

Recherche de la perte des gènes *RBM22*, *RBM27* et *SLU7* dans les Syndromes Myélodysplasiques del5q

Situation du sujet

Des anomalies d'épissage sont observées fréquemment dans certaines formes de SMD, notamment les SMD à sidéroblastes en couronnes pour lesquels un fort taux de mutations dans le gène *SF3B1* est trouvé.

Dans les **syndromes myélodysplasiques avec délétion 5q (SMD del5q)**, le taux de mutation dans des gènes de l'épissage est extrêmement faible comparé aux autres SMD diploïdes pour le chromosome 5 (Hosono et al, 2017), suggérant une possible haploinsuffisance dans des gènes de l'épissage dans les SMD del5q, et renforçant l'idée que des mutations additionnelles dans ces gènes seraient létales.

Nous nous intéressons aux gènes impliqués dans l'épissage alternatif des ARN pré-messagers, portés par le chromosome 5, qui pourraient être délétés dans les SMD del5q. Trois gènes ont été identifiés répondant à ce double critère : *RBM22* (en 5q33.1), *RBM27* (en 5q32) et *SLU7* (en 5q33.3).

Le gène *RBM22* est porté par la région délétée commune dans les syndromes 5q- (Boulwood et al, 2007) et dans la majeure partie des SMD del5q isolés ou complexes (Douet-Guilbert et al, 2002).

De plus, une diminution de moitié du taux de transcrits dans les syndromes 5q- est rapportée pour les gènes *RBM22* et *RBM27* comparés à des contrôles sains (Boulwood et al, 2007). Le complexe responsable des premières étapes de l'épissage contient les deux protéines *RBM22* et *SLU7* (Zhang et al, 2017). Enfin, des pertes de *SLU7* sont associées à une instabilité génomique (Jimenez et al, 2019), alors que l'haploinsuffisance de *RBM22* est associée à des anomalies du cycle cellulaire via une altération de l'épissage alternatif. Finalement, dans leur étude sur l'impact de la déplétion de chacun des gènes de la région délétée commune des syndromes 5q-, Ebert *et al.* montrent que la déplétion de *RBM22* dans des cellules CD34+ impacte la maturation érythroïde (Ebert et al, 2008).

Ainsi, l'ensemble de ces arguments nous pousse à questionner l'impact de la perte de *RBM22* dans les SMD del5q, en s'intéressant à une possible coopération oncogénique entre *RBM22* et *SLU7*.

But de l'étude

Objectif primaire :

Nous souhaitons évaluer la fréquence de délétion des gènes *RBM22*, *RBM27* et *SLU7* dans les SMD del5q isolées et les SMD del5q complexes. Ces deux groupes de patients seront analysés séparément. Nous étudierons en particulier les associations entre ces délétions.

Objectifs secondaires :

Nous chercherons à quantifier le taux de transcrits de ces trois gènes dans les cellules CD34+ triées.

Nous séquencerons si besoin ces trois gènes.

Si possible, nous rechercherons à évaluer l'impact pronostic de l'association de la déplétion de ces gènes.

Critères d'inclusion

Tous les SMD del5q isolées ou complexes pour lesquelles :

- Les données clinico-biologiques sont connues au diagnostic
- Les données clinico-biologiques sont connues 1 an après le diagnostic
- Le consentement est accordé (modèle page 14)

Matériels

- Culot cytogénétique ou lames

NOM : 3 premières lettres du **nom**, 2 premières lettres du **prénom** : _ _ _ _ / _ _ _

- Dans la mesure du possible, mais non obligatoire, matériel congelé disponible (dont ARN et cellules en DMSO)
- Dans la mesure du possible, mais non obligatoire, ADN.

Réalisation

- Tous les cas retenus seront screenés en FISH avec des sondes à façon couvrant les gènes *RBM22*, *RBM27* et *SLU7* : envoi des culots ou lames au laboratoire de génétique chromosomique du CHRU de Brest (adresse ci-dessous).^[L]_{SEP}]
- Pour certains de ces cas, des dosages de transcrits seront réalisés par RT-PCR quantitative : envoi de cellules en DMSO si disponible.
- Si besoin nous séquencerons ces gènes.

L'étude est rétrospective et prospective sur une durée de 1 an, de septembre 2020 à septembre 2021 au moins.

La validation des inclusions aura lieu en sous-groupe et en groupe.

Les fiches remplies seront retournées à Marie-Bérengère Troadec.

Pour les envois d'échantillons « précieux » de type cellules ou ARN, merci de nous mettre un mail avant l'envoi afin que nous tracions la réception.

Un consentement signé du patient est nécessaire à cette étude. (modèle page 14)

Bibliographie

Boulwood J, Pellagatti A, Cattan H, et al. Gene expression profiling of CD34+ cells in patients with the 5q-syndrome. *British Journal of Haematology*. 2007;139(4):578–589.

Douet-Guilbert N, De Braekeleer E, Basinko A, et al. Molecular characterization of deletions of the long arm of chromosome 5 (del(5q)) in 94 MDS/AML patients. *Leukemia*. 2012;26(7):1695–1697.

Ebert BL, Pretz J, Bosco J, et al. Identification of RPS14 as a 5q- syndrome gene by RNA interference screen. *Nature*. 2008;451(7176):335–339.

Hosono N, Makishima H, Mahfouz R, et al. Recurrent genetic defects on chromosome 5q in myeloid neoplasms. *Oncotarget*. 2017;8(4):6483–6495.

Jiménez M, Urtasun R, Elizalde M, et al. Splicing events in the control of genome integrity: role of SLU7 and truncated SRSF3 proteins. *Nucleic Acids Res*. 2019;47(7):3450–3466.

Zhang X, Yan C, Hang J, et al. An Atomic Structure of the Human Spliceosome. *Cell*. 2017;169(5):918-929.e14.

RESPONSABLES DE L'ETUDE

Marie-Bérengère TROADEC
Marie-berengere.troadec@univ-brest.fr
Tel : 06 49 46 08 41 / 02 30 33 80 55
Fax : 02 98 22 39 61

Nathalie DOUET-GUILBET
Nathalie.douet-guilbert@univ-brest.fr
Tel : 02 29 02 02 23
Fax : 02 98 22 39 61

Laboratoire de génétique chromosomique
CHRU Brest Morvan
2 avenue Foch
29609 BREST CEDEX

Laboratoire de génétique chromosomique
CHRU Brest Morvan
2 avenue Foch
29609 BREST CEDEX

CYTOGENETICIEN RESPONSABLE DU DOSSIER

NOM : 3 premières lettres du **nom**, 2 premières lettres du **prénom** : _ _ _ / _ _

NOM, Prénom :.....

Centre :.....

Adresse :.....

Tel :.....**Fax**:.....

Mail :.....

CYTOLOGISTE RESPONSABLE DU DOSSIER

NOM, Prénom :.....

Centre :.....

Adresse :.....

Tel :.....**Fax**:.....

Mail :.....

CLINICIEN RESPONSABLE DU DOSSIER

NOM, Prénom :.....

Centre :.....

Adresse :.....

Tel :.....**Fax**:.....

Mail :.....

NOM : 3 premières lettres du **nom**, 2 premières lettres du **prénom** : ____ / ____

**PROJET SMD DEL 5 Q
BREST**

FICHE D'INCLUSION A ENVOYER PAR EMAIL OU FAX

Recherche-smd@chu-brest.fr

Recherche-smd@sante.chu-brest.fr (messagerie sécurisée, APYCRYPT)

FAX : 02 98 22 39 61

	Syndromes Myélodysplasiques Del5 q et RBM22 (SMD-RBM22) (cadre réservé au CHRU BREST)		
	N° Echantillon ModulBio _____	Nom _ _ (1 ^{ère} lettre du nom)	Prénom : _ _ (1 ^{ère} lettre du prénom)

INCLUSION

Date d'inclusion |_|_| |_|_| |_|_|

Identification du patient (par le centre associé) _____

date de naissance : jour/mois/année : ____ / ____ / _____

CRITRES D'INCLUSION	OUI	NON
Patient majeur		
Patient diagnostiqué avec une SMD del5q isolée ou non		
Les données clinico-biologiques sont connues au diagnostic		
Les données clinico-biologiques sont connues 1 an après le diagnostic		
Consentement relatif à la collection d'échantillons à des fins de recherche signé		
Patient ayant formulé sa non-opposition ou accordé son consentement		
Date de la non-opposition _ _ _ _ _ _		

Si une ou plusieurs cases « NON » sont cochées ci-dessus, le patient n'est pas inclus

CRITRES DE NON INCLUSION	OUI	NON
- Patients sous protection judiciaire (tutelle, ...)		
- Patient refusant de participer.		

Si une ou plusieurs cases « OUI » sont cochées le patient n'est pas inclus

Date : |_|_| |_|_| |_|_|

Nom de l'investigateur :

Signature

NOM : 3 premières lettres du **nom**, 2 premières lettres du **prénom** : ___ ___ / ___ ___

IDENTIFICATION DU PATIENT

NOM : 3 premières lettres du **nom**, 2 premières lettres du **prénom** : ___ ___ / ___ ___

Date de Naissance (JJ/MM/AAAA) : ___ ___ / ___ ___ / ___ ___

Sexe : Masculin Féminin

Date de naissance (JJ/MM/AA) : ___ ___ / ___ ___ / ___ ___

Existence d'un consentement à la recherche : Oui Non
Si non, prévoir d'obtenir le consentement (modèle joint page 14)

RENSEIGNEMENTS CLINICO-BIOLOGIQUES

Date du diagnostic (JJ/MM/AAAA) : ___ ___ / ___ ___ / ___ ___

ANTECEDENTS

Néoplasie associée : Oui Non Inconnu

Si oui, Nature :..... Date (JJ/MM/AA) : ___ ___ / ___ ___ / ___ ___

Traitement antérieur (radiothérapie, chimiothérapie, à préciser) :.....
.....

Exposition professionnelle ou traitement antérieur : Oui Non Inconnu

Si oui, préciser :

- □□□□□□ : Date (MM/AA) ___ ___ / ___ ___
- Colorants : Date (MM/AA) ___ ___ / ___ ___
- Radiations : ^[L]_{SEP} Date (MM/AA) ___ ___ / ___ ___
- Radiothérapie : ^[L]_{SEP} Date (MM/AA) ___ ___ / ___ ___
- Chimiothérapie : ^[L]_{SEP} Date (MM/AA) ___ ___ / ___ ___

Si oui, Nature :

- Autres :

NOM : 3 premières lettres du **nom**, 2 premières lettres du **prénom** : _ _ _ / _ _

EVOLUTION DE LA MALADIE

Date des dernières nouvelles.....

Traitements.....

- **Evolution:** Oui / Non / Inconnu / Non applicable (si oui, rajouter une fiche cytologie)

Si oui, date : Type OMS : % blastes médullaires :

Caryotype: fait / non fait (si fait rajouter une fiche cytogénétique) et mentionner en particulier s'il y a des modifications par rapport au caryotype initial

Traitements.....

.....

- **Transformation en LAM** : Oui / Non / Inconnu (si oui, rajouter une fiche cytologie)

Si oui, date : Type FAB ou OMS : % blastes médullaires :

Traitements.....

.....

.....

Caryotype de la LAM : fait / non fait (si fait rajouter à la fiche cytogénétique) et mentionner en particulier s'il y a des modifications par rapport au caryotype initial

Décès : Oui / Non / Inconnu

Si oui : date :cause (si connue) :

Analyses moléculaires déjà réalisées : Oui Non

Si oui, joindre une copie du compte-rendu

NOM : 3 premières lettres du **nom**, 2 premières lettres du **prénom** : _ _ _ / _ _

MATERIEL CONGELE

Culot de cytogénétique : Oui / Non Date :

Culot de cytogénétique : Oui / Non Date :

Cellules DMSO : Oui / Non Date : Nbre cell. (millions) / tube : Nbre tubes :

Culot sec : Oui / Non Date : Nbre cell. (millions) / tube : Nbre tubes :

ADN génomique : Oui / Non Date : Nbre µg :

ARN : Oui / Non Date : Nbre µg :

ADN complémentaire : Oui / Non Date : Nbre µg :

NOM : 3 premières lettres du **nom**, 2 premières lettres du **prénom** : _ _ _ / _ _

DOSSIER CYTOGENETIQUE

Date du prélèvement (JJ/MM/AA) : _ _ / _ _ / _ _

Type de prélèvement : Sang ☐ Moelle ☐ Autre ☐ :.....

Temps de culture : Additifs : Synchronisation : Oui / Non

Caryotype :

Bandes : RHG ☐ GTG ☐ QFQ ☐

Nombre de mitoses étudiées : Nombre de mitoses avec anomalie clonale :

Nombre modal : Nombre de clones anormaux :

Formule chromosomique :

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Caryotype de l'évolution (LAM,) : fait / non fait

Mentionner en particulier s'il y a des modifications par rapport au caryotype initial

Date du prélèvement :

Type de prélèvement : Sang ☐ Moelle ☐ Autre ☐ :.....

Formule chromosomique :

.....

.....

.....

.....

NOM : 3 premières lettres du **nom**, 2 premières lettres du **prénom** : _ _ _ / _ _

Etude FISH :

1^{ère} Sonde utilisée (fournisseur / localisation) :

Nombre de métaphases anormales / nombre de métaphases analysées: soit : %

Type anomalie :

Nombre de noyaux anormaux / nombre de noyaux analysés: soit : %

Type anomalie : Seuil de positivité : %

2^{ème} Sonde utilisée (fournisseur / localisation):

Nombre de métaphases anormales / nombre de métaphases analysées: soit : %

Type anomalie :

Nombre de noyaux anormaux / nombre de noyaux analysés: soit : %

Type anomalie : Seuil de positivité : %

3^{ème} Sonde utilisée (fournisseur / localisation):

Nombre de métaphases anormales / nombre de métaphases analysées: soit : %

Type anomalie :

Nombre de noyaux anormaux / nombre de noyaux analysés: soit : %

Type anomalie : Seuil de positivité : %

Autres Sondes utilisées : rajouter une feuille FISH éventuellement

Formule ISCN 2016 :

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Modifications du caryotype après FISH :

NOM : 3 premières lettres du **nom**, 2 premières lettres du **prénom** : _ _ _ / _ _

.....

.....

.....

.....

COMMENTAIRES DU SOUS-GROUPE : lieu, date

COMMENTAIRES DU GROUPE : date

FORMULE REVISEE

--

MERCI !

NOM : 3 premières lettres du **nom**, 2 premières lettres du **prénom** : ____ / ____

Notice d'information sur le projet de recherche sur le syndrome myélodysplasique (SMD)

Etude multicentrique rétrospective de l'impact de la double haploinsuffisance des gènes *RBM22* et *SLU7* dans les syndromes myélodysplasiques del5q isolés ou non par rapport à la simple haploinsuffisance de *RBM22* et aux syndromes myélodysplasiques à caryotype normal.

XXXXXX, le XX/XX/XX
Monsieur Prénom-Nom
Adresse

Madame, Monsieur,

Vous êtes ou avez été suivi(e) dans le service d'hématologie pour une suspicion, un diagnostic ou une surveillance de Syndrome Myélodysplasique (SMD). Dans le cadre de la prise en charge de votre pathologie, des échantillons biologiques ont été prélevés pour établir le diagnostic. Votre médecin vous a alors proposé de participer à la constitution d'une collection de matériel biologique en signant un consentement, l'objectif étant de constituer une collection de moelle osseuse à partir d'un prélèvement réalisé dans le cadre de votre prise en charge. Cette démarche permet ainsi de conserver, avec votre accord, le matériel biologique excédentaire au diagnostic en vue de réaliser des études scientifiques sur les SMD. Ces échantillons excédentaires à destination de recherche sont conservés par le Centre de Ressource Biologique (CRB) de l'établissement qui vous suit.

Les SMD sont des maladies fréquentes de la moelle osseuse et touchent principalement les personnes ayant plus de 60 ans mais les sujets jeunes peuvent également être affectés. Normalement, la moelle osseuse produit trois types de cellules circulant dans le sang : les globules rouges ou hématies, les globules blancs ou leucocytes et les plaquettes. Chez les patients atteints de SMD, la moelle osseuse fonctionne de façon anormale avec une production insuffisante de cellules sanguines et des cellules morphologiquement anormales (cellules dites dysplasiques). Il existe plusieurs formes de SMD et les causes exactes de cette pathologie sont encore mal connues.

L'amélioration de nos connaissances sur le diagnostic et le suivi de cette pathologie est notre principale préoccupation. Pour mieux comprendre la maladie, nous cherchons à étudier l'impact pronostic de certains profils cytogénétiques de patients atteints de SMD, dont vous faites partie, sur l'évolution de la maladie en vue d'en améliorer la prise en charge. Cette étude est coordonnée par Pr Marie-Béregère TROADEC de génétique chromosomique du CHRU de Brest et le CHRU de Brest en est le gestionnaire.

Elle va nécessiter les données et échantillons de 100 patients sur toute la France.

En plus des échantillons, cette étude implique la collecte de données de santé supplémentaire sur l'évolution de la maladie à un an du diagnostic. Vos échantillons et vos données de santé vont donc être mutualisés au sein du Centre de Ressources Biologique (CRB) du CHRU de Brest afin de répondre à la question scientifique posée.

Un traitement informatique de vos données personnelles va être mis en œuvre pour permettre d'analyser les résultats dans le respect de la confidentialité et du secret médical. Dans le fichier informatique de données de l'étude, vos données seront codées. Ces données seront recueillies et transmises au responsable de la recherche, le Pr Marie-Béregère TROADEC du CHRU de Brest qui s'assurera de leur codification et de leur protection.

Vous êtes libre de changer d'avis à tout moment. Conformément à la loi, vous disposez d'un droit d'accès, de limitation, de rectification et d'opposition à la conservation et transmission des échantillons et de vos données couvertes par le secret professionnel susceptibles d'être utilisées et d'être traitées dans le cadre de la recherche.

Si vous avez des questions, vous pouvez toujours contacter le Pr TROADEC à l'adresse générique :

Recherche-smd@chu-brest.fr

Ce courrier est informatif car vous avez déjà donné votre consentement pour la conservation des excédents d'échantillons biologiques issus de votre parcours de soin pour la recherche. Sans manifestation écrite de votre part auprès du Pr TROADEC, coordinatrice de l'étude, à l'adresse suivante (Recherche-smd@chu-brest.fr) **dans les 15 jours** suivant la date de ce courrier, nous considérerons votre accord confirmé et vous ferez partie de cette étude de recherche initiée par le CHRU de Brest et à laquelle participe le Groupe Français des Myélodysplasies (GFM) et le Groupe Français de Cytogénétique Hématologique (GFCH). En cas de manifestation de votre part à ce courrier, la coordinatrice en fera part au clinicien qui vous suit afin que vos données ne nous soient pas transmises.

Bien sincèrement,
Pr Marie-Béregère TROADEC, coordinatrice nationale
et Dr Nathalie DOUET-GUILBERT
CHRU Brest -Laboratoire de génétique chromosomique
2 avenue Foch 29609 BREST CEDEX



Un exemplaire de ce document signé par le patient est conservé dans le dossier médical, un double est remis au patient et une copie est transmise au CRB Santé.

Consentement du patient à la conservation et à l'utilisation d'échantillons biologiques ou tissulaires à des fins de recherche incluant éventuellement examen des caractéristiques génétiques

Madame, Monsieur,

Nous avons réalisé (ou nous allons réaliser) un/des prélèvement(s) biologique(s) et/ou tissulaire(s).

Ces prélèvements sont nécessaires pour le diagnostic de votre maladie et pour adapter votre traitement. Au cas où les prélèvements ne seraient pas utilisés en totalité pour établir le diagnostic et l'adaptation du traitement, nous conserverons les échantillons restants.

Une partie de ces échantillons sera conservée pour une éventuelle utilisation dans le cadre du suivi de votre pathologie. Une autre partie pourra, sauf opposition de votre part, être utilisée pour la recherche médicale ou scientifique, dans le respect de la confidentialité et de façon anonyme. Cette recherche peut nécessiter un examen des caractéristiques génétiques du prélèvement en relation avec votre maladie. Un tel examen nécessite votre accord, que vous pouvez exprimer en signant le présent document.

Les échantillons seront conservés au CHRU de BREST. Pour toute question vous pouvez joindre le Centre de Ressources Biologiques (CRB) Santé au 02 98 14 51 18, ou par mail en écrivant à l'adresse suivante : crb@chu-brest.fr

Votre accord est révoquant à tout moment. Vous pouvez, dans ce cas écrire au CRB Santé – Laboratoire d'Hématologie - CHRU Brest – 29609 Brest Cedex, ou par courriel à l'adresse suivante : crb@chu-brest.fr.

Conformément à la loi (art.16-1 et 16-6 du code civil), ces prélèvements et les données cliniques associées ne pourront être cédés à titre commercial, ni donner lieu à une rémunération à votre bénéfice. Ils pourront être cédés et/ou utilisés pour la réalisation de recherches scientifiques nationales et internationales, publiques et privées, sur décision du Centre de Ressources Biologiques (CRB) si ces prélèvements présentent un intérêt pour la recherche.

Les informations portées sur ce document sont confidentielles et couvertes par le secret médical. A aucun moment, les données personnelles qui y figurent n'apparaîtront lors de la publication des résultats des travaux de recherche.

Date de délivrance de l'information :	☐ J'accepte ☐ Je Refuse
Le médecin :	Identité du patient (Etiquette) :
	ou NOM Prénom Date de naissance
Service :	
N° de téléphone :	Date de signature :
Signature du médecin:	Signature du patient :

Informations sur le traitement de vos données :

Les données médicales associées aux prélèvements seront réunies sur un fichier informatique permettant leur traitement automatisé dans le cadre des recherches. Ce traitement, dont le responsable est le CHRU de Brest, est conforme aux dispositions réglementaires permettant à un établissement de santé de traiter des données à des fins de recherche scientifique (art. 9.2 RGPD).

Conformément au Règlement Européen sur la Protection des Données, le CHRU de Brest a désigné un délégué à la protection des données que vous pouvez contacter à l'adresse mail suivante : protection.donnees@chu-brest.fr.

Vous disposez d'un droit d'accès, de rectification et de limitation des informations figurant dans ce traitement. Il vous est également permis d'introduire une réclamation auprès de la CNIL si vous estimez que vos données ne sont pas traitées conformément à la réglementation en vigueur. Pour l'avenir, vous pouvez vous opposer à ce que vos données de santé fassent l'objet de recherches, d'analyses de l'activité des services ou d'études dans le domaine de la santé, par l'équipe de soins de votre prise en charge ou par d'autres professionnels dûment habilités sous la responsabilité d'un médecin de l'établissement. Vous pouvez également demander l'accès à votre dossier médical en application des dispositions de l'article L 1111-7 du Code de la Santé Publique et du RGPD.