

# ANOMALIES 3Q DANS UNE LMC EN TRANSFORMATION

---

Dr Emilie Klein

Laboratoire d'Hématologie

Secteur de Cytogénétique et Biologie moléculaire des Hémopathies

CHU de Bordeaux

GFCH 11/10/2018



# Présentation du cas

- Mr D., Homme de 58 ans
- Antécédents
  - Médicaux : tabac 40PA
  - Chirurgicaux : appendicectomie avec péritonite en 2006, chirurgie de la cataracte bilatérale
  - Familiaux : 1 sœur avec cancer du sein traité par chimiothérapie
- Bilan de routine réalisé en novembre 2016:
  - Découverte Diabète insulino-dépendant
  - NFS : Hyperleucocytose majeure avec myélémie à 49%, basocytose à 12% et **blastose à 14%**
    - → **Suspicion de Leucémie Myeloïde Chronique**

NFS	
Hématies	3,48 T/L
Hémoglobine	<b>10,3</b> g/dL
Hématocrite	31,1%
VGM	89,3 fl
CCMH	33 g/dL
TCMH	29,4 pg
Plaquettes	<b>762</b> G/L
Leucocytes	<b>178,8</b> G/L
Poly neutrophiles	39,34 G/L (22%)
Poly éosinophiles	3,58 G/L (2%)
Poly basophiles	21,46 G/L (12%)
Lymphocytes	0 G/L
Monocytes	1,79 G/L (1%)
Myélémie	87,61 G/L (49%)
Blastes	25,03 G/L (14%)
Erythroblastes	2%

# Myelogramme, caryotype et biologie moléculaire

- **Moelle :**

- Densité cellulaire augmentée avec hyperplasie de la lignée granuleuse, 8% d'éosinophiles et 10% de basophiles

- **13% de blastes**

- Aspect cytologique sang et moelle en faveur d'une **phase accélérée de LMC**

- **Caryotype** : 46,XY,t(9;22)(q34;q11)[20]

Translocation t(9;22) de type BCR-ABL1 dans toutes les mitoses analysées, sans anomalie additionnelle, confirmant le diagnostic de LMC

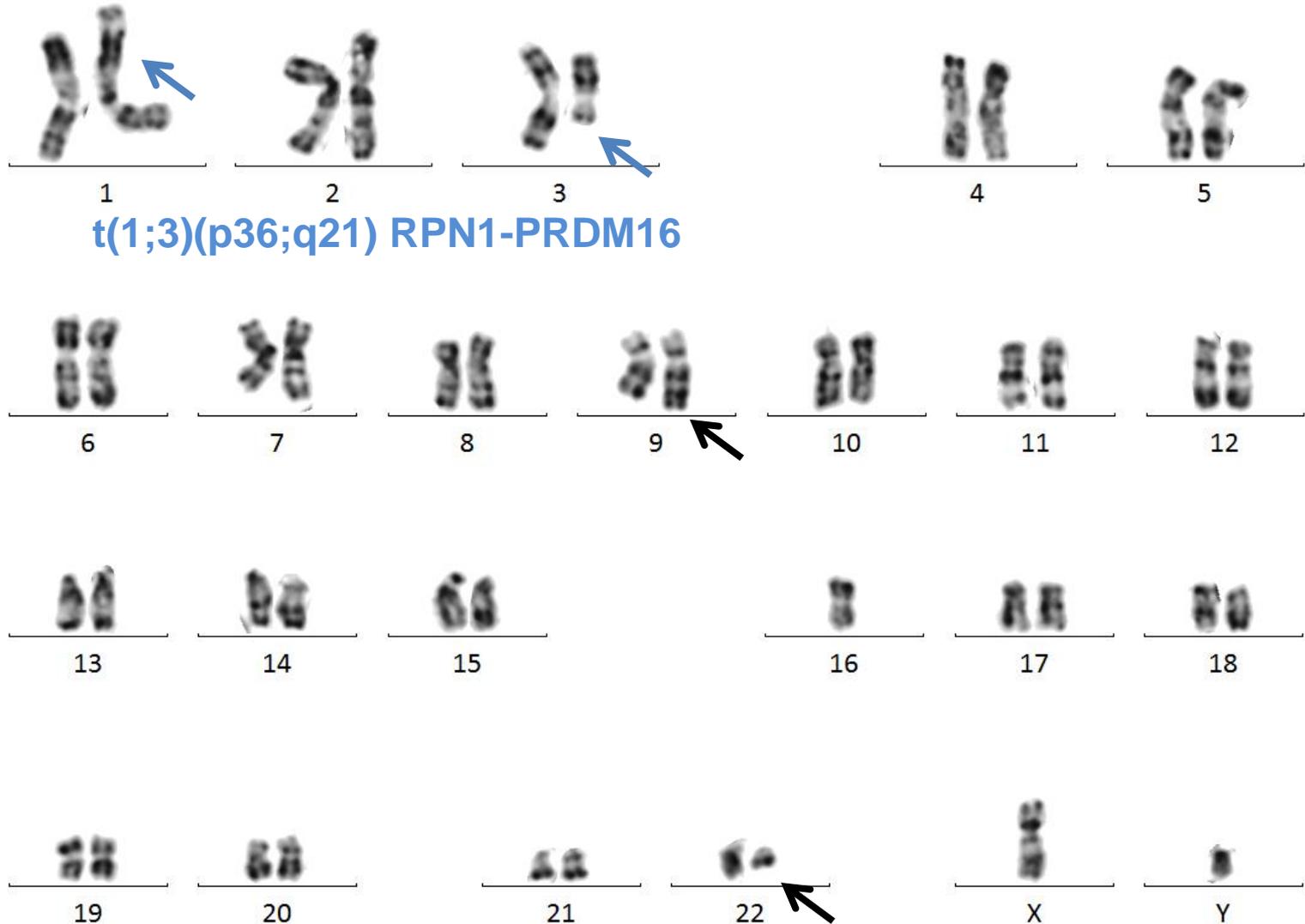
- **Bio mol** : Mise en évidence d'un transcrite de fusion BCR-ABL1 type M-BCR équivalent moléculaire de la translocation t(9;22) de type **B2A2**.

# Evolution

DATE		Cytologie	Caryotype	% BCR-ABL/ABL SI Sang	Traitement
18/11/2016	Diag	LMC phase accélérée	46,XY,t(9;22)(q34;q11)[20]		Imatinib
07/03/2017	M3	Rémission Cytologique		7,6319	Imatinib

# 08/06/2017 M6 : Caryotype médullaire

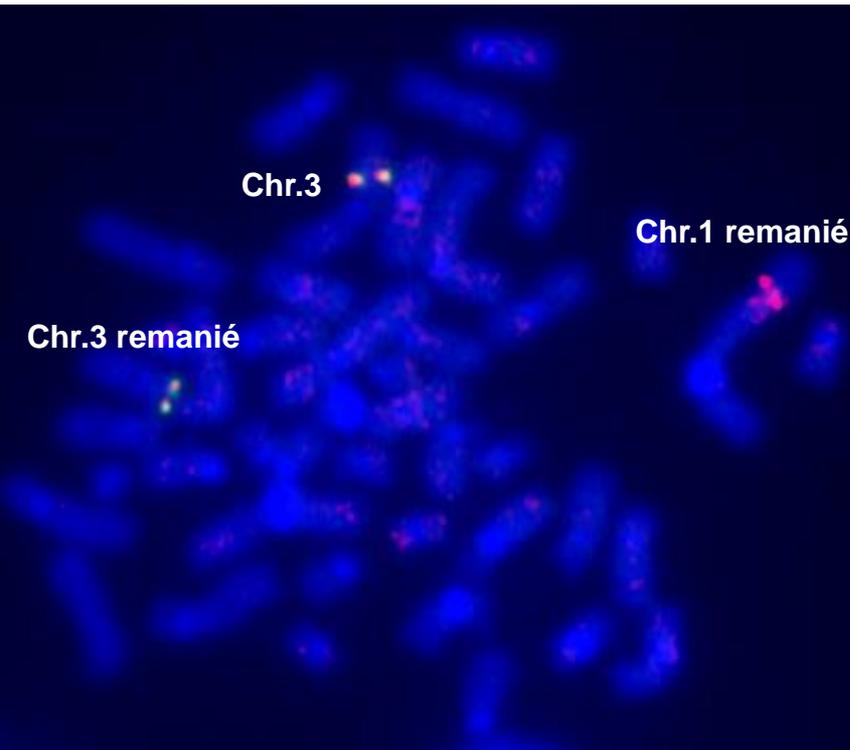
46,XY,t(9;22)(q34;q11)[9]/46,sl,t(1;3)(p36;q21)[6]/46,XY[15]



# t(1;3)(p36;q21) : RPN1-PRDM16 GATA2 non réarrangé

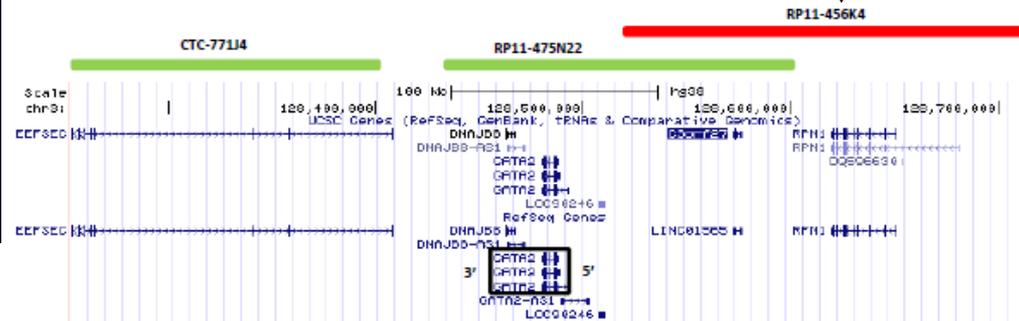
GATA2: 3q21

chr3:128,253,509-128,718,961 Human Dec. 2013 (GRCh38/hg38)



Profil 2 fusions + 1 Rouge  
(profil GATA2 réarrangé = 2 fusions +1 Vert)

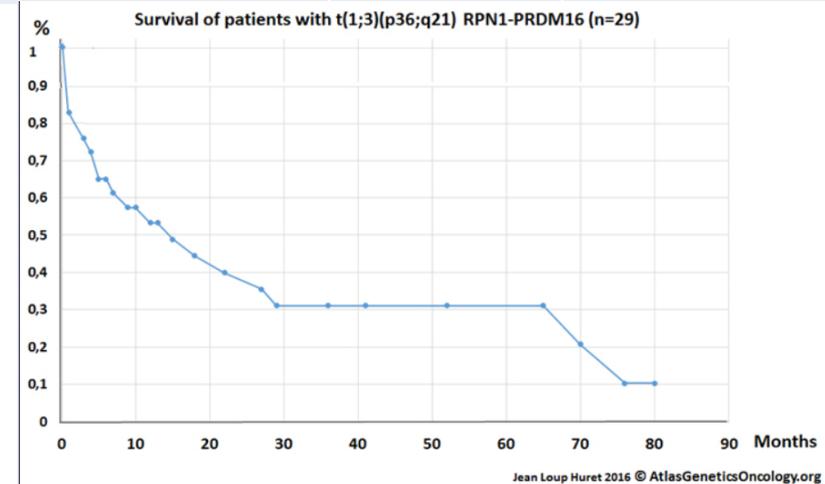
Coupure dans RPN1



# Evolution

DATE		Cytologie	Caryotype	% BCR-ABL/ABL SI Sang	Traitement
18/11/2016	Diag	LMC phase accélérée	46,XY,t(9;22)(q34;q11)[20]		Imatinib
07/03/2017	M3	Rémission Cytologique		7,6319	Imatinib
08/06/2017	M6	Rémission Cytologique, hypoplasie lignée granuleuse	46,XY,t(9;22)(q34;q11)[9]/ <b>46,sl,t(1;3)(p36;q21)[6]/</b> 46,XY[15] Réponse cytogénétique <b>mineure</b> selon l'ELN	8,0583	Imatinib  ACA ds mitoses Phi+ sous ttt : <b>critère d'échec selon l'ELN</b>

t(1;3)(p36;21) probablement de type **RPN1-PRDM16**  
Anomalie plus souvent associée aux SMD et LAM  
Décrite de **pronostic défavorable**

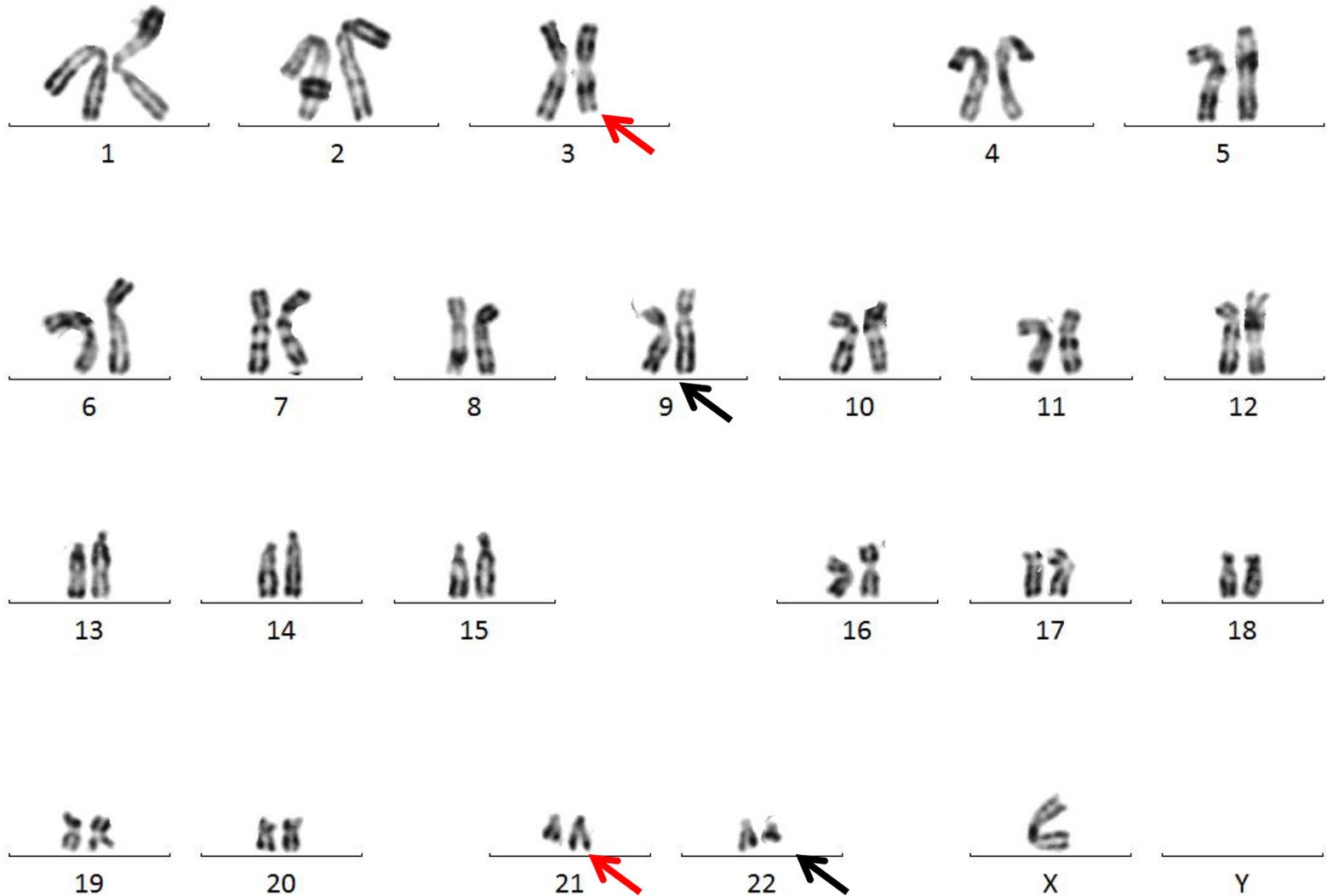


# Evolution

DATE		Caryotype	% BCR-ABL/ABL SI SANG	Traitement
18/11/2016	Diag	46,XY,t(9;22)(q34;q11)[20]		Imatinib
07/03/2017	M3		7,6319	Imatinib
08/06/2017	M6	46,XY,t(9;22)(q34;q11)[9]/ 46,sl,t(1;3)(p36;q21)[6]/ 46,XY[15]	8,0583	Imatinib
18/09/2017	M9		11,5113	Recherche de mutation : négative Switch Dasatinib
30/10/2017	M10		16,5773	Dasatinib

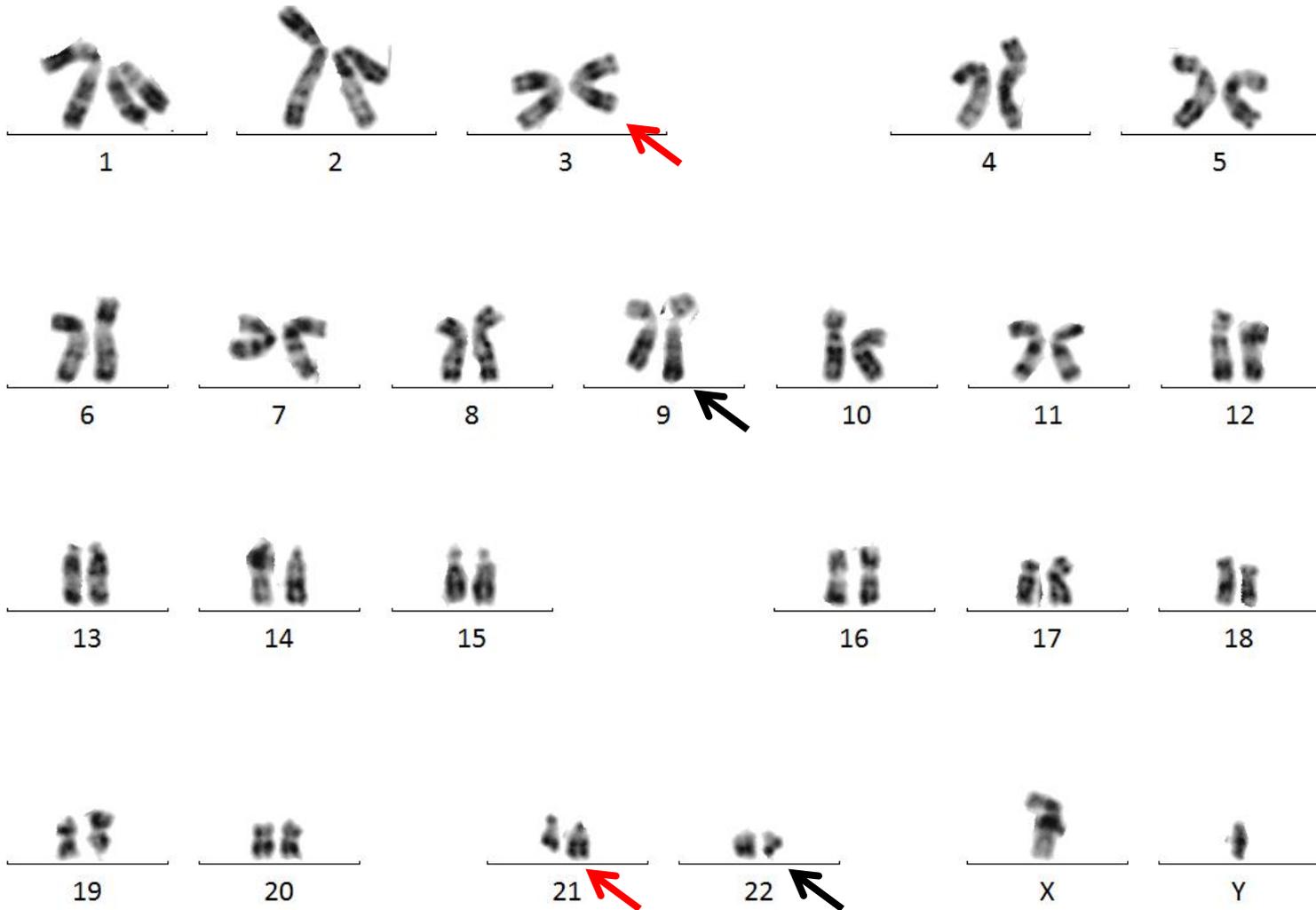
22/11/2017 : M11 : Cytologie : accélération

46,XY,t(3;21)(q26;q22),t(9;22)(q34;q11)[20]/46,XY,t(1;3)(p36;q21),t(9;22)(q34;q11)[2]/  
46,XY[8]

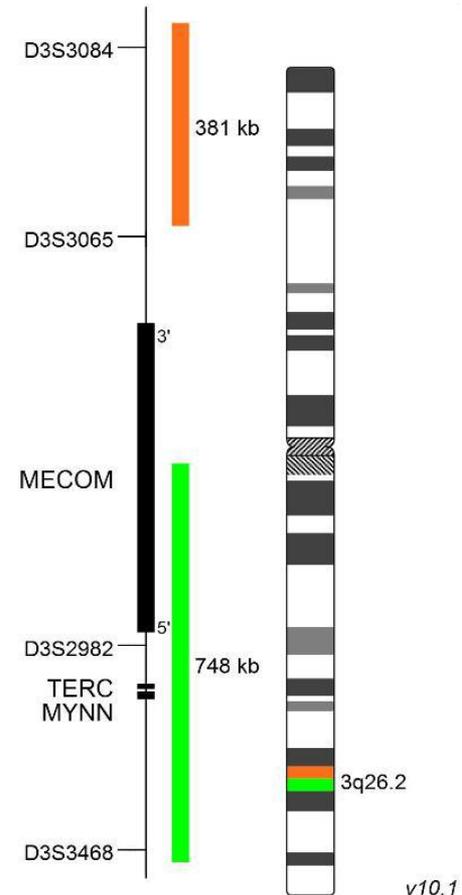
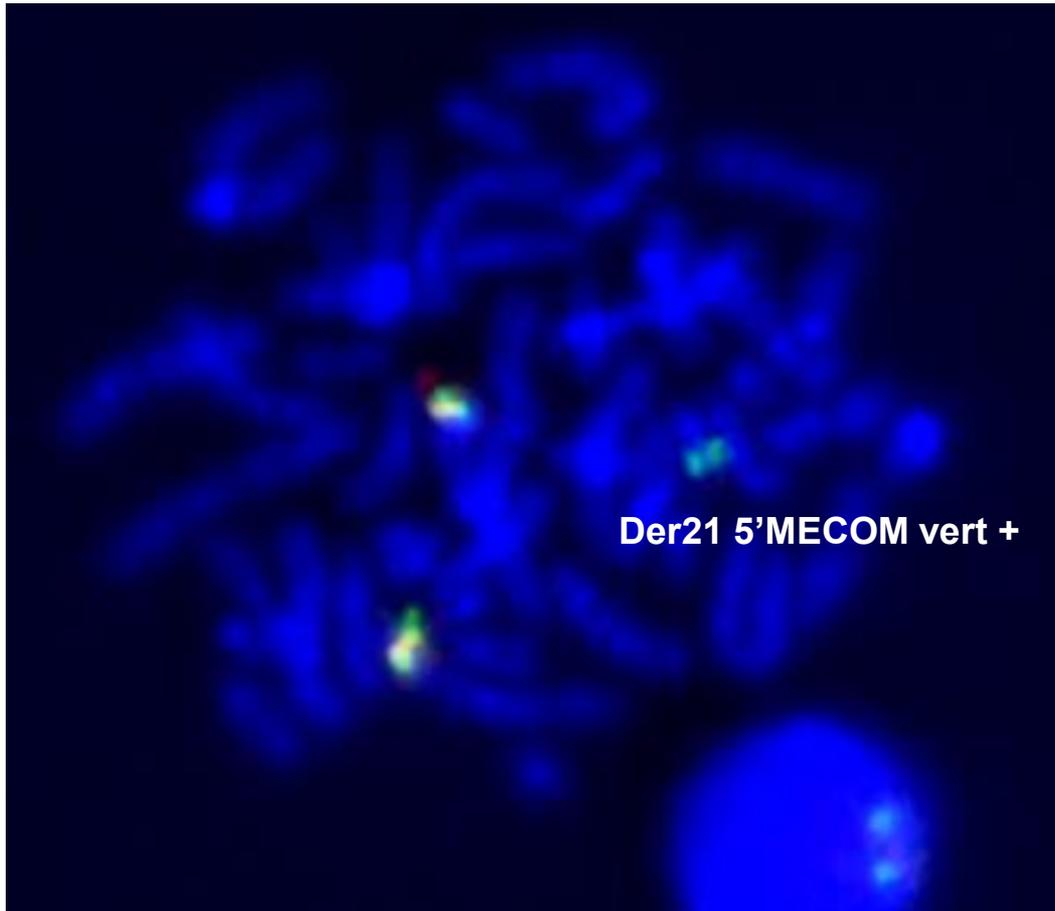


22/11/2017 : M11 : Cytologie : accélération

46,XY,t(3;21)(q26;q22),t(9;22)(q34;q11)[20]/46,XY,t(1;3)(p36;q21),t(9;22)(q34;q11)[2]/  
46,XY[8]



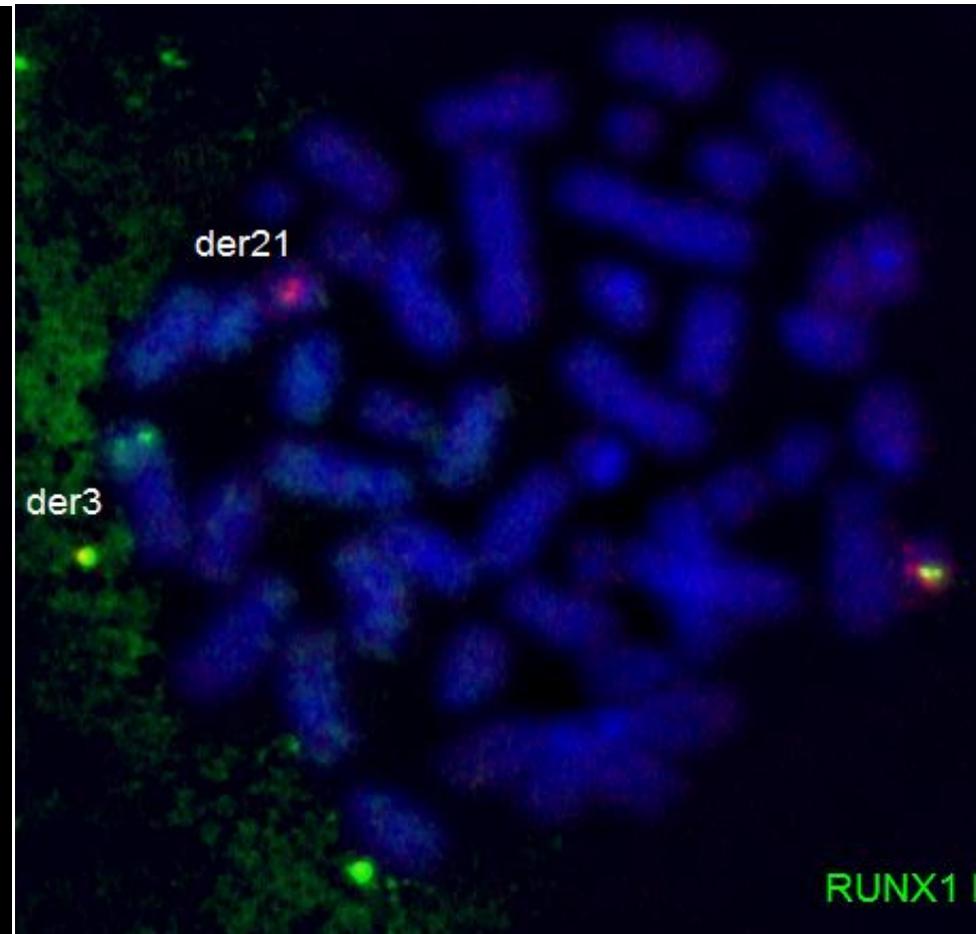
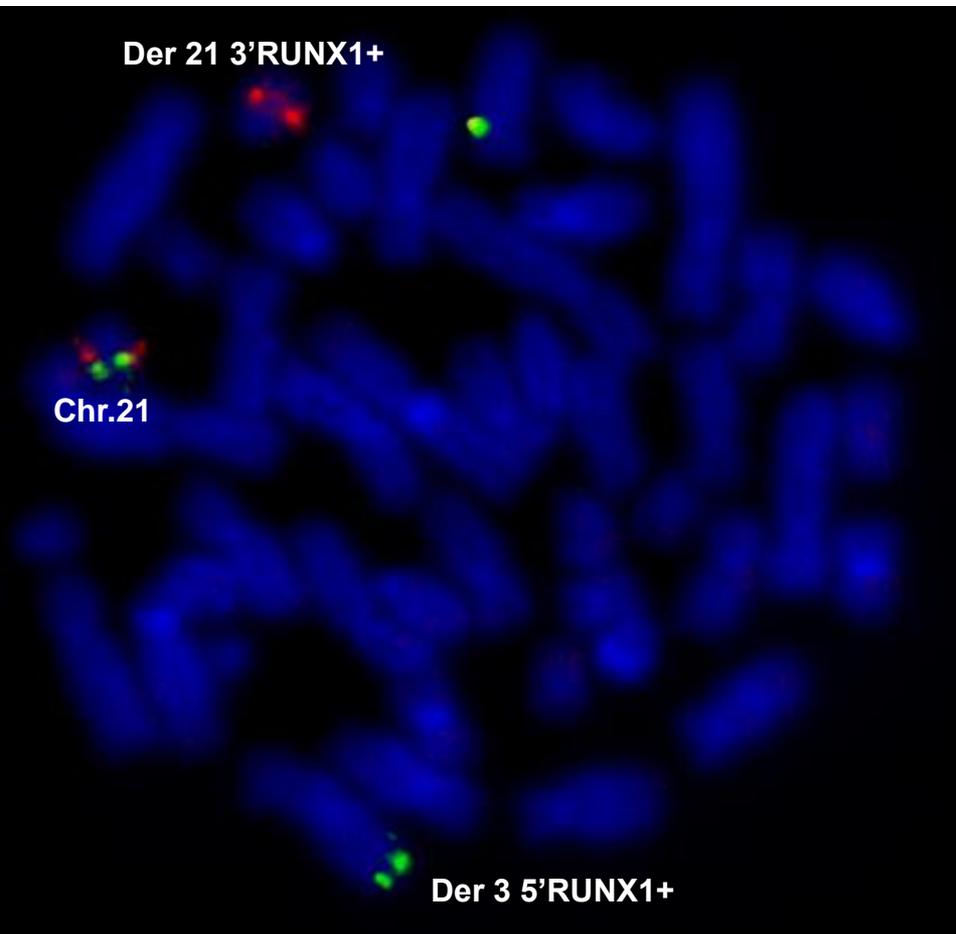
# FISH MECOM



Sonde MetaSystems®XL MECOM 3q26 Break Apart Probe

# FISH RUNX1 split maison

3'centro Rouge – 5'telo Vert



# Evolution

DATE		Caryotype	% BCR-ABL/ABL SI SANG	Traitement
18/11/2016	Diag	46,XY,t(9;22)(q34;q11)[20]		Imatinib
07/03/2017	M3		7,6319	Imatinib
08/06/2017	M6	46,XY,t(9;22)(q34;q11)[9]/ 46,sl,t(1;3)(p36;q21)[6]/ 46,XY[15]	8,0583	Imatinib
18/09/2017	M9		11,5113	Recherche de mutation : négative Switch Dasatinib
30/10/2017	M10		16,5773	Dasatinib
22/11/2017	M11: accélération	46,XY,t(3;21)(q26;q22),t(9;22)(q34;q11)[20]/ 46,XY,t(1;3)(p36;q21),t(9;22)(q34;q11)[2]/ 46,XY[8]		Dasatinib

## Myélogramme 27/12/2017 M12

### Cytologie\* :

28% de blastes d'aspect  
mégacaryoblastique,  
mégacaryocytes dysplasiques +++  
et > 10% des cellules,  
Micromégacaryocytes > 10%

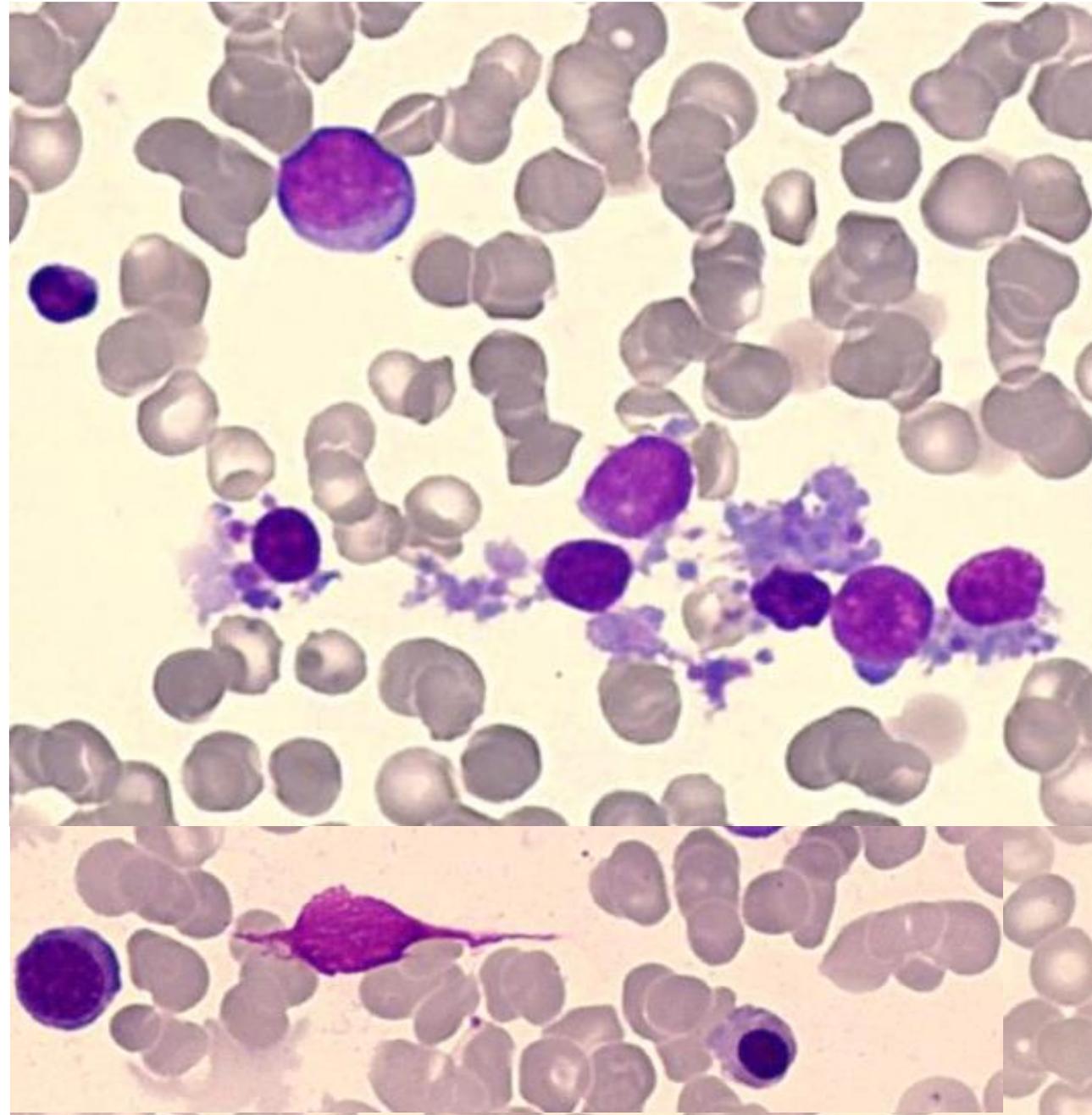
=> Transformation en LAM de  
type mégacaryoblastique

### Immunophénotypage :

blastes avec multiples aberrations  
phénotypiques et marqués pour la  
majorité d'entre eux par un profil  
mégacaryoblastique (CD34+  
CD117+/- CD13+ CD33+ CD36+  
**CD41+ CD61+ HLA-DR+**)

### Caryotype :

46,XY,t(3;21)(q26;q22),t(9;22)  
(q34;q11)[20]

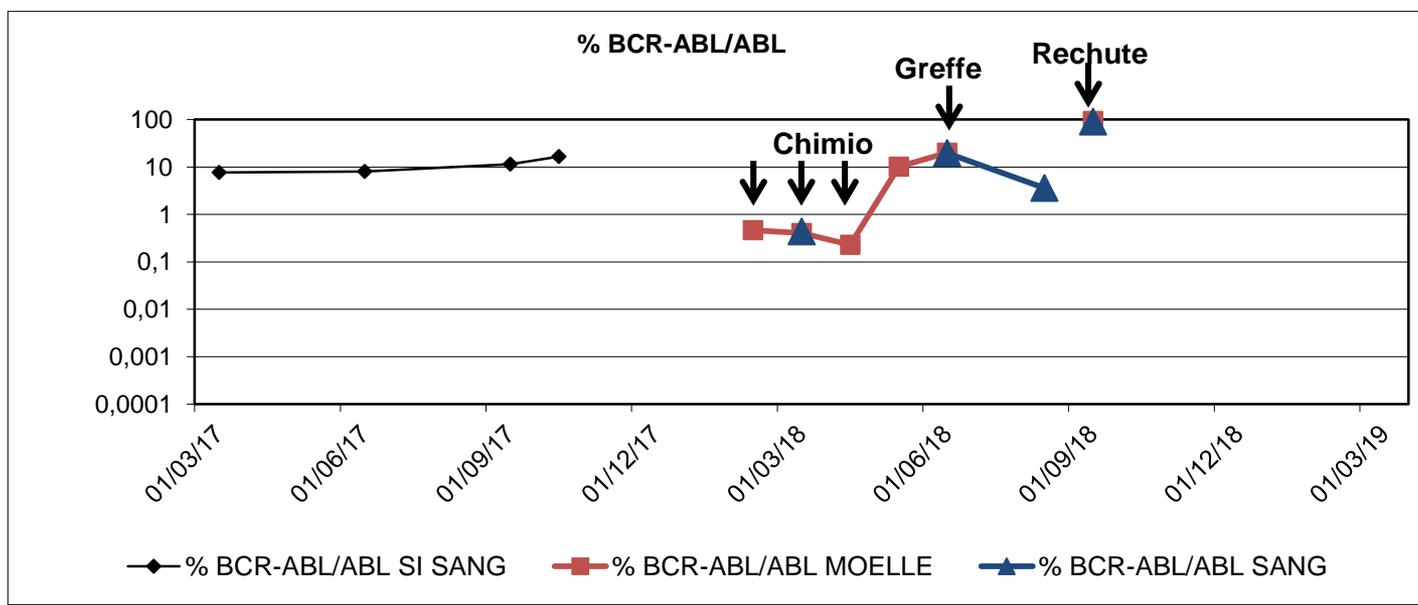


# Evolution

DATE		Caryotype	% BCR-ABL/ABL SI SANG	Traitement
18/11/2016	Diag	46,XY,t(9;22)(q34;q11)[20]		Imatinib
07/03/2017	M3		7,6319	Imatinib
08/06/2017	M6	46,XY,t(9;22)(q34;q11)[9]/46,sl,t(1;3)(p36;q21)[6]/46,XY[15]	8,0583	Imatinib
18/09/2017	M9		11,5113	Recherche de mutation : négative Switch Dasatinib
30/10/2017	M10		16,5773	Dasatinib
22/11/2017	M11	:46,XY,t(3;21)(q26;q22),t(9;22)(q34;q11)[20]/46,XY,t(1;3)(p36;q21),t(9;22)(q34;q11)[2]/46,XY[8]		Dasatinib
27/12/2018	M12 LAM	<b>46,XY,t(3;21)(q26;q22),t(9;22)(q34;q11)[20]</b>		FLT3 ITD et TKD -, NPM1-, CEBPA alpha -; Panel NGS : pas de mutations

# Traitement et évolution

- 03/01/18: Traitement d'**induction** selon LAM BIG Dauno 90 + Ponatinib -> RC
- 19/02/2018 -> 16/05/2018 : 3 **Consolidations** HDAC + Ponatinib (arret Ponatinib apres 1ere conso pour tox cardiaque)
- 22/06/2018 Bilan pré-greffe : myélogramme en RC cytologique mais MRD 22/06/18: 19.8%,
- **Allogreffe** phénoïdétique 10/10 CSP, 28/06/2018 (Pas de complication immédiate au décours : pas de GVH, réévaluation cardiaque le 19/07/2018: FEVG <40%, pas de reprise du PONATINIB.
- 25/07 : chimère>95%D
- 03/08 : MRD=3.58%
- 07/09/2018 : **Rechute** 47% de blastes ; **46,XY,t(9;22)(q34;q11)[3]/46,sl,t(3;21)(q26;q22)[13]/46,XY[4]**
- 10/09 : CDG : stop IS et mise sous nilotinib 300 mg matin et soir ; DLI dans 1 mois à programmer.



## Les translocations *EVI1*+ en phase blastique de LMC sont plus fréquentes sous ITK

Frequent *EVI1* translocations in myeloid blast crisis CML that evolves through tyrosine kinase inhibitors

Ronald L. Paquette<sup>a,\*</sup>, John Nicoll<sup>a</sup>, Meenal Chalukya<sup>a</sup>, David Elashoff<sup>b</sup>, Neil P. Shah<sup>c</sup>, Charles Sawyers<sup>d</sup>, Elizabeth Spiteri<sup>e</sup>, Gouri Nanjangud<sup>f</sup>, P. Nagesh Rao<sup>f</sup>

- *EVI1* = Facteur de transcription -> nbx gènes cibles
- Rôle majeur dans le développement tissulaire, la prolifération et différenciation des cellules souches hématopoïétiques
- Augmentation de la fréquence des translocations impliquant *EVI1* depuis les ITK :
  - 12% des phases blastiques de LMC avant exposition aux ITK -> **39% après ITK**
- **+ de mutations du domaine TK** de *bcr-abl* chez les patients en phase blastique avec translocation *EVI1* (71% vs 53%)

**1-L'inhibition par les ITK de la réparation double-brin médiée par c-abl kinase pourrait prédisposer aux translocations impliquant *EVI1***, stt chez les patients résistants aux ITK : inhibition de *c-abl* + mauvaise inhibition de *bcr-abl* -> augmentation ++ de l'instabilité génomique

**2- L'augmentation d'expression de *EVI1* collabore avec *bcr-abl* dans l'évolution des phases blastiques de LMC avec résistance aux ITK**

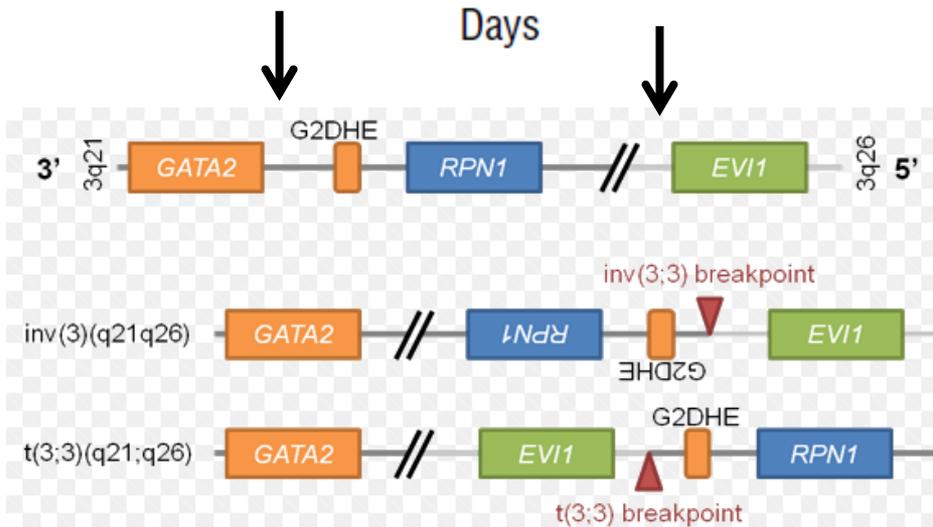
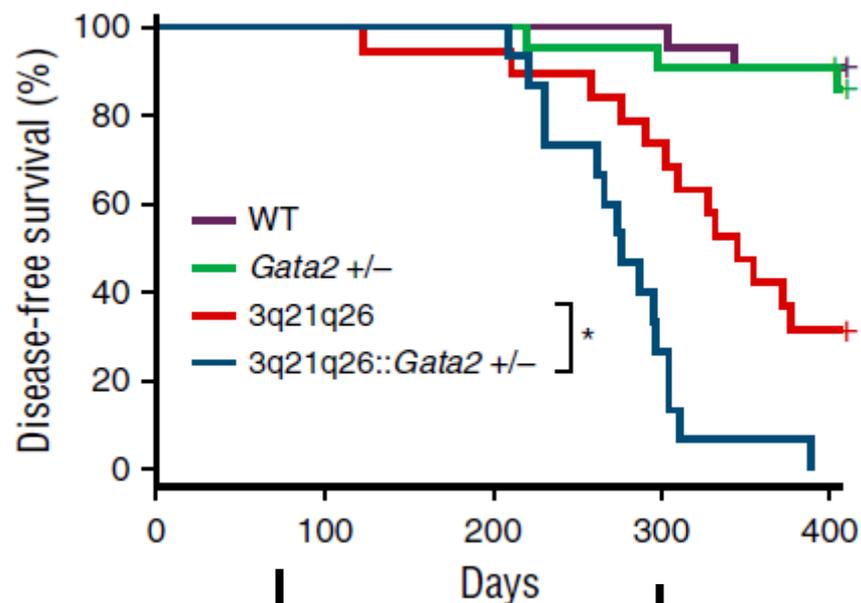
- modèles murins montrent que l'association des 2 anomalies suffit à l'évolution en phase blastique
- Evolution encore plus rapide vers phase blastique quand *bcr-abl* + t(3;21) type *RUNX1-EVI1*

## Inv(3) ou t(3;3) -> Haploinsuffisance de GATA2 + augmentation de l'expression d'EVI1 : effet coopératif sur la leucémogénèse

### • Effet coopératif sur leucémogénèse:

- Haploinsuffisance de GATA2 qui est privé de son enhancer : perte de fonction associée à leucémogénèse (cf mutations de GATA2 associées à SMD, LAM, Syndrome Monomac, Syndrome d'Emberger, formes familiales de SMD et LAM)
- Les réarrangements 3q21-3q26, en recrutant un enhancer distal de GATA2 (G2DHE) à proximité de EVI1 induisent une expression inappropriée de EVI1 G2DHE enhancer à proximité de EVI1 augmente son expression

→ développement de SMD et LAM



# The role of EVI-1 in normal hematopoiesis and myeloid malignancies (Review)

XIAOFEN YUAN<sup>1,2\*</sup>, XIDI WANG<sup>3\*</sup>, KEHONG BI<sup>4</sup> and GUOSHENG JIANG<sup>1</sup>

2032

INTERNATIONAL JOURNAL OF ONCOLOGY 47: 2028-2036, 2015

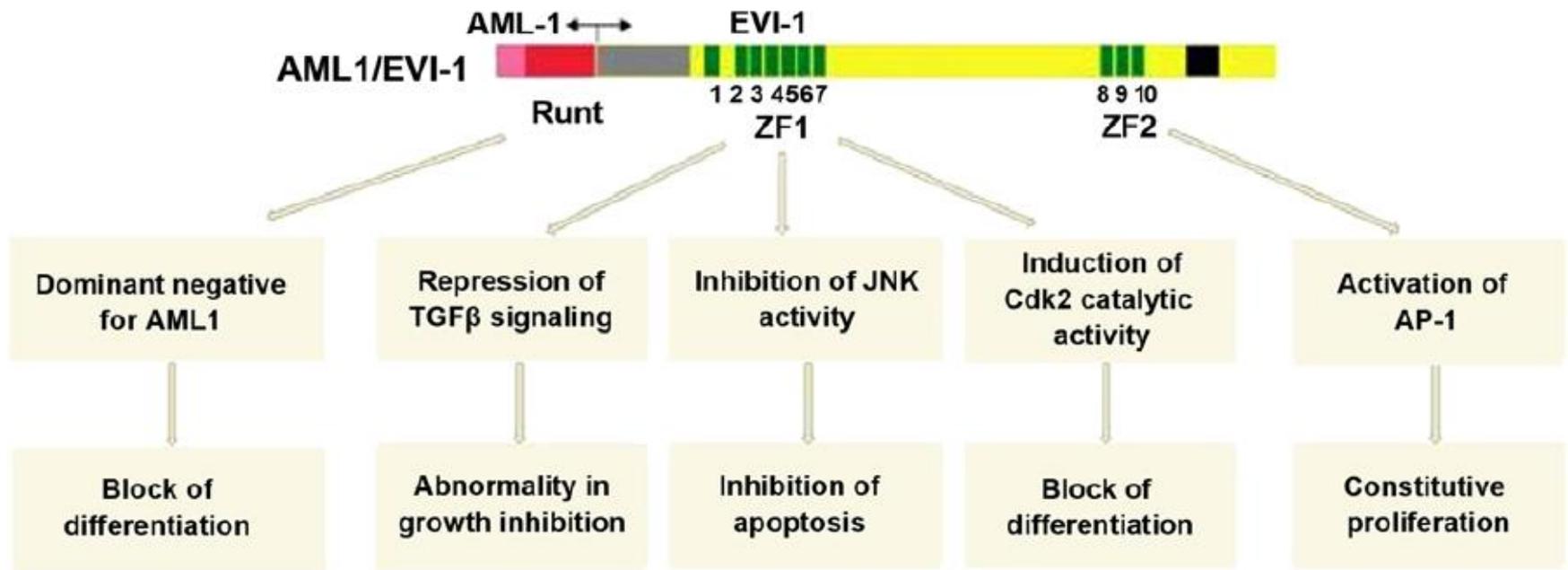


Figure 2. EVI-1 as critical regulator of leukemic cells, there are at least five mechanisms identified in EVI-1 protein than possibly lead into malignant transformation of hematopoietic stem cells.

## Risk stratification of chromosomal abnormalities in chronic myelogenous leukemia in the era of tyrosine kinase inhibitor therapy.

Wang W<sup>1</sup>, Cortes JE<sup>2</sup>, Tang G<sup>1</sup>, Khoury JD<sup>1</sup>, Wang S<sup>1</sup>, Bueso-Ramos CE<sup>1</sup>, DiGiuseppe JA<sup>3</sup>, Chen Z<sup>1</sup>, Kantarjian HM<sup>2</sup>, Medeiros LJ<sup>1</sup>, Hu S<sup>1</sup>.

- Impact pronostic des anomalies cytogénétiques bien étudié dans SMD et les LAM
  - SMD : score IPSS-R : 5 groupes d'anomalies cytogénétiques
  - LAM : différentes classifications -> 3 à 4 catégories pronostiques
- Dans la LMC, pas de score pronostique intégrant les ACAs
- Au diag : OMS 2016 : présence ACA (dont major route + caryo complexe + ano 3q26,2)-> phase accélérée
- Incidence des ACAs :
  - 10% au diagnostic en phase chronique
  - 30% des phases accélérées
  - 80-90% des phases blastiques
- Nombreuses études (y compris celles de l'ELN), ont classé les ACAs :
  - majeures : +8, +phi, i(17)(q10), +19 = anomalies fréquence >10%
  - mineures: autres = fréquence <10%
- ACAs identifiées lors de l'évolution clonale des LMC sont hétérogènes
- Hypothèse : les différentes anomalies peuvent jouer des rôles totalement différents :
  - certaines pourraient refléter uniquement l'instabilité génétique induite par l'activation continue de bcr-abl1
  - d'autres pourraient déclencher une progression de la maladie et/ou induire une résistance au traitement.

**Mais ne rendent pas compte de leur impact potentiel sur la réponse au traitement ou sur le pronostic !!**

➔ Nécessité d'établir un système de **stratification** basé sur l'**impact** des anomalies et **non sur leur incidence**.

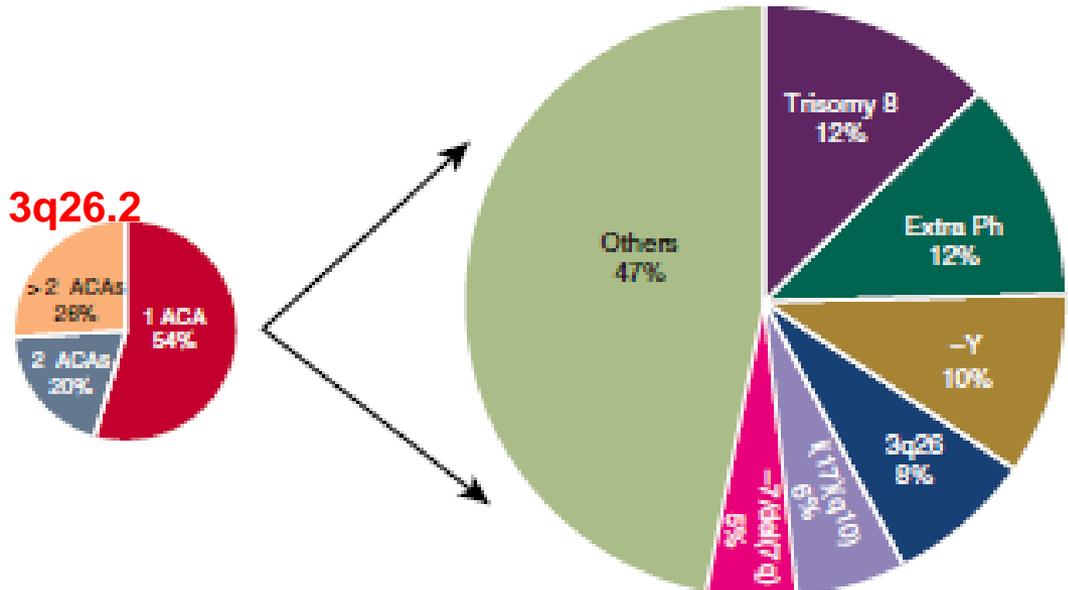
## Risk stratification of chromosomal abnormalities in chronic myelogenous leukemia in the era of tyrosine kinase inhibitor therapy.

Wang W<sup>1</sup>, Cortes JE<sup>2</sup>, Tang G<sup>1</sup>, Khoury JD<sup>1</sup>, Wang S<sup>1</sup>, Bueso-Ramos CE<sup>1</sup>, DiGiuseppe JA<sup>3</sup>, Chen Z<sup>1</sup>, Kantarjian HM<sup>2</sup>, Medeiros LJ<sup>1</sup>, Hu S<sup>1</sup>.

- Evolution clonale des LMC associée à
  - apparition d'ACAs
  - généralement à une diminution réponse aux ITK
  - moins bonne survie
- Les ACAs sont considérées comme un signe de progression de la maladie et constituent un des critères pour définir la phase accélérée de la maladie, mais l'impact pronostic différentiel des différentes ACAs non connu et pas de classification pronostique basée sur l'impact des ACAs.
- L'étude (2013 cas de LMC, 608 avec ACAs) s'est concentrée sur les anomalies uniques au moment de l'émergence de l'ACA -> elle a permis d'individualiser les 6 anomalies les plus fréquentes et d'individualiser 2 groupes :

- Groupe 1 : **-Y, +8, + Phi**  
pronostic plutôt **favorable**

- Groupe 2 : **i(17)(q10), -7/del7q, réarr. 3q26.2**  
pronostic **défavorable**



## ACAs du groupe 1 :

### -Y, +8, + Phi

- Emergent souvent en phase chronique
- pas d'impact péjoratif sur la survie si elles apparaissent en phase chronique au moment du diagnostic

## ACAs du groupe 2 :

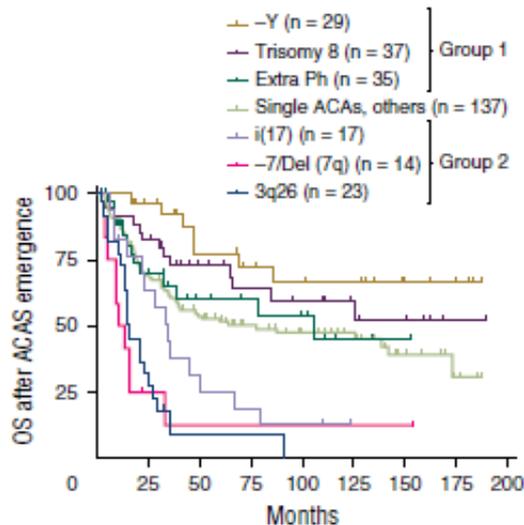
### i(17)(q10), -7/del7q, réarr. 3q26.2

- Emergent souvent en phase d'accélération ou phase blastique
- Apparition d'une ACA du groupe 2, à n'importe quel moment ou phase de la maladie = mauvais pronostic par rapport aux LMC sans ACA

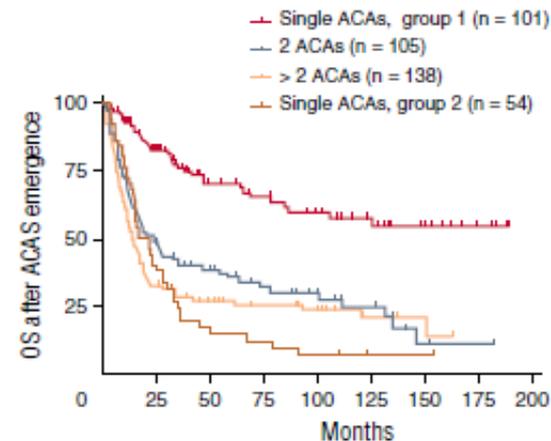
## Présence 2 ACAs ou plus

- survie inférieure et peuvent de fait entrer dans le groupe de mauvais pronostic.

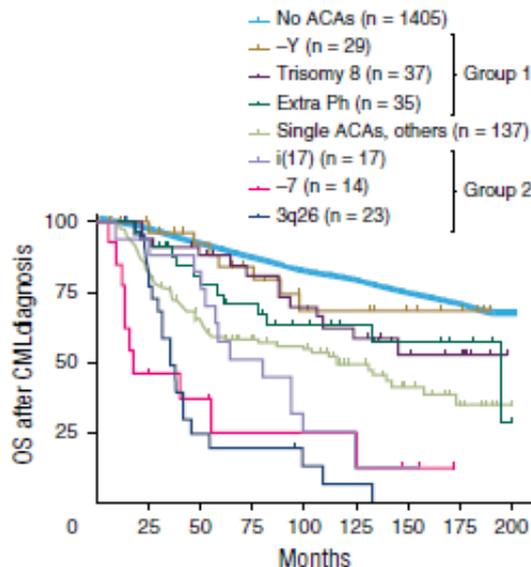
**B**



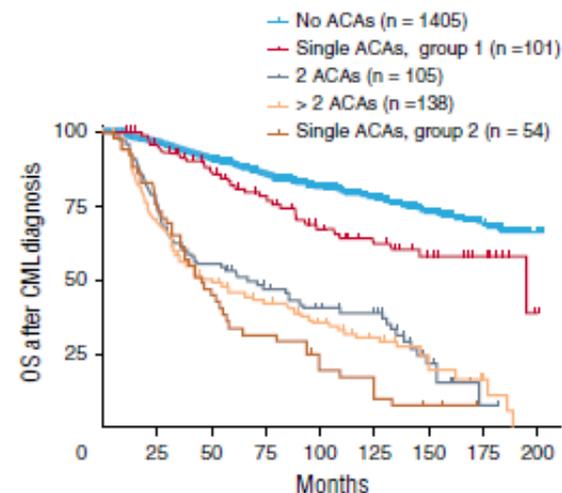
**D**



**C**



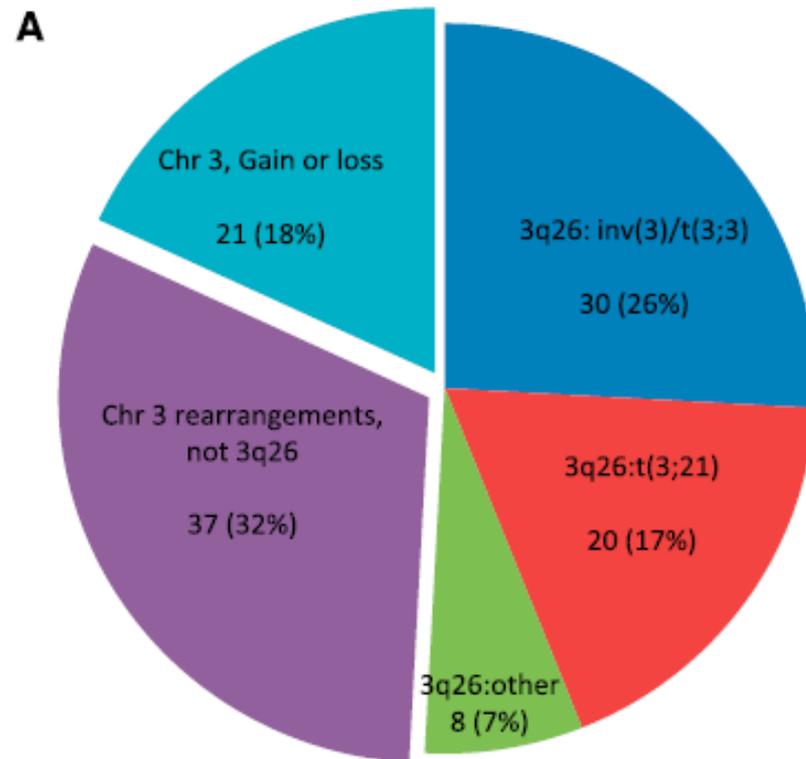
**E**



## Clinical and prognostic significance of 3q26.2 and other chromosome 3 abnormalities in CML in the era of tyrosine kinase inhibitors.

Wang W<sup>1</sup>, Cortes JE<sup>2</sup>, Lin P<sup>1</sup>, Beaty MW<sup>3</sup>, Ai D<sup>1</sup>, Amin HM<sup>1</sup>, McDonnell TJ<sup>1</sup>, Ok CY<sup>1</sup>, Kantarjian HM<sup>2</sup>, Medeiros LJ<sup>1</sup>, Hu S<sup>1</sup>.

- Anomalies 3q26 dans les LAM (incluant les inv(3)/t(3;3) et les t(3;21)) = pronostic défavorable.
- Leur prévalence, leur réponse aux ITK, et leur signification pronostique dans les LMC sont inconnues
- Cohorte de 2013 patients avec une LMC diagnostiquée à l'ère des ttt par ITK.
- **Anomalies du chr.3 = 116 cas/608 ACAS (19% des ACAs).**
- 5 groupes :
  - A : Inv(3)/t(3;3) 26%
  - B : t(3;21) : 17%
  - C : Autres réarrangements 3q26.2 : 7%
  - D : Réarrangements 3q non 3q26.2 : 32%
  - E : Gain ou perte partielle du chr.3 : 18%

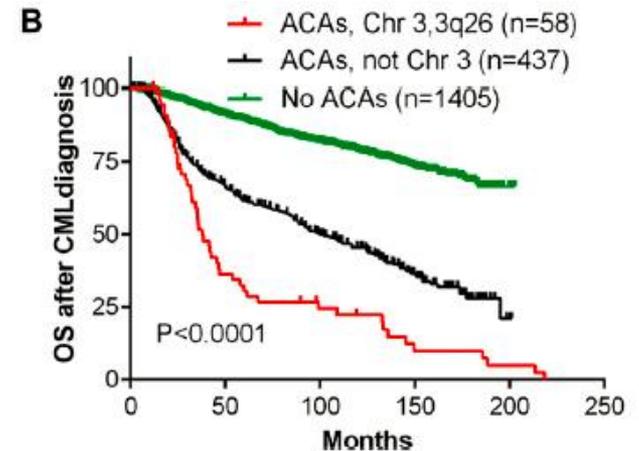
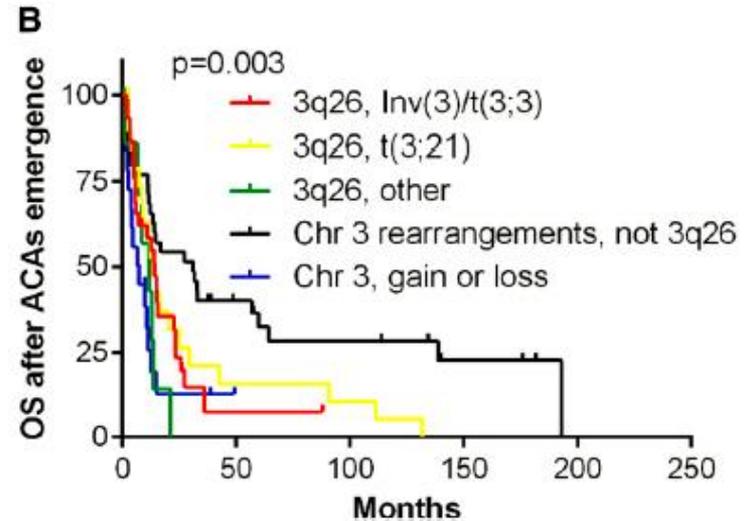
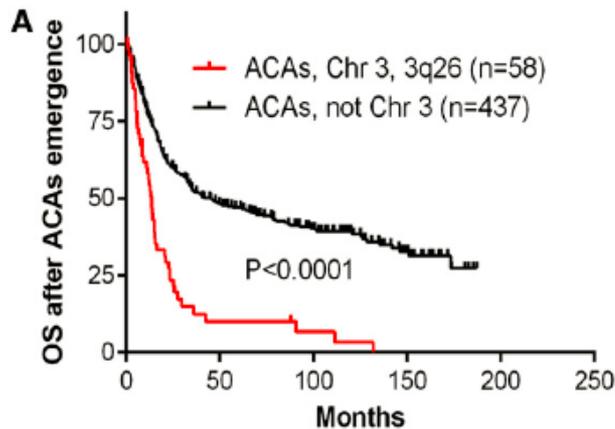


## Anomalies 3q26.2

- **les + fréquentes** : 50% des anomalies du chr.3
- émergent à différentes phases de la maladie
- en phase chronique ou accélérée = haut risque de **transformation**
- **mauvaise réponse aux ITK** , aucun patient avec réponse substantielle de longue durée sur le plan cytogénétique ou moléculaire.
- **Survie plus faible** comparées aux autres anomalies cytogénétiques additionnelles de LMC
- Présence ou l'absence d'autre(s) anomalie(s) sans impact sur la survie : rôle prédominant des anomalies 3q26.2 comme facteur pronostic.

## Autres anomalies du chr.3

- Hétérogènes mais aussi + **mauvais pronostic** que les autres anomalies affectant d'autres chromosomes.



# Conclusion

- Anomalies 3q26 EVI1+ plus fréquentes depuis l'introduction des ITK et mutations du domaine TK plus fréquentes chez les patients EVI1+
- Nécessité d'un score pronostic intégrant les ACAs dans la LMC
- Nouvelles publications avec étude de l'impact pronostic des anomalies les plus fréquentes
  - > groupe favorable : -Y,+8,+Phi
  - >groupe défavorable : i(17)(q10),-7/del7q, anomalies 3q26
- Anomalies 3q26 et autres anomalies du chr.3 associées à un mauvais pronostic

Merci de votre attention



# Remerciements

- Dr Audrey Bidet
- Dr Jean-Philippe Vial et Dr Nicolas Lechevalier, secteurs de cytologie et CMF, CHU de Bordeaux
- Toute l'équipe des secteurs de cytogénétique et biologie moléculaire des Hémopathies du CHU de Bordeaux
- Dr Françoise Durrieu et Dr Julie Blanchi, Laboratoire d'Hématologie, Institut Bergonié, Bordeaux
- Dr Gabriel Etienne, Service d'Hématologie, Institut Bergonié, Bordeaux