karyotype-Enhanced International Prognostic Scoring System for Primary Myelofibrosis. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2018;36(17):1769-1770. doi:10.1200/JCO.2018.78.9867
26. Nazha A, Komrokji R, Meggendorfer M, et al. Personalized Prediction Model to Risk Stratify Patients With Myelodysplastic Syndromes. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2021;39(33):3737-3746. doi:10.1200/JCO.20.02810
27. Bersanelli M, Travaglino E, Meggendorfer M, et al. Classification and Personalized Prognostic Assessment on the Basis of Clinical and Genomic Features in Myelodysplastic Syndromes. *J Clin Oncol*. 2021;39(11):1223-1233. doi:10.1200/JCO.20.01659
28. Bernard E. Molecular International Prognosis Scoring System for Myelodysplastic Syndromes. In: ASH; 2021. Accessed February 12, 2022. <https://ash.confex.com/ash/2021/webprogram/Paper150554.html>
29. Bernard E, Nannya Y, Hasserjian RP, et al. Implications of TP53 allelic state for genome stability, clinical presentation and outcomes in myelodysplastic syndromes. *Nat Med*. 2020;26(10):1549-1556. doi:10.1038/s41591-020-1008-z
30. Chan SM, Thomas D, Corces-Zimmerman MR, et al. Isocitrate dehydrogenase 1 and 2 mutations induce BCL-2 dependence in acute myeloid leukemia. *Nat Med*. 2015;21(2):178-184. doi:10.1038/nm.3788
31. DiNardo CD, Jonas BA, Pullarkat V, et al. Azacitidine and Venetoclax in Previously Untreated Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med*. 2020;383(7):617-629. doi:10.1056/NEJMoa2012971
32. Wei AH, Montesinos P, Ivanov V, et al. Venetoclax plus LDAC for newly diagnosed AML ineligible for intensive chemotherapy: a phase 3 randomized placebo-controlled trial. *Blood*. 2020;135(24):2137-2145. doi:10.1182/blood.2020004856
33. Itzykson R, Kosmider O, Cluzeau T, et al. Impact of TET2 mutations on response rate to azacitidine in myelodysplastic syndromes and low blast count acute myeloid leukemias. *Leukemia*. 2011;25(7):1147-1152. doi:10.1038/leu.2011.71
34. Bejar R, Lord A, Stevenson K, et al. TET2 mutations predict response to hypomethylating agents in myelodysplastic syndrome patients. *Blood*. 2014;124(17):2705-2712. doi:10.1182/blood-2014-06-582809
35. Traina F, Visconte V, Elson P, et al. Impact of molecular mutations on treatment response to DNMT inhibitors in myelodysplasia and related neoplasms. *Leukemia*. 2014;28(1):78-87. doi:10.1038/leu.2013.269
36. Stone RM, Mandrekars SJ, Sanford BL, et al. Midostaurin plus Chemotherapy for Acute Myeloid Leukemia with a FLT3 Mutation. *N Engl J Med*. 2017;377(5):454-464. doi:10.1056/NEJMoa1614359
37. Perl AE, Martinelli G, Cortes JE, et al. Gilteritinib or Chemotherapy for Relapsed or Refractory FLT3-Mutated AML. *N Engl J Med*. 2019;381(18):1728-1740. doi:10.1056/NEJMoa1902688
38. Stein EM, DiNardo CD, Pollyea DA, et al. Enasidenib in mutant IDH2 relapsed or refractory acute myeloid leukemia. *Blood*. 2017;130(6):722-731. doi:10.1182/blood-2017-04-779405
39. DiNardo CD, Stein EM, de Botton S, et al. Durable Remissions with Ivosidenib in IDH1-Mutated Relapsed or Refractory AML. *N Engl J Med*. 2018;378(25):2386-2398. doi:10.1056/NEJMoa1716984
40. Sallman DA, DeZern AE, Garcia-Manero G, et al. Eprexatop (APR-246) and Azacitidine in TP53-Mutant Myelodysplastic Syndromes. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2021;39(14):1584-1594. doi:10.1200/JCO.20.02341
41. Lee SCW, Dvinge H, Kim E, et al. Modulation of splicing catalysis for therapeutic targeting of leukemia with mutations in genes encoding spliceosomal proteins. *Nat Med*. 2016;22(6):672-678. doi:10.1038/nm.4097
42. Steensma DP, Wermke M, Klimek VM, et al. Phase I First-in-Human Dose Escalation Study of the oral SF3B1 modulator H3B-8800 in myeloid neoplasms. *Leukemia*. 2021;35(12):3542-3550. doi:10.1038/s41375-021-01328-9
43. Niemeyer CM, Kang MW, Shin DH, et al. Germline CBL mutations cause developmental abnormalities and predispose to juvenile myelomonocytic leukemia. *Nat Genet*. 2010;42(9):794-800. doi:10.1038/ng.641
44. Tefferi A, Nicolosi M, Mudireddy M, et al. Revised cytogenetic risk stratification in primary myelofibrosis: analysis based on 1002 informative patients. *Leukemia*. 2018;32(5):1189-1199. doi:10.1038/s41375-018-0018-z