



Place du séquençage à haut débit (SHD) dans la prise en charge des hémopathies malignes en 2022

Dans le cadre du plan “Innovation Santé 2030”, M. le Ministre de la Santé a missionné la Haute Autorité de Santé pour évaluer le service attendu de plusieurs actes de biologie médicale inscrits au référentiel des actes innovants hors nomenclature (RIHN). Au sein du RIHN, les forfaits N452, N453 et N454 concernent le séquençage à haut débit (SHD) et sont à ce jour couramment utilisés dans le cadre de la prise en charge des patients atteints d'hémopathies malignes. Différentes étapes de la prise en charge font appel à ces actes innovants afin d'aider au diagnostic, d'évaluer avec précision le pronostic des patients et dans de nombreux cas d'orienter ou d'affiner la thérapeutique. Avec l'essor de la médecine personnalisée, la compétitivité de la recherche clinique française dépendra de plus en plus de l'accès à un diagnostic moléculaire précis, et l'adaptation des prises en charges thérapeutiques est de plus en plus guidée par le suivi de la maladie résiduelle.

En accord avec la Société Française d'Hématologie, le Groupe des Biologistes Moléculaires des Hémopathies Malignes (GBMHM) propose de mettre à disposition son expertise afin de procéder à l'évaluation de l'apport du SHD au sein des principales indications cliniques rencontrées en pratique courante de l'hématologie maligne, en suivant les catégories utilisées par Santé Publique France pour les études d'incidence. Dans le cadre du PRME-K RUBIH2, un guide de juste prescription de l'ensemble des analyses nécessaires au diagnostic des hémopathies malignes avait été élaboré. Le document proposé ici s'inscrit dans le même objectif de juste prescription pour les analyses par séquençage à haut débit.

Il appartiendra à l'HAS de proposer un modèle de facturation adapté (taille du panel, profondeur de séquençage, etc.), sachant que le design d'un panel dépend non seulement d'exigences médicales, mais aussi de contraintes organisationnelles ayant un impact direct sur la qualité et le délai de rendu des analyses.

Le document présenté propose une description de l'apport du SHD dans les grandes situations cliniques ainsi qu'une perspective à court terme pour les cinq années à venir. Etant donné la vitesse d'évolution dans ce domaine, cet état des lieux est susceptible d'évoluer rapidement, et pourra faire l'objet de mises à jour. L'ensemble de ces données est résumé sous forme d'un tableau de synthèse (pages 2-4).

	Nombre de cas/an en France (2018)	Diagnostic positif	Pronostic/théranostic	Suivi sous traitement	Perspective 2025
Leucémie lymphoïde chronique	4674	Pour les cas atypiques, en cas de doute diagnostique (<10%)	statut mutationnel IGHV et TP53	Recherche de mutations TP53 avant nouvelle ligne thérapeutique, mutations de résistances aux thérapies ciblées (BTK, PLCG2, BCL2)	stable
Lymphome folliculaire	3056	Pour les cas atypiques, si doute diagnostique (<10%)	Non utilisé en 2021	Non utilisé en 2021	Impact théranostique des mutations EZH2 Suivi MRD sur l'ADN tumoral circulant
Lymphome B diffus à grandes cellules B	5071	Pour les cas atypiques, en cas de doute diagnostique (<10%)	Non utilisé en 2021	Non utilisé en 2021	Classification génomique Suivi de la MRD sur l'ADN tumoral circulant, impact théranostique des mutations EZH2
Lymphome à cellules du manteau	887	Pour les cas atypiques, si doute diagnostique (<10%)	Mutations TP53, délétion CDKN2A : non utilisé en pratique	Non utilisé en 2021	Mutations TP53, délétion CDKN2A ?
Lymphome de Burkitt	220	Pour les cas atypiques, si doute diagnostique (<10%)	Non utilisé en 2021	Non utilisé en 2021	stable
Maladie de Waldenström	1317	Pour les cas atypiques, en cas de doute diagnostique (<10%)	Non utilisé en 2021	Recherche de mutations de résistances aux thérapies ciblées (BTK, PLCG2)	stable
Leucémie à tricholeucocytes	304	Pour les cas atypiques, en cas de doute diagnostique (<10%)	Non utilisé en 2021	Non utilisé en 2021	stable
Lymphomes malins non hodgkiniens T	1945	Pour affiner le diagnostic histologique	Non utilisé en 2021	Non utilisé en 2021	stable

	Nombre de cas/an en France (2018)	Diagnostic positif	Pronostic/théranostic	Suivi sous traitement	Perspective 2025
Lymphome de Hodgkin	2127	Si doute diagnostique (<10%) (sur ADN circulant)	Non utilisé en 2021	Non utilisé en 2021	Suivi MRD sur l'ADN tumoral circulant ?
Myélome multiple	5442	Non utilisé en 2021	Utilisé en alternative et en complément à la FISH à la recherche de réarrangements chromosomiques et mutations d'impact pronostique et théranostique	Non utilisé en 2021 en dehors d'essais cliniques	Suivi de la MRD, impact pronostique
Leucémie aiguë lymphoblastique	900	Non utilisé en 2021	Mutations d'impact pronostique, clonalité	Suivi MRD IGH/TCR	stable
Leucémie aiguë myéloïde	3428	Utile pour affiner le diagnostic dans les cas atypiques (sarcomes myéloïdes) et définir certaines entités OMS	Mutations d'impact pronostique et théranostique	Recherche de cibles thérapeutiques à la rechute Suivi de MRD dans certains cas	RNA-seq WGS/WES
Leucémie aiguë promyélocytaire	328	Non utilisé en 2021	Non utilisé en 2021	Non utilisé en 2021	stable
Syndromes myélodysplasiques	4735	Utile pour définir certaines entités (SF3B1), ou pour éliminer une hématopoïèse clonale	Mutations d'impact pronostique et théranostique	non utilisé en 2021, en cours d'évaluation	RNA-seq WGS/WES
Syndromes myélosplasiques/myéloprolifératifs (dont LMMC)	1439	utile pour affiner le diagnostic dans les cas atypiques	Mutations d'impact pronostique	Recherche de cibles thérapeutiques à la rechute	stable
Leucémie myéloïde chronique	872	Pour les cas atypiques, si doute diagnostique (<10%)	Non utilisé en 2021 sauf dans les phases accélérées ou blastiques	Recherche de mutations de résistance aux inhibiteurs de tyrosine kinase	Intérêt pronostique ?
Myélofibrose primitive et secondaire	520	Pour les cas atypiques, si doute diagnostique (<10%)	Mutations d'impact pronostique	Si ré-évaluation de l'indication d'allogreffe/évolutivité	stable

	Nombre de cas/an en France (2018)	Diagnostic positif	Pronostic/théranostic	Suivi sous traitement	Perspective 2025
Thrombocytémie essentielle	2057	Pour les cas atypiques, si doute diagnostique (<10%)	Non utilisé en 2021	Si évolution hématologique	Classification pronostique
Polyglobulie de Vaquez	1129	Pour les cas atypiques, si doute diagnostique (<10%)	Non utilisé en 2021	Si évolution hématologique	Classification pronostique
Mastocytose		Pour les cas atypiques, si doute diagnostique (<10%)	Mutations d'impact pronostique	Non utilisé en 2021	stable
Aplasies médullaires		Pour affiner le diagnostic	Mutations d'impact pronostique (décision d'allogreffe)	Non utilisé en 2021	stable

Tableau 1 : Résumé des principales indications des analyses SHD en hématologie cellulaire. Les cases sont colorées en fonction de la taille du panel nécessaire dans cette indication (blanc : pas d'intérêt au SHD, orange : panel <20kb, bleu : panel 20-100 kb). Les laboratoires peuvent faire le choix d'un panel de taille adapté aux avancées diagnostiques, pronostiques et théranostiques de la littérature.

Source incidences : Le Guyader-Peyrou S, Defossez G, Dantony E, Mounier M, Cornet E, Uhry Z, et al. Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine entre 1990 et 2018. Volume 2 – Hémopathies malignes. Étude à partir des registres des cancers du réseau Francim. Saint-Maurice (Fra) : Santé publique France, 2019. 169 p.

Leucémie lymphoïde chronique (LLC)

Le diagnostic positif de la LLC ne nécessite pas d'analyse SHD dans la plupart des cas, sauf pour préciser le diagnostic par rapport aux autres syndromes lymphoprolifératifs dans les cas où l'analyse cytologique et immunophénotypique sont atypiques. Il est alors nécessaire d'analyser un panel de gènes drivers des hémopathies lymphoïdes tel que celui recommandé par le GBMHM et le LYSA.¹

Le choix thérapeutique de première ligne dans la LLC est basé d'une part sur l'analyse du statut mutationnel du gène IGHV et d'autre part sur l'analyse du gène TP53, dont il peut exister des mutations sous clonales indétectables en séquençage Sanger. Ces mutations ayant le même impact pronostique que les mutations clonales,^{2,3} il est indispensable d'avoir recours au SHD pour les rechercher avec un panel ciblé, comme cela est exigé par le référentiel français proposé par le groupe FILO.⁴

Sous traitement, la recherche de mutations TP53 est nécessaire avant nouvelle ligne thérapeutique, de même que la recherche de mutations de résistance aux thérapies ciblées (BTK, PLCG2, BCL2) qui peuvent être sous clonales et doivent donc être recherchées en SHD.⁵

Lymphome folliculaire (FL)

Le diagnostic positif du FL ne nécessite pas d'analyse SHD dans la plupart des cas, sauf pour préciser le diagnostic dans certaines formes (FL « de type pédiatrique » par exemple⁶) ou en cas de doute diagnostique avec d'autres entités de lymphome B. Il est alors nécessaire d'analyser un panel de gènes drivers des hémopathies lymphoïdes tel que celui recommandé par le GBMHM et le LYSA.¹

Il existe un score pronostique basé sur le statut mutationnel de 7 gènes (m7 FLIPI)⁷, mais celui-ci n'est pas utilisé en pratique courante pour stratifier la prise en charge des patients. Dans les années à venir, le statut mutationnel d'EZH2 pourrait être un marqueur théranostique pour l'utilisation d'inhibiteurs d'EZH2.⁸

Le suivi des patients atteints de FL repose actuellement sur la clinique et l'imagerie. Dans les années à venir, il est possible que le suivi de la maladie résiduelle par analyse de l'ADN tumoral circulant prenne de l'importance.

Lymphomes B Diffus à Grandes Cellules (DLBCL)

Le diagnostic positif du DLBCL ne nécessite pas d'analyse SHD dans la plupart des cas, sauf pour préciser le diagnostic dans certaines formes (lymphomes primitifs du médiastin, lymphomes de haut grade) ou en cas de doute diagnostique avec d'autres entités de lymphome B. Il est alors nécessaire d'analyser un panel de gènes drivers des hémopathies lymphoïdes tel que celui recommandé par le GBMHM et le LYSA.¹ Il existe aussi un intérêt de l'analyse du réarrangement V(D)J pour démontrer la clonalité des cellules B dans les cas complexes.

Il faut également noter l'intérêt majeur de l'analyse de l'ADN tumoral circulant pour le diagnostic de certains lymphomes non biopsiables (certains lymphomes cérébraux⁹) ou difficiles à identifier en histologie (lymphomes intravasculaires¹⁰). Le DLBCL est également un des lymphomes où l'intérêt de l'analyse de l'ADN tumoral circulant est le mieux établi, en complément du PET scanner, pour déterminer précocement la réponse au traitement, et adapter l'intensité thérapeutique en

conséquence.¹¹⁻¹³ Cette analyse est en cours d'implémentation dans les laboratoires spécialisés de l'institut Carnot Calym et devrait devenir un standard dans les années à venir.

La classification des DLBCL est en pleine évolution vers une classification génomique¹⁴⁻¹⁷, qui a un impact pronostique et théranostique.¹⁸ En conséquence, il est probable que le recours au SHD (panel large) devienne de plus en plus important pour poser un diagnostic correct. Comme dans le lymphome folliculaire, l'analyse du gène EZH2 pourrait également être déterminante pour l'éligibilité aux inhibiteurs de cette enzyme.⁸

Lymphomes à cellules du manteau (MCL)

Le diagnostic positif du MCL ne nécessite pas d'analyse SHD dans la plupart des cas sauf pour préciser le diagnostic dans certaines formes (lymphomes primitifs du médiastin, lymphomes de haut grade) ou en cas de doute diagnostique avec d'autres entités de lymphome B. Il est alors nécessaire d'analyser un panel de gènes drivers des hémopathies lymphoïdes tel que celui recommandé par le GBMHM et le LYSA.¹

L'analyse en SHD n'est pas utilisée actuellement à des fins pronostiques ou théranostiques, même si les altérations de certains gènes (TP53, CDKN2A) sont clairement associées à un pronostic plus sombre.¹⁹

Le suivi de la maladie résiduelle, actuellement effectué par des techniques de PCR, apporte des informations précieuses pour adapter la prise en charge des patients.²⁰ La place d'une évaluation de la MRD en SHD reste à définir.

Lymphomes de Burkitt

Le diagnostic positif du BL ne nécessite pas d'analyse SHD dans la plupart des cas, sauf pour préciser le diagnostic en cas de doute diagnostique avec d'autres entités de lymphome B, par exemple en recherchant les mutations d'ID3 ou TCF3.²¹ Il est alors nécessaire d'analyser un panel de gènes drivers des hémopathies lymphoïdes tel que celui recommandé par le GBMHM et le LYSA.¹

L'analyse en SHD n'est pas utilisée actuellement à des fins pronostiques ou théranostiques.

Actuellement, en dehors de protocoles de recherche, il n'existe pas de stratégie de suivi de la maladie résiduelle dans le lymphome de Burkitt.

Maladie de Waldenström (WM)

Le diagnostic positif de la WM ne nécessite pas d'analyse SHD dans la plupart des cas : la mutation de MYD88 L265P est un hotspot qui peut être détecté par SHD ou par d'autres techniques (PCR, Sanger).

Intérêt pour préciser le diagnostic en cas de doute diagnostique avec d'autres entités de lymphome B. Il est alors nécessaire d'analyser un panel de gènes drivers des hémopathies lymphoïdes tel que celui recommandé par le GBMHM et le LYSA.¹

L'analyse en SHD n'est pas utilisée actuellement à des fins pronostiques ou théranostiques. L'analyse du gène CXCR4 pourrait avoir un impact prédictif de la réponse à l'ibrutinib, mais n'est pas utilisée en routine.²²

Actuellement, en dehors de protocoles de recherche, il n'existe pas de stratégie de suivi de la maladie résiduelle dans la WM.

Leucémie à tricholeucocytes (HCL)

Le diagnostic positif des leucémies à tricholeucocytes est en général aisé, et peut être conforté par la mise en évidence de la mutation somatique p.V600E du gène BRAF qui est présente chez quasiment tous les patients.²³ S'agissant d'un hotspot mutationnel, sa recherche peut être faite par d'autres techniques que le SHD (PCR, Sanger...)

Intérêt pour préciser le diagnostic en cas de doute diagnostique avec d'autres entités de lymphome B. Il est alors nécessaire d'analyser un panel de gènes drivers des hémopathies lymphoïdes tel que celui recommandé par le GBMHM et le LYSA.¹

Le monitoring de la mutation p.V600E de BRAF permet d'évaluer la maladie résiduelle, et peut être effectué par SHD ou par des techniques de PCR quantitative.

Lymphomes T

Le diagnostic positif des lymphomes T est particulièrement difficile, et sujet à une importante variabilité inter-observateur.²⁴ Les différentes entités de lymphome T ayant des profils mutationnels assez caractéristiques, il est raisonnable d'avoir recours au SHD pour conforter le diagnostic avec un panel de gènes drivers tel que celui recommandé par le GBMHM et le LYSA.¹

L'analyse de la clonalité du réarrangement du TCR (par SHD ou technique classique (PCR et migration électrophorétique) peut également être utile au diagnostic.

En dehors de cette indication, il n'y a pas actuellement d'intérêt au SHD dans les lymphomes T pour l'évaluation pronostique, théranostique ou pour le suivi de la maladie résiduelle.

Lymphome de Hodgkin

Dans la plupart des cas, le diagnostic positif du lymphome de Hodgkin repose uniquement sur l'analyse anatomopathologique. Cependant, dans certains cas d'interprétation équivoque, le SHD peut apporter des éléments importants pour le diagnostic positif car ce lymphome a un profil mutationnel particulier. Etant donné la faible proportion de cellules tumorales dans la plupart des cas, cette analyse peut être réalisée sur l'ADN tumoral circulant, ou plus rarement après microdissection des cellules tumorales. Il est alors nécessaire d'analyser un panel de gènes drivers des hémopathies lymphoïdes tel que celui recommandé par le GBMHM et le LYSA.¹

Comme dans le DLBCL, l'analyse longitudinale de l'ADN tumoral circulant a un intérêt majeur dans le lymphome de Hodgkin, en complément de l'imagerie métabolique par PET-scanner, et devrait progressivement être implémentée pour permettre de poursuivre la personnalisation de la prise en charge de ces patients.²⁵

Myélome multiple

Le diagnostic positif de myélome ne repose pas sur l'analyse moléculaire.

Les facteurs pronostiques du myélome sont classiquement analysés par FISH sur plasmocytes triés, mais des approches par séquençage à haut débit sont également performantes et permettent d'analyser un plus grand nombre de cibles.^{26,27} Ils comportent les anomalies définies par l'IMWG

[del(17p), t(4;14) et t(14;16)], le score pronostique de l'IFM²⁶ [(trisomie 5, trisomie 21, t(4;14), amp(1q), del(1p32), del(17p)] et les myélome double hit²⁸ [mutations TP53, amp(1q), t(4;14), t(14;16), del(17p)]. Il faut aussi noter l'importance du pronostic péjoratif des translocations impliquant le locus IGL.²⁹ L'analyse SHD permet aussi de stratifier le risque de progression dans le contexte de myélome multiple asymptomatique, par la recherche de t(8;14), del(17p), amp(8q24), mutations KRAS, NRAS, TP53 et ATM.³⁰

L'analyse SHD peut aussi être considérée à des fins théranostiques avec la double autogreffe pour les myélome de haut-risque moléculaire au diagnostic, les inhibiteurs de BCL2 en cas de t(11 ;14)³¹ et les inhibiteurs de MEK en cas de mutations KRAS, NRAS ou BRAF.³²

Le principal intérêt du SHD dans la prise en charge du myélome multiple est dans l'évaluation de la maladie résiduelle, qui pourrait dans un avenir proche avoir un impact sur des décisions cliniques majeures (autogreffe par exemple). L'évaluation de la maladie résiduelle peut être effectuée par cytométrie en flux ou par SHD (détection du réarrangement V(D)J clonal).^{33,34}

Leucémie aiguë lymphoblastique (LAL)

Le diagnostic positif de LAL ne repose pas sur l'analyse moléculaire.

L'analyse en SHD a par contre un intérêt majeur pour identifier des marqueurs pronostiques (mutations de gènes³⁵ et recherche de transcrits de fusion en RNA-seq^{36,37}), ainsi que pour le suivi de la maladie résiduelle (par technique de PCR patient-spécifique ou par SHD).

Leucémie aiguë myéloïde (LAM)

Le diagnostic positif de LAM ne repose pas sur l'analyse moléculaire sauf dans certaines formes cliniques comme les sarcomes myéloïdes. Cependant, avec l'avènement des classifications génomiques³⁸, le recours au SHD devient indispensable pour la prise en charge optimale de l'ensemble des patients français.

L'analyse par SHD est nécessaire pour établir le diagnostic de certaines entités selon la classification OMS³⁹, déterminer le pronostic et définir le traitement, selon les classifications de l'European Leukemia Network⁴⁰ pour les patients de 18-60 ans, mais également selon les classifications proposées pour les sujets plus agés⁴¹ et les patients pédiatriques⁴². Certaines entités frontières entre syndromes myélodysplasiques et leucémies aiguës myéloïdes sont ainsi mieux caractérisées par le SHD (mutations de la voie TP53) que par le pourcentage de blastes, critère diagnostique classique des LAM⁴³⁻⁴⁵. Elle est également nécessaire pour ne pas méconnaître un syndrome de prédisposition génétique en particulier lorsqu'une greffe intrafamiliale est possible. De plus, le SHD a une place pour identifier des marqueurs théranostiques (*IDH1*, *IDH2*, *FLT3*, *TP53*, etc.) en complément des techniques usuelles et pour préciser les indications de greffe de cellules souches hématopoïétiques. Les LAM présentent un risque de résistance au traitement et de rechute élevés. La modification du profil mutationnel est fréquente en cas de résistance ou de rechute. La recherche de mutations actionnables est donc fondamentale à chaque rechute de la maladie et chez les patients réfractaires.⁴⁶

Le SHD s'impose rapidement, en complément d'autres techniques dans le suivi de la MRD des LAM sans marqueur classique⁴⁷, notamment chez les patients recevant une thérapie de maintenance.⁴⁸ De

même, l'utilisation du RNA-seq peut permettre d'identifier des transcrits de fusion⁴⁹ qui ont un intérêt diagnostique, théranostique ou comme biomarqueur de MRD.

Concernant le sous type particulier des leucémies aiguës promyélocytaires (LAM3), vu l'efficacité des traitements spécifiques de cette entité, il n'y a pas d'indication au SHD dans ces maladies.

Syndromes myélodysplasiques (SMD)

Le diagnostic de SMD repose sur une expertise cytologique délicate. L'évaluation pronostique repose également sur l'analyse cytogénétique et les données moléculaires. En l'absence de certitude diagnostique, le SHD permet de rechercher une preuve de la clonalité de l'hématopoïèse, qui doit cependant être interprétée avec précaution vu la prévalence de l'hématopoïèse clonale dans la population générale saine âgée de plus de 50-60 ans. Le SHD peut également permettre de détecter un syndrome de prédisposition génétique en particulier lorsqu'une greffe intrafamiliale est possible.

Le SHD a un intérêt pour l'évaluation pronostique des SMD. En effet, un score pronostique intégrant le statut mutationnel d'une trentaine de gènes vient d'être publié (ASH 2021, Abstract #61), ce qui est utile pour le choix de traitement des patients (chimiothérapie intensive, allogreffe de moelle hématopoïétique, agent hypométhylant, autres).

Syndromes myéloïsplasiques/myéloprolifératifs (dont LMMC)

Dans ces maladies rares aux limites nosologiques relativement floues, le recours au SHD est particulièrement utile pour affiner le diagnostic.⁵⁰ De plus dans la LMMC, certaines mutations sont associées à un pronostic défavorable, et rentrent dans le calcul de scores pronostiques. Elles doivent donc être recherchées chez les patients éligibles à un traitement intensif par allogreffe de cellules souches hématopoïétiques⁵¹⁻⁵³. Enfin, certaines cibles théranostiques identifiées dans les autres hémopathies myéloïdes pourraient avoir un intérêt dans ces hémopathies plus rares, et doivent donc être recherchées en cas d'échec des premières lignes thérapeutiques.

Myéofibrose primitive (PMF) et thrombocytémie essentielle (TE)

Le diagnostic de la PMF et de la TE repose actuellement sur les analyses anatomo-pathologiques, cytologiques, et moléculaires (recherche de quelques cibles (JAK2, CALR, MPL). Dans les cas où ces gènes ne sont pas mutés (dits triple négatifs), le SHD est indispensable pour rechercher une preuve de la clonalité de l'hématopoïèse, qui doit toutefois être interprétée avec précaution vu la prévalence de l'hématopoïèse clonale dans la population générale saine âgée de plus de 50-60 ans.^{54,55}

Un SHD ciblé peut également être indiqué en cas de présentation clinico-biologique atypique afin de ne pas méconnaître une forme frontière SMD/SMP le plus souvent associée à un profil moléculaire plus complexe et un pronostic plus réservé.

De plus, certaines mutations sont associées à un pronostic défavorable, et doivent donc être recherchées chez les patients avec une myéofibrose primitive ou secondaire éligibles à un traitement intensif par allogreffe de cellules souches hématopoïétiques.^{56,57}

Dans la thrombocytémie essentielle, certaines mutations additionnelles permettent d'affiner l'évaluation pronostique et le développement de nouvelles thérapies pourra rendre leur recherche utile dans le futur.^{58,59}

Polyglobulie de Vaquez

Dans les rares cas de polyglobulie primitive dans lesquelles on ne retrouve pas de mutation de JAK2 (V617F ou exon 12), le SHD est indispensable pour rechercher une preuve de la clonalité de l'hématopoïèse, qui doit toutefois être interprétée avec précaution vu la prévalence de l'hématopoïèse clonale dans la population générale saine âgée de plus de 50-60 ans.

Comme dans la thrombocytémie essentielle, certaines mutations additionnelles ont un impact pronostique et leur recherche systématique n'est à l'heure actuelle pas recommandée.^{58,59}

Enfin, la thrombocytémie essentielle et la polyglobulie de Vaquez sont des hémopathies avec une évolution sur plus de 10 ans, ainsi une étude mutationnelle par SHD peut être indiquée dans le suivi en cas d'évolution hématologique en myélofibrose ou en leucémie aiguë.

Leucémie myéloïde chronique (LMC)

L'impact de la présence de mutations drivers impliquées dans les pathologies myéloïdes chez les patients nouvellement diagnostiqués pour une LMC est en cours d'étude. Aussi en dehors de cas particulier ou d'études cliniques il n'y a pour l'instant pas d'indication à réaliser en systématique un panel NGS myéloïde en 2021 au diagnostic d'une LMC.

Le principal intérêt du SHD dans la LMC est la recherche de mutations de résistance aux inhibiteurs de tyrosine kinase après enrichissement préalable de la cible BCR::ABL1, qui est plus sensible par cette technologie et permet donc une adaptation plus précoce des traitements.⁶⁰ La recherche de mutation d'ABL est également indiquée au diagnostic en cas de phase accélérée ou blastique suivant les recommandations françaises.⁶¹

Dans les cas d'acutisation en LAL ou LAM, le NGS a un intérêt pronostique et théranostique (cf sections dédiées).

Autres syndromes myéloprolifératifs

Concernant les autres syndromes myéloprolifératifs rares ou formes affiliées tels que la leucémie chronique à polynucléaires neutrophiles (LCN) ou les hémopathies myéloïdes à éosinophiles liées à des réarrangements de PDGFRA ou PDGFRB ou FGFR1, le diagnostic repose sur des anomalies moléculaires recherchées par SHD: mutations de CSF3R ou SETBP1 pour la LCN et réarrangements des gènes PDGFRA ou PDGFRB ou FGFR1 pour les hémopathies myéloïdes à éosinophiles qui sont détectables par séquençage de l'ARN.

Mastocytoses

Les mastocytoses représentent un groupe hétérogène d'affections caractérisées par la prolifération clonale néoplasique de mastocytes anormaux. Sur le plan moléculaire, on retrouve une mutation activatrice du gène c-KIT dans >90% des cas, potentiellement sous-clonale selon l'infiltration du prélèvement tumoral. Dans certaines formes avancées, une hémopathie maligne peut s'associer. On peut alors retrouver des mutations additionnelles ayant un impact pronostique.⁶²⁻⁶⁴

Aplasies médullaires

Les aplasies médullaires correspondent à une diminution du stock de cellules souches hématopoïétiques, qui peut être la conséquence d'une destruction par le système immunitaire et/ou d'une anomalie génétique congénitale ou acquise qui altère la biologie des cellules souches. L'identification de ces derniers cas est essentielle pour le choix thérapeutique (allogreffe vs traitement immunosupresseur), et il semble raisonnable en 2021 de proposer un screening moléculaire assez large à ces patients.⁶⁵

REFERENCES

1. Sujobert P, Le Bris Y, de Leval L, et al. The Need for a Consensus Next-generation Sequencing Panel for Mature Lymphoid Malignancies: *HemaSphere*. 2019;3(1):e169.
2. Rossi D, Khiabanian H, Spina V, et al. Clinical impact of small TP53 mutated subclones in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2014;123(14):2139–2147.
3. Malcikova J, Pavlova S, Barbara KV, et al. Low-burden TP53 mutations in CLL: clinical impact and clonal evolution within the context of different treatment options. *Blood*. 2021;138(25):2670–2685.
4. Quinqueton A, Aurran-Schleinitz T, Clavert A, et al. Diagnosis and Treatment of Chronic Lymphocytic Leukemia: Recommendations of the French CLL Study Group (FILO). *HemaSphere*. 2020;4(5):e473.
5. Sedlarikova L, Petrackova A, Papajik T, Turcsanyi P, Kriegova E. Resistance-Associated Mutations in Chronic Lymphocytic Leukemia Patients Treated With Novel Agents. *Front. Oncol*. 2020;10:894.
6. Louissaint A, Schafernak KT, Geyer JT, et al. Pediatric-type nodal follicular lymphoma: a biologically distinct lymphoma with frequent MAPK pathway mutations. *Blood*. 2016;128(8):1093–1100.
7. Pastore A, Jurinovic V, Kridel R, et al. Integration of gene mutations in risk prognostication for patients receiving first-line immunochemotherapy for follicular lymphoma: a retrospective analysis of a prospective clinical trial and validation in a population-based registry. *Lancet Oncol*. 2015;16(9):1111–1122.
8. Morschhauser F, Tilly H, Chaidos A, et al. Tazemetostat for patients with relapsed or refractory follicular lymphoma: an open-label, single-arm, multicentre, phase 2 trial. *Lancet Oncol*. 2020;21(11):1433–1442.
9. Roschewski M, Rossi D, Kurtz DM, Alizadeh AA, Wilson WH. Circulating Tumor DNA in Lymphoma: Principles and Future Directions. *Blood Cancer Discov*. 2021;2643-3230.BCD-21-0029.
10. Shimada K, Yoshida K, Suzuki Y, et al. Frequent genetic alterations in immune checkpoint-related genes in intravascular large B-cell lymphoma. *Blood*. 2021;137(11):1491–1502.
11. Meriranta L, Alkodsi A, Pasanen A, et al. Molecular features encoded in the ctDNA reveal heterogeneity and predict outcome in high-risk aggressive B-cell lymphoma. *Blood*. 2021;blood.2021012852.
12. Kurtz DM. Prognostication with circulating tumor DNA: is it ready for prime time? *Hematology*. 2019;2019(1):47–52.
13. Kurtz DM, Scherer F, Jin MC, et al. Circulating Tumor DNA Measurements As Early Outcome Predictors in Diffuse Large

- B-Cell Lymphoma. *Journal of Clinical Oncology*. 2018;36(28):2845–2853.
14. Schmitz R, Wright GW, Huang DW, et al. Genetics and Pathogenesis of Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *New England Journal of Medicine*. 2018;378(15):1396–1407.
15. Wright GW, Huang DW, Phelan JD, et al. A Probabilistic Classification Tool for Genetic Subtypes of Diffuse Large B Cell Lymphoma with Therapeutic Implications. *Cancer Cell*. 2020;37(4):551-568.e14.
16. Reddy A, Zhang J, Davis NS, et al. Genetic and Functional Drivers of Diffuse Large B Cell Lymphoma. *Cell*. 2017;171(2):481-494.e15.
17. Chapuy B, Stewart C, Dunford AJ, et al. Molecular subtypes of diffuse large B cell lymphoma are associated with distinct pathogenic mechanisms and outcomes. *Nature Medicine*. 2018;24(5):679–690.
18. Wilson WH, Wright GW, Huang DW, et al. Effect of ibrutinib with R-CHOP chemotherapy in genetic subtypes of DLBCL. *Cancer Cell*. 2021;39(12):1643-1653.e3.
19. Le Bris Y, Magrangeas F, Moreau A, et al. Whole genome copy number analysis in search of new prognostic biomarkers in first line treatment of mantle cell lymphoma. A study by the LYSA group. *Hematol Oncol*. 2020;38(4):446–455.
20. Drandi D, Alcantara M, Benmaad I, et al. Droplet Digital PCR Quantification of Mantle Cell Lymphoma Follow-up Samples From Four Prospective Trials of the European MCL Network. *Hemasphere*. 2020;4(2):e347.
21. Richter J, Schlesner M, Hoffmann S, et al. Recurrent mutation of the ID3 gene in Burkitt lymphoma identified by integrated genome, exome and transcriptome sequencing. *Nat Genet*. 2012;44(12):1316–1320.
22. Castillo JJ, Xu L, Gustine JN, et al. CXCR4 mutation subtypes impact response and survival outcomes in patients with Waldenström macroglobulinaemia treated with ibrutinib. *Br J Haematol*. 2019;187(3):356–363.
23. Tacci E, Trifonov V, Schiavoni G, et al. BRAF Mutations in Hairy-Cell Leukemia. *N Engl J Med*. 2011;364(24):2305–2315.
24. Laurent C, Baron M, Amara N, et al. Impact of Expert Pathologic Review of Lymphoma Diagnosis: Study of Patients From the French Lymphopath Network. *J Clin Oncol*. 2017;35(18):2008–2017.
25. Spina V, Bruscaggin A, Cuccaro A, et al. Circulating tumor DNA reveals genetics, clonal evolution, and residual disease in classical Hodgkin lymphoma. *Blood*. 2018;131(22):2413–2425.
26. Perrot A, Lauwers-Cances V, Tournay E, et al. Development and Validation of a Cytogenetic Prognostic Index Predicting Survival in Multiple Myeloma. *J Clin Oncol*. 2019;37(19):1657–1665.
27. Samur MK, Aktas Samur A, Fulciniti M, et al. Genome-Wide Somatic Alterations in Multiple Myeloma Reveal a Superior Outcome Group. *J Clin Oncol*.

- 2020;38(27):3107–3118.
28. Walker BA, Mavrommatis K, Wardell CP, et al. A high-risk, Double-Hit, group of newly diagnosed myeloma identified by genomic analysis. *Leukemia*. 2019;33(1):159–170.
29. Barwick BG, Neri P, Bahlis NJ, et al. Multiple myeloma immunoglobulin lambda translocations portend poor prognosis. *Nat Commun*. 2019;10(1):1911.
30. Bustoros M, Sklavenitis-Pistofidis R, Park J, et al. Genomic Profiling of Smoldering Multiple Myeloma Identifies Patients at a High Risk of Disease Progression. *J Clin Oncol*. 2020;38(21):2380–2389.
31. Harrison S, Cavo M, De La Rubia J, et al. T(11;14) and High BCL2 Expression Are Predictive Biomarkers of Response to Venetoclax in Combination with Bortezomib and Dexamethasone in Patients with Relapsed/Refractory Multiple Myeloma: Biomarker Analyses from the Phase 3 Bellini Study. *Blood*. 2019;134(Supplement_1):142–142.
32. Chang-Yew Leow C, Gerondakis S, Spencer A. MEK inhibitors as a chemotherapeutic intervention in multiple myeloma. *Blood Cancer Journal*. 2013;3(3):e105–e105.
33. Costa LJ, Derman BA, Bal S, et al. International harmonization in performing and reporting minimal residual disease assessment in multiple myeloma trials. *Leukemia*. 2021;35(1):18–30.
34. Perrot A, Lauwers-Cances V, Corre J, et al. Minimal residual disease negativity using deep sequencing is a major prognostic factor in multiple myeloma. *Blood*. 2018;132(23):2456–2464.
35. Trinquand A, Tanguy-Schmidt A, Ben Abdelali R, et al. Toward a NOTCH1/FBXW7/RAS/PTEN-based oncogenetic risk classification of adult T-cell acute lymphoblastic leukemia: a Group for Research in Adult Acute Lymphoblastic Leukemia study. *J Clin Oncol*. 2013;31(34):4333–4342.
36. Hayette S, Grange B, Vallee M, et al. Performances of Targeted RNA Sequencing for the Analysis of Fusion Transcripts, Gene Mutation, and Expression in Hematological Malignancies. *Hemisphere*. 2021;5(2):e522.
37. Tanasi I, Ba I, Sirvent N, et al. Efficacy of tyrosine kinase inhibitors in Ph-like acute lymphoblastic leukemia harboring ABL-class rearrangements. *Blood*. 2019;134(16):1351–1355.
38. Papaemmanuil E, Gerstung M, Bullinger L, et al. Genomic Classification and Prognosis in Acute Myeloid Leukemia. *New England Journal of Medicine*. 2016;374(23):2209–2221.
39. 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.
40. Gerstung M, Papaemmanuil E, Martincorena I, et al. Precision oncology for acute myeloid leukemia using a knowledge bank approach. *Nat. Genet*. 2017;49(3):332–340.

41. Itzykson R, Fournier E, Berthon C, et al. Genetic identification of patients with AML older than 60 years achieving long-term survival with intensive chemotherapy. *Blood*. 2021;138(7):507–519.
42. Marceau-Renaut A, Duployez N, Ducourneau B, et al. Molecular Profiling Defines Distinct Prognostic Subgroups in Childhood AML: A Report From the French ELAM02 Study Group. *Hematphere*. 2018;2(1):e31.
43. Grob T, Al Hinai AS, Sanders MA, et al. MOLECULAR CHARACTERIZATION OF MUTANT TP53 ACUTE MYELOID LEUKEMIA AND HIGH-RISK MYELODYSPLASTIC SYNDROME. *Blood*. 2022;blood.2021014472.
44. Estey E, Hasserjian RP, Döhner H. Distinguishing AML from MDS: a fixed blast percentage may no longer be optimal. *Blood*. 2022;139(3):323–332.
45. DiNardo CD, Garcia-Manero G, Kantarjian HM. Time to blur the blast boundaries. *Cancer*. 2022;cnrc.34119.
46. Schmalbrock LK, Dolnik A, Cocciardi S, et al. Clonal evolution of acute myeloid leukemia with *FLT3* -ITD mutation under treatment with midostaurin. *Blood*. 2021;137(22):3093–3104.
47. Heuser M, Freeman SD, Ossenkoppele GJ, et al. 2021 Update on MRD in acute myeloid leukemia: a consensus document from the European LeukemiaNet MRD Working Party. *Blood*. 2021;138(26):2753–2767.
48. Jongen-Lavencic M, Grob T, Hanekamp D, et al. Molecular Minimal Residual Disease in Acute Myeloid Leukemia. *New England Journal of Medicine*. 2018;378(13):1189–1199.
49. Haferlach T, Weber S, Konietschke R, et al. Robustness of comprehensive DNA- and RNA-based assays at diagnosis of acute myeloid leukemia using blood and bone marrow stored on filter cards. *Leukemia*. 2016;
50. Vantyghem S, Peterlin P, Thépot S, et al. Diagnosis and prognosis are supported by integrated assessment of next-generation sequencing in chronic myeloid malignancies. A real-life study. *Haematologica*. 2021;106(3):701–707.
51. Itzykson R, Kosmider O, Renneville A, et al. Prognostic Score Including Gene Mutations in Chronic Myelomonocytic Leukemia. *Journal of Clinical Oncology*. 2013;31(19):2428–2436.
52. Solary E, Itzykson R. How I treat chronic myelomonocytic leukemia. *Blood*. 2017;130(2):126–136.
53. Elena C, Gallì A, Such E, et al. Integrating clinical features and genetic lesions in the risk assessment of patients with chronic myelomonocytic leukemia. *Blood*. 2016;128(10):1408–1417.
54. Jaiswal S, Fontanillas P, Flannick J, et al. Age-Related Clonal Hematopoiesis Associated with Adverse Outcomes. *New England Journal of Medicine*. 2014;371(26):2488–2498.
55. 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.
56. Luque Paz D, Riou J, Verger E, et al. Genomic analysis of primary and secondary myelofibrosis redefines the prognostic impact of ASXL1 mutations: a FIM study. *Blood Adv*. 2021;5(5):1442–1451.
57. Guglielmelli P, Lasho TL, Rotunno G, et al. MIPSS70: Mutation-Enhanced International Prognostic Score System for Transplantation-Age Patients With Primary Myelofibrosis. *JCO*. 2018;36(4):310–318.
58. Grinfeld J, Nangalia J, Baxter EJ, et al. Classification and Personalized Prognosis in Myeloproliferative Neoplasms. *N Engl J Med*. 2018;379(15):1416–1430.
59. Tefferi A, Guglielmelli P, Lasho TL, et al. Mutation-enhanced international prognostic systems for essential thrombocythaemia and polycythaemia vera. *Br J Haematol*. 2020;189(2):291–302.
60. Hochhaus A, Baccarani M, Silver RT, et al. European LeukemiaNet 2020 recommendations for treating chronic myeloid leukemia. *Leukemia*. 2020;34(4):966–984.
61. Cayuela J-M, Chomel J-C, Coiteux V, et al. Recommandations du France Intergrroupe des leucémies myéloïdes chroniques (Fi-LMC) pour l'examen des mutations du domaine kinase de BCR-ABL1 dans la leucémie myéloïde chronique. *Bulletin du Cancer*. 2020;107(1):113–128.
62. Soucie E, Hanssens K, Mercher T, et al. In aggressive forms of mastocytosis, TET2 loss cooperates with c-KITD816V to transform mast cells. *Blood*. 2012;120(24):4846–4849.
63. Pardanani A, Shah S, Mannelli F, et al. Mayo alliance prognostic system for mastocytosis: clinical and hybrid clinical-molecular models. *Blood Advances*. 2018;2(21):2964–2972.
64. Muñoz-González JI, Álvarez-Twose I, Jara-Acevedo M, et al. Proposed global prognostic score for systemic mastocytosis: a retrospective prognostic modelling study. *Lancet Haematol*. 2021;8(3):e194–e204.
65. Young NS. Aplastic Anemia. *New England Journal of Medicine*. 2018;379(17):1643–1656.