



UZ

LEUVEN

Version Française



Retour d'expérience d'une année vécue selon les recommandations de la nouvelle classification 2016 de l'OMS (WHO) : implications pratiques en termes de mise au point diagnostique et d'épidémiologie.

Dr Henry Paridaens Laboratoires Cliniques d'Hématologie-UZ Leuven

Sous la supervision du Dr Caroline Brusselmans

UZ
Leuven

Herestraat 49
B - 3000 Leuven

www.uzleuven.be
tel. +32 16 33 22 11

UNIVERSITY HOSPITALS LEUVEN



UZ
LEUVEN

VO
VERSION
ORIGINALE



A year with the new WHO 2016 classification: what to expect?

Dr Henry Paridaens Laboratoires Cliniques d'Hématologie-UZ Leuven
Sous la supervision du Dr Caroline Brusselmans

UZ
Leuven

Herestraat 49
B - 3000 Leuven

www.uzleuven.be
tel. +32 16 33 22 11

UNIVERSITY HOSPITALS LEUVEN



PLAN

- Introduction
- Systèmes de codage
 - Systèmes de codage disponibles en France
 - UZ Leuven : Système de codage de mise au point multidisciplinaire du diagnostic hématologique (MMDH)
- Données internes UZ Leuven SMP 2016
 - Comparaison années antérieures
 - Apports de la cytologie et des examens complémentaires
 - Standardisation/ impact qualité du prélèvement
- Conclusions

Nouvelle classification WHO 2016



THIS IS NOT A REVOLUTION



blood[®]

2016 127: 2361-2364
doi:10.1182/blood-2016-03-657379 originally published
online April 11, 2016

Introduction to a review series: the 2016 revision of the WHO classification of tumors of hematopoietic and lymphoid tissues

Mario Cazzola



blood[®]

2016 127: 2391-2405
doi:10.1182/blood-2016-03-643544 originally published
online April 11, 2016

The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia

Daniel A. Arber, Attilio Orazi, Robert Hasserjian, Jürgen Thiele, Michael J. Borowitz, Michelle M. Le Beau, Clara D. Bloomfield, Mario Cazzola and James W. Vardiman



blood[®]

2016 127: 2375-2390
doi:10.1182/blood-2016-01-643569 originally published
online March 15, 2016

The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms

Steven H. Swerdlow, Elias Campo, Stefano A. Pileri, Nancy Lee Harris, Harald Stein, Reiner Siebert, Ranjana Advani, Michele Ghielmini, Gilles A. Salles, Andrew D. Zelenetz and Elaine S. Jaffe

Table 1. WHO classification of myeloid neoplasms and acute leukemia

WHO myeloid neoplasm and acute leukemia classification
Myeloproliferative neoplasms (MPN)
Chronic myeloid leukemia (CML), <i>BCR-ABL1</i> ⁺
Chronic neutrophilic leukemia (CNL)
Polycythemia vera (PV)
Primary myelofibrosis (PMF)
PMF, prefibrotic/early stage
PMF, overt fibrotic stage
Essential thrombocythemia (ET)
Chronic eosinophilic leukemia, not otherwise specified (NOS)
MPN, unclassifiable
Mastocytosis
Myeloid/lymphoid neoplasms with eosinophilia and rearrangement of <i>PDGFRA</i>, <i>PDGFRB</i>, or <i>FGFR1</i>, or with <i>PCM1-JAK2</i>
Myeloid/lymphoid neoplasms with <i>PDGFRA</i> rearrangement
Myeloid/lymphoid neoplasms with <i>PDGFRB</i> rearrangement
Myeloid/lymphoid neoplasms with <i>FGFR1</i> rearrangement
<i>Provisional entity: Myeloid/lymphoid neoplasms with <i>PCM1-JAK2</i></i>
Myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms (MDS/MPN)
Chronic myelomonocytic leukemia (CMML)
Atypical chronic myeloid leukemia (aCML), <i>BCR-ABL1</i> ⁻
Juvenile myelomonocytic leukemia (JMML)
MDS/MPN with ring sideroblasts and thrombocytosis (MDS/MPN-RS-T)
MDS/MPN, unclassifiable

Myelodysplastic syndromes (MDS)
MDS with single lineage dysplasia
MDS with ring sideroblasts (MDS-RS)
MDS-RS and single lineage dysplasia
MDS-RS and multilineage dysplasia
MDS with multilineage dysplasia
MDS with excess blasts
MDS with isolated del(5q)
MDS, unclassifiable
<i>Provisional entity: Refractory cytopenia of childhood</i>

Myelodysplastic syndromes (MDS)

MDS with single lineage dysplasia

MDS with ring sideroblasts (MDS-RS)

MDS-RS and single lineage dysplasia

MDS-RS and multilineage dysplasia

MDS with multilineage dysplasia

MDS with excess blasts

MDS with isolated del(5q)

MDS, unclassifiable

Provisional entity: Refractory cytopenia of childhood

Myeloid neoplasms with germ line predisposition

Acute myeloid leukemia (AML) and related neoplasms

AML with recurrent genetic abnormalities

AML with t(8;21)(q22;q22.1);*RUNX1-RUNX1T1*

AML with inv(16)(p13.1q22) or t(16;16)(p13.1;q22);*CBFB-MYH11*

APL with *PML-RARA*

AML with t(9;11)(p21.3;q23.3);*MLLT3-KMT2A*

AML with t(6;9)(p23;q34.1);*DEK-NUP214*

AML with inv(3)(q21.3q26.2) or t(3;3)(q21.3;q26.2); *GATA2, MECOM*

AML (megakaryoblastic) with t(1;22)(p13.3;q13.3);*RBM15-MKL1*

Provisional entity: AML with BCR-ABL1

AML with mutated *NPM1*

AML with biallelic mutations of *CEBPA*

Provisional entity: AML with mutated RUNX1

AML with myelodysplasia-related changes

Therapy-related myeloid neoplasms

AML, NOS

AML with minimal differentiation

AML without maturation

AML with maturation

Acute myelomonocytic leukemia

Acute monoblastic/monocytic leukemia

Pure erythroid leukemia

Acute megakaryoblastic leukemia

Acute basophilic leukemia

Acute panmyelosis with myelofibrosis

Myeloid sarcoma

Myeloid proliferations related to Down syndrome

Transient abnormal myelopoiesis (TAM)

Myeloid leukemia associated with Down syndrome

Acute leukemias of ambiguous lineage

Acute undifferentiated leukemia

Mixed phenotype acute leukemia (MPAL) with t(9;22)(q34.1;q11.2); *BCR-ABL1*

MPAL with t(v;11q23.3); *KMT2A* rearranged

MPAL, B/myeloid, NOS

MPAL, T/myeloid, NOS

B-lymphoblastic leukemia/lymphoma

B-lymphoblastic leukemia/lymphoma, NOS

B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with recurrent genetic abnormalities

B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with t(9;22)(q34.1;q11.2);*BCR-ABL1*

B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with t(v;11q23.3);*KMT2A* rearranged

B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with t(12;21)(p13.2;q22.1); *ETV6-RUNX1*

B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with hyperdiploidy

B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with hypodiploidy

B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with t(5;14)(q31.1;q32.3) *IL3-IGH*

B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with t(1;19)(q23;p13.3);*TCF3-PBX1*

Provisional entity: B-lymphoblastic leukemia/lymphoma, BCR-ABL1-like

Provisional entity: B-lymphoblastic leukemia/lymphoma with iAMP21

T-lymphoblastic leukemia/lymphoma

Provisional entity: Early T-cell precursor lymphoblastic leukemia

Provisional entity: Natural killer (NK) cell lymphoblastic leukemia/lymphoma

**Néoplasies
myéloprolifératives
(MPN)**

MPN

- Pas de changements significatifs au niveau de la nomenclature.
- **Nouveaux critères diagnostiques** < Découverte de nouvelles mutations
- **Mastocytose ≠ MPN**

2008

Table 2. WHO classification of myeloid neoplasms and acute leukemia

Myeloproliferative neoplasms (MPN)

Chronic myelogenous leukemia, *BCR-ABL1*-positive
 Chronic neutrophilic leukemia
 Polycythemia vera
 Primary myelofibrosis
 Essential thrombocythemia
 Chronic eosinophilic leukemia, not otherwise specified
 Mastocytosis
 Myeloproliferative neoplasms, unclassifiable

Table 1. WHO classification of myeloid neoplasms and acute leukemia 2016

WHO myeloid neoplasm and acute leukemia classification

Myeloproliferative neoplasms (MPN)

Chronic myeloid leukemia (CML), *BCR-ABL1*⁺
 Chronic neutrophilic leukemia (CNL)
 Polycythemia vera (PV)
 Primary myelofibrosis (PMF)
 PMF, prefibrotic/early stage
 PMF, overt fibrotic stage
 Essential thrombocythemia (ET)
 Chronic eosinophilic leukemia, not otherwise specified (NOS)
 MPN, unclassifiable
 Mastocytosis

Leucémie myéloïde chronique (CML)

- Pas de changements importants.
- Diagnostic:
 - Frottis de sang périphérique pathognomonique + t(9;22)(q34.1;q11.2) ou BCR-ABL1
 - Aspiration médullaire = **Essentielle pour le diagnostic**
 - Stadification de la maladie (via l'évaluation morphologique).
 - Caryotype
 - Stadification:
 - Phase chronique
 - Phase d'accélération (pas de critères universellement reconnus)
 - Phase blastaire

Critères pour la phase d'accélération

Table 2. Criteria for CML, accelerated phase

CML, accelerated phase criteria

Any 1 or more of the following hematologic/cytogenetic criteria or response-to-TKI criteria:

Persistent or increasing WBC ($>10 \times 10^9/L$), unresponsive to therapy
 Persistent or increasing splenomegaly, unresponsive to therapy

Leukocytosis ($>1000 \times 10^9/L$), unresponsive to therapy
 Leukopenia ($<100 \times 10^9/L$) unrelated to therapy

- 20% or more basophils in the PB
- 10%-19% blasts† in the PB and/or BM
- Additional clonal chromosomal abnormalities in Ph^+ cells at diagnosis that include abnormalities (second Ph , trisomy 8, isochromosome 17q, trisomy 12, or abnormalities of 3q26.2)
- Any clonal chromosomal abnormality in Ph^+ cells that occurs during therapy

"Provisional" response-to-TKI criteria

- Hematologic resistance to the first TKI (or failure to achieve a complete hematologic response* to the first TKI) or
- Any hematological, cytogenetic, or molecular indications of resistance to 2 sequential TKIs or
- Occurrence of 2 or more mutations in *BCR-ABL1* during TKI therapy

Large clusters or sheets of small, abnormal megakaryocytes, associated with marked reticulin or collagen fibrosis in biopsy specimens may be considered as presumptive evidence of AP, although these findings are usually associated with 1 or more of the criteria listed above.

*Complete hematologic response: WBC, $<10 \times 10^9/L$; platelet count, $<450 \times 10^9/L$, no immature granulocytes in the differential, and spleen nonpalpable.

†The finding of bona fide lymphoblasts in the blood or marrow, even if $<10\%$, should prompt concern that lymphoblastic transformation may be imminent and warrants further clinical and genetic investigation; 20% or more blasts in blood or BM, or an infiltrative proliferation of blasts in an extramedullary site is CML, blast phase.

MPN BCR-ABL négatives

- Découverte de nouvelles mutations:

Mutation	PV	ET	pMF
<i>JAK2V617F</i> (exon 14)	96%	55%	65%
<i>JAK2</i> exon 12	3%	Rare	Rare
<i>CALR</i> exon 9 ins/del	Rare	15-32%	25-35%
<i>MPL</i> exon 10	Rare	± 4%	8%
<i>TET2</i> , <i>IDH</i> , <i>ASXL1</i> or <i>DNMT3A</i>	occasionally		

➔ Informations diagnostique+ pronostique

Polycythemia vera (PV)

- Critères WHO 2008 pour PV : Hb > 18,5 g/dl (II) > 16.5 g/dl (I)
- PV masquée



Masked polycythemia vera diagnosed according to WHO and BCSH classification

Tiziano Barbui,^{1*} Jürgen Thiele,² Alessandra Carobbio,¹ Heinz Gisslinger,³ Guido Finazzi,¹ Elisa Rumi,⁴ Maria Luigia Randi,⁵ Alessandro M. Vannucchi,⁶ Bettina Gisslinger,³ Leonhard Müllauer,⁷ Marco Ruggeri,⁸ Alessandro Rambaldi,¹ and Ayalew Tefferi⁹

- Patients avec mutations *JAK-2*
- Morphologie de la moelle caractéristique d'une PV.
- Hb: 16-18.5 g/dl (II) & 15-16.5 g/dl (I)
- Le même risque CV
- DD : PV, TE (Thrombocythémie essentielle), pMF?

- Même avec **la diminution des critères Hb et Hct**
 - Hb & HCT dans la **PV** masquée >>>par rapport. JAK2V617F + TE
 - ➔ Différentiel possible entre JAK2 TE et PV masquée.
- Morphologie médullaire comme critère diagnostique reproductible
= **Critère majeur.**
- **Biopsie médullaire = OBLIGATOIRE!***

Proposed revision to PV criteria

Barbui T, et al. Leukemia. 2014;28:1191-5

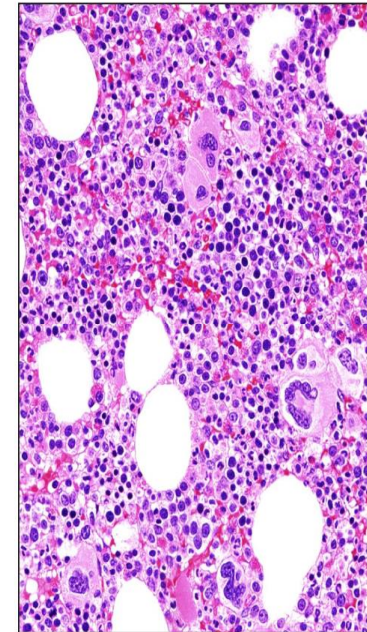
1. Increased red cell production

- Hemoglobin **>16.5/16.0 g/dL** in men/women
or hematocrit **>49/48%** in men/women
- ~~Hemoglobin >17/15 g/dL in men/women,
with sustained increase of 2 g/dL over
baseline~~
- ~~Increased red cell mass (>25% above normal)~~
- ~~Hemoglobin or hematocrit >99%~~

2. Bone marrow showing PV histology

3. JAK2 mutation

- Minor
- Decreased serum EPO levels
 - ~~Endogenous erythroid colony formation~~



** Non obligatoire si :*
erythrocytose absolue persistente (Major criteria
(1)) (Hb > 18,5 g/l ; Hct (55.5%) (II) & Hb> 16.5 g/l ; Hct (49.5%) (I)
+ mutation dans JAK2V617F/exon 12 (Major
criteria (3))
+ EPO subnormal(minor criterion)

Diagnosis requires the presence of the three major criteria. If JAK2 cannot be obtained the first two major criteria plus the minor criterion (decreased EPO).

**If Hb levels > 18.5 g/dL in men (Hct 55.5 %) or >16.5 g/dL in women (Hct 49.5 %), BM biopsy may not be necessary for diagnosis if major criterion 3 and the minor criterion are present.*

Thrombocythémie essentielle (ET)

Table 5. WHO criteria for ET

WHO ET criteria

Major criteria

1. Platelet count $\geq 450 \times 10^9/L$
2. BM biopsy showing proliferation mainly of the megakaryocyte lineage with increased numbers of enlarged, mature megakaryocytes with hyperlobulated nuclei. No significant increase or left shift in neutrophil granulopoiesis or erythropoiesis and very rarely minor (grade 1) increase in reticulin fibers
3. Not meeting WHO criteria for *BCR-ABL1*⁺ CML, PV, PMF, myelodysplastic syndromes, or other myeloid neoplasms
4. Presence of *JAK2*, *CALR*, or *MPL* mutation

Minor criterion

Presence of a clonal marker or absence of evidence for reactive thrombocytosis

Diagnosis of ET requires meeting all 4 major criteria or the first 3 major criteria and the minor criterion

- Mutation drive (*JAK2*, *CALR* en *MPL*)
 - 85% des patients → au moins 1 des 3 mutations driver : *JAK2*, *CALR* et *MPL*
 - 10-15% : **triple négatif** (avec d'autres marqueurs de clonalité).
 - *Différents phénotypes de la même entité?*
 - Mutation *JAK2V617F* : risque d'accidents thrombotiques ↑ ↑ ↑ ⇔ *CALR* et les triple négatifs
 - Impact sur survie (OS) ?
 - Mutation dans *MPL* → péjoratif?

Myélofibrose primitive

- Diagnostic : Biopsie médullaire

Gradation de la fibrose → ANAPATH!

the WHO 2008 grading system – modifications are marked in bold type)

MF-0	Scattered linear reticulin with no intersections (crossovers) corresponding to normal bone marrow
MF-1	Loose network of reticulin with many intersections, especially in perivascular areas
MF-2	Diffuse and dense increase in reticulin with extensive intersections, occasionally with focal bundles of thick fibres mostly consistent with collagen* and/or focal osteosclerosis†
MF-3	Diffuse and dense increase in reticulin with extensive intersections and coarse bundles of thick fibres mostly consistent with collagen,* usually associated with osteosclerosis†

*For grading of collagen see Table 4.

†For grading of osteosclerosis see Table 5.

...d by either reticulin and
...dysplastic syndromes, c
...of these mutations, prese

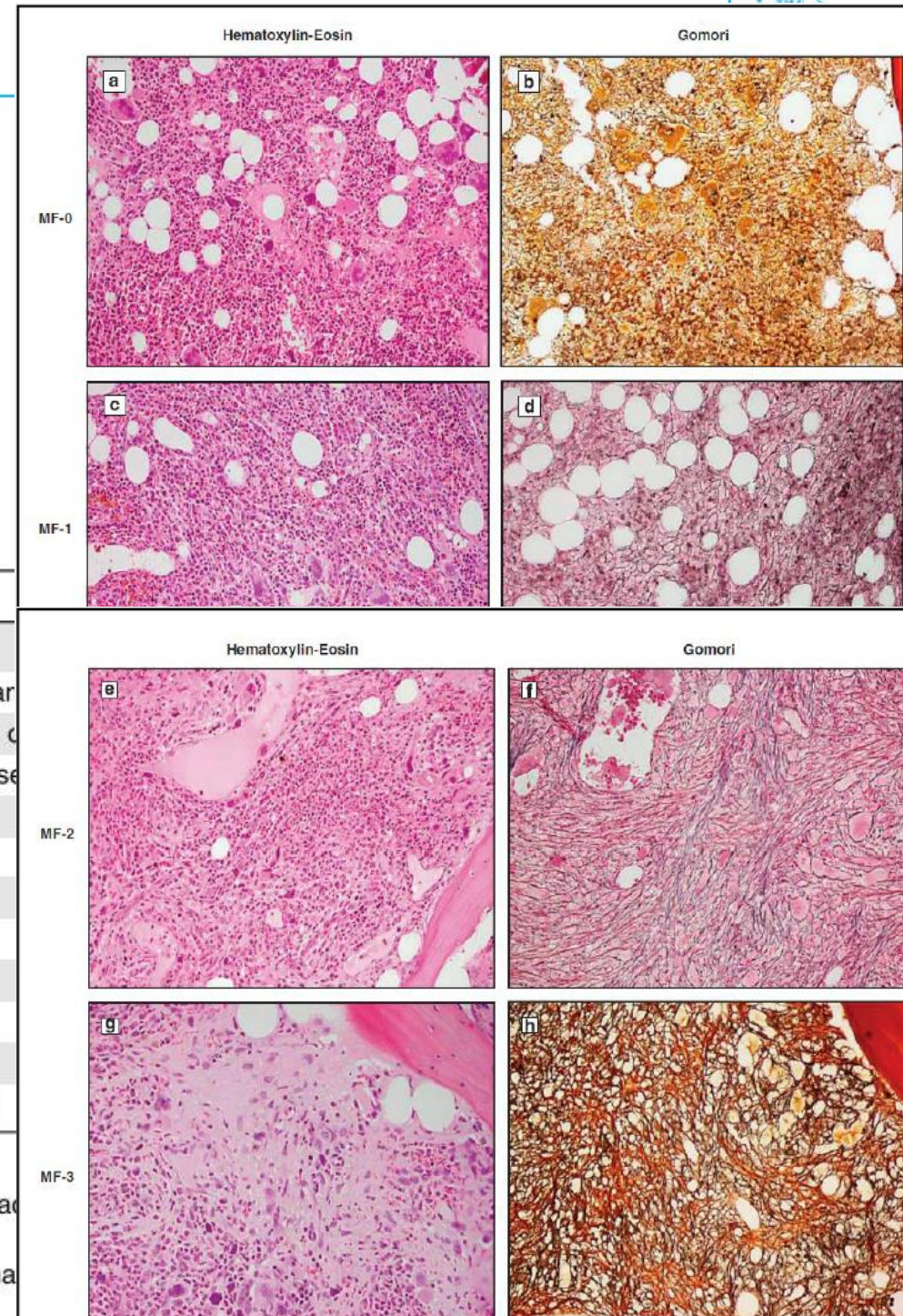
...eterminations:

...ence range

...least 1 minor criterion

...h for the most frequent ad

...other chronic inflamma



Différentiation entre la vraie TE et la prePMF

- Pas de différenciation possible par la clinique
- Observations morphologiques
- **Implications pronostiques**
 - OS
 - Transformation
 - Progression vers

• Histologie médullaire

- Etude de Thiele & al. (2011) : 78% de TE ou early PMF
- Consensus global : 78% (total serie); 88% (disc

**Diagnostic d'une MPN =
MULTIDISCIPLINAIRE**

Mastocytose

À Plus un sous-groupe des MPN.

À Caractéristiques cliniques et pathologiques uniques

Table 9. WHO classification of mastocytosis

WHO mastocytosis classification

1. Cutaneous mastocytosis (CM)

2. Systemic mastocytosis

a. Indolent systemic mastocytosis (ISM)*

b. Smoldering systemic mastocytosis (SSM)*

c. Systemic mastocytosis with an associated hematological neoplasm (SM-AHN)†

d. Aggressive systemic mastocytosis (ASM)

e. Mast cell leukemia (MCL)

3. Mast cell sarcoma (MCS)

*These subtypes require information regarding B and C findings for complete diagnosis,²⁰ all of which may not be available at the time of initial tissue diagnosis.

†This category is equivalent to the previously described "systemic mastocytosis with an associated clonal hematological non-mast cell lineage disease (SM-AHNMD)." AHNMD and AHN can be used synonymously.

Table 3. Diagnostic Criteria for Systemic Mastocytosis (SM)

Major:* Multifocal dense infiltrates of MC in bone marrow sections or other extracutaneous organ(s) (>15 MCs in aggregate)

Minor:* i. MC in bone marrow or other extracutaneous organ(s) show an abnormal (spindle-shaped) morphology (>25%)

ii. *KIT* mutation at codon 816** in extracutaneous organ(s)

iii. MC in bone marrow express CD2 and/or CD25

iv. Serum total tryptase >20 ng/ml (does not count in patients who have AHNMD-type disease)

*When at least one major and one minor or at least three minor criteria are present, the diagnosis SM is established. **Activating mutations at codon 816 of *KIT*; in most cases, *KIT* D816V is found. Abbreviations: MC, mast cell(s), AHNMD, associated clonal hematologic non mast cell lineage disease.

Syndromes myélodysplasiques (MDS)

MDS

- Néoplasies clonales
 - Hématopoïèse inefficace avec signes **morphologiques** de **dysplasie** dans les cellules hématopoïétiques et **cytopénie périphérique**
- Cytopénie = **conditio sine qua non**
- Classification basée sur la dysplasie et % de blastes
 - Dysplasie → 10% cellules avec dysplasie/lignée



2008 WHO

2016 WHO

RCUD

MDS avec dysplasie uni-lignée (**MDS-SLD**)

RCMD

MDS avec dysplasie multi-lignées (**MDS-MLD**)

RARS

MDS-SLD avec sidéroblastes en couronne (**MDS-RS-SLD**)

RCM-RS

MDS-MLD avec sidéroblastes en couronne (**MDS-RS-MLD**)

MDS avec del(5q) isolée

RAEB-1 of RAEB-2

MDS avec excès de blastes(**MDS-EB1** of **MDS-EB2**)

MDS non classifiable (MDS-U)

Table 15. PB and BM findings and cytogenetics of MDS

Name	Dysplastic lineages	Cytopenias*	Ring sideroblasts as % of marrow erythroid elements	BM and PB blasts	Cytogenetics by conventional karyotype analysis
MDS with single lineage dysplasia (MDS-SLD)	1	1 or 2	<15%/<5%†	BM <5%, PB <1%, no Auer rods	Any, unless fulfills all criteria for MDS with isolated del(5q)
MDS with multilineage dysplasia (MDS-MLD)	2 or 3	1-3	<15%/<5%†	BM <5%, PB <1%, no Auer rods	Any, unless fulfills all criteria for MDS with isolated del(5q)
MDS with ring sideroblasts (MDS-RS)					
MDS-RS with single lineage dysplasia (MDS-RS-SLD)	1	1 or 2	≥15%/≥5%†	BM <5%, PB <1%, no Auer rods	Any, unless fulfills all criteria for MDS with isolated del(5q)
MDS-RS with multilineage dysplasia (MDS-RS-MLD)	2 or 3	1-3	≥15%/≥5%†	BM <5%, PB <1%, no Auer rods	Any, unless fulfills all criteria for MDS with isolated del(5q)
MDS with isolated del(5q)	1-3	1-2	None or any	BM <5%, PB <1%, no Auer rods	del(5q) alone or with 1 additional abnormality except -7 or del(7q)
MDS with excess blasts (MDS-EB)					
MDS-EB-1	0-3	1-3	None or any	BM 5%-9% or PB 2%-4%, no Auer rods	Any
MDS-EB-2	0-3	1-3	None or any	BM 10%-19% or PB 5%-19% or Auer rods	Any
MDS, unclassifiable (MDS-U)					
with 1% blood blasts	1-3	1-3	None or any	BM <5%, PB = 1%,‡ no Auer rods	Any
with single lineage dysplasia and pancytopenia	1	3	None or any	BM <5%, PB <1%, no Auer rods	Any
based on defining cytogenetic abnormality	0	1-3	<15%§	BM <5%, PB <1%, no Auer rods	MDS-defining abnormality
Refractory cytopenia of childhood	1-3	1-3	None	BM <5%, PB <2%	Any

*Cytopenias defined as: hemoglobin, <10 g/dL; platelet count, <100 × 10⁹/L; and absolute neutrophil count, <1.8 × 10⁹/L. Rarely, MDS may present with mild anemia or thrombocytopenia above these levels. PB monocytes must be <1 × 10⁹/L.

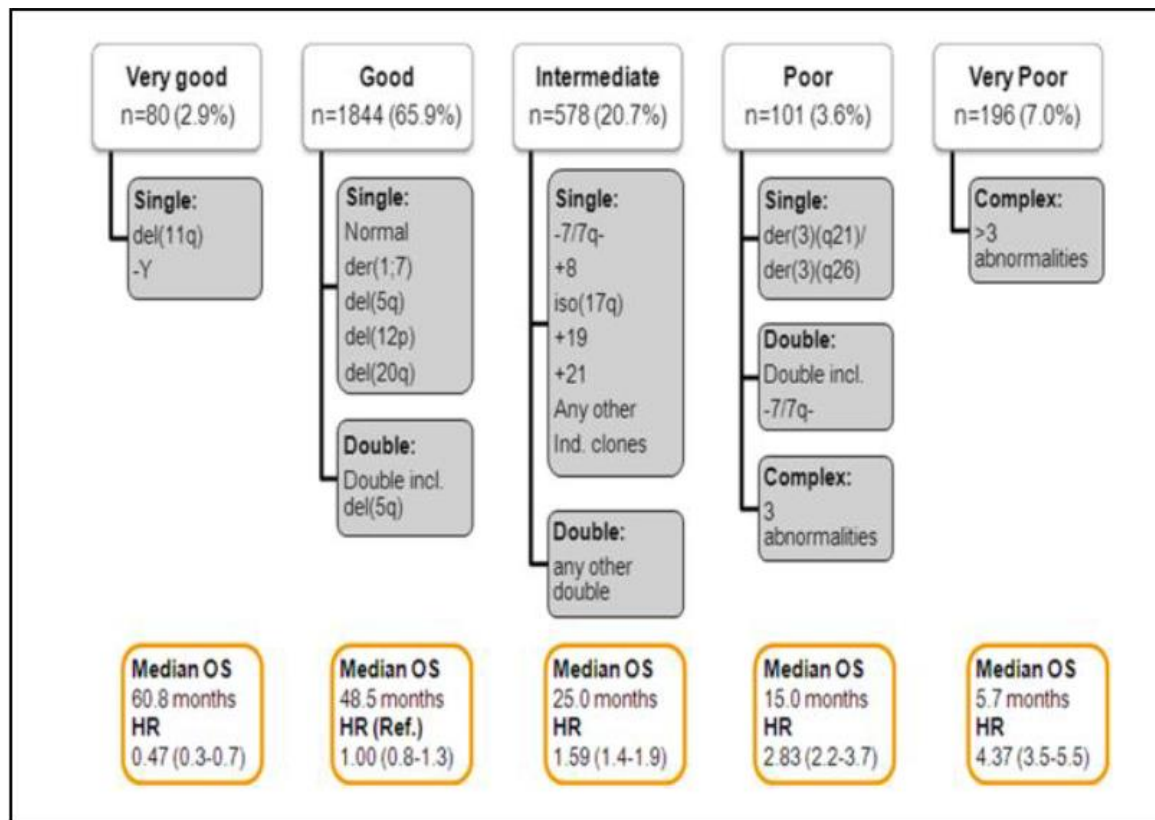
†If *SF3B1* mutation is present.

‡One percent PB blasts must be recorded on at least 2 separate occasions.

§Cases with ≥15% ring sideroblasts by definition have significant erythroid dysplasia, and are classified as MDS-RS-SLD.

Cytogénétique & MDS

- Corrélation avec le pronostic



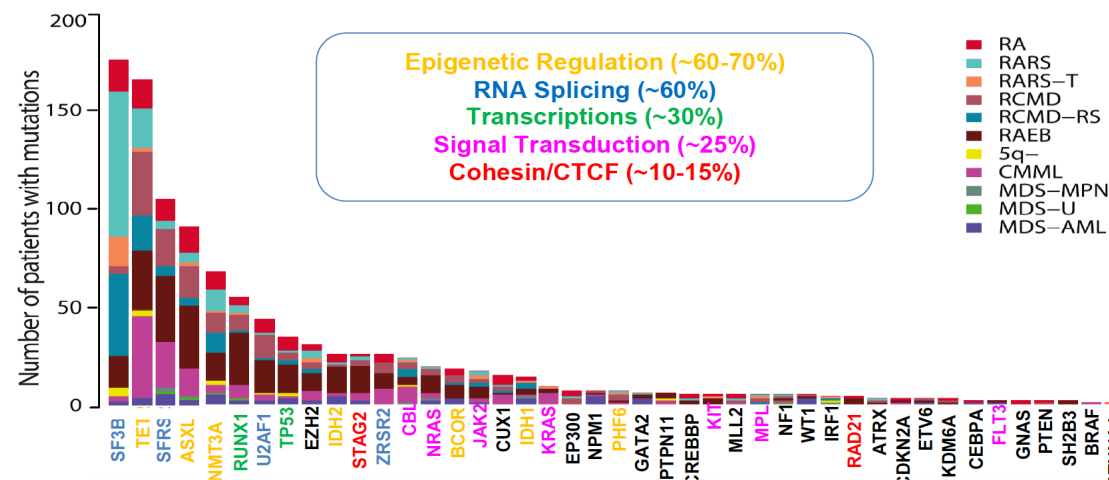
Garcia-Manero. Am J Hematol, 2015

- Caryotype **médullaire** est essentiel

Mutations somatiques récurrentes & SMD

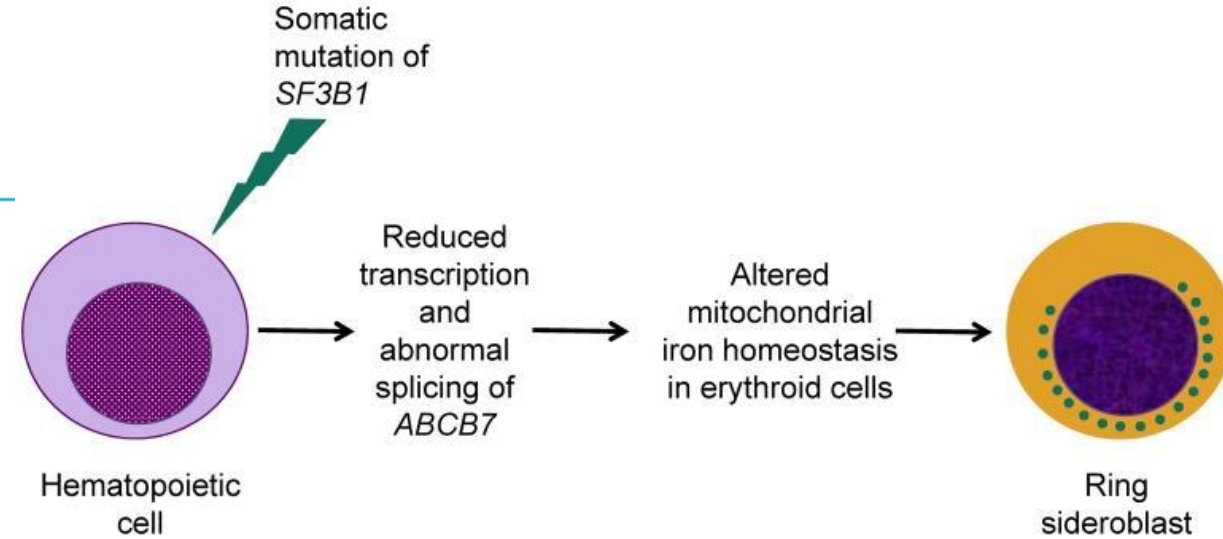
- 80-90% des patients avec SMD (avec Targeted NGS)
- Présence de mutations $\neq$ **diagnostic**
 - Aussi s'il y a une cytopénie
 - DD avec: Clonal hematopoiesis of indeterminate potential (CHIP)

Genomic architecture of MDS –
Genes recurrently mutated in MDS



A variety of genetic alterations has been identified, although none has been specifically associated with MDS

Mutation *SF3B1*



- Gène: *splicing factor 3b, subunit 1*
- Mutations en cas de MDS (20-25%)
 - MDS-**RS (80%)** (> 5% sidéroblastes en couronne)
 - Corrélation avec **pronostic favorable** (MDS-RS)
 - Incertitude quant à l'implication/le rôle d'une mutation *SF3B1* vs. Dysplasie multilignée
 - Pas d'impact sur l'OS (MDS-EB)

**Syndromes
myélodysplasiques/
Myéloprolifératifs
(MDS/MPN)**

MDS/MPN

- RARS-T : entité à part entière
- ... avec un nouveau nom:

MDS/MPN avec sidéroblastes en couronne et thrombocytose (**MDS/MPN-RS-T**)

Table 13. Diagnostic criteria for MDS/MPN with ring sideroblasts and thrombocytosis

MDS/MPN diagnostic criteria

- Anemia associated with erythroid lineage dysplasia with or without multilineage dysplasia, $\geq 15\%$ ring sideroblasts,* $< 1\%$ blasts in PB and $< 5\%$ blasts in the BM
- Persistent thrombocytosis with platelet count $\geq 450 \times 10^9/L$
- **Presence of a *SF3B1* mutation** or, in the absence of *SF3B1* mutation, no history of recent cytotoxic or growth factor therapy that could explain the myelodysplastic/myeloproliferative features†
- No *BCR-ABL1* fusion gene, no rearrangement of *PDGFRA*, *PDGFRB*, or *FGFR1*; or *PCM1-JAK2*; no (3;3)(q21;q26), inv(3)(q21q26) or del(5q)‡
- No preceding history of MPN, MDS (except MDS-RS), or other type of MDS/MPN

al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of plasmas and acute leukemia. Blood. 2016 May

– MDS/MPN-RS-T

MDS like

- Anémie réfractaire
- Transfusion dépendant
- **SF3B1** (80-90%)
- Dysérythropoïèse médullaire avec **sidéroblastes en couronne (> 15%)**

MPN like

- Thrombocytose (>450000/εl)
- MgK géants (aspect PMF ou TE)
- JAK2+ (50-60%), rarement CALR/MPL

➔ **Overlap disease**

Leucémie myélomonocytaire chronique (CMML)

- *TET2*, *SRSF2*, *ASXL1*, *SETBP1*, ... > 80% CMML
 - *ASXL1* : pronostic défavorable
 - *NPM1* : 3-5% : agressif: progression rapide vers une LMA!

Table 11. Diagnostic criteria for CMML

CMML diagnostic criteria

- Persistent PB monocytosis $\geq 1 \times 10^9/L$, with monocytes accounting for $\geq 10\%$ of the WBC count
- Not meeting WHO criteria for *BCR-ABL1*⁺ CML, PMF, PV, or ET*
- No evidence of *PDGFRA*, *PDGFRB*, or *FGFR1* rearrangement or *PCM1-JAK2* (should be specifically excluded in cases with eosinophilia)
- <20% blasts in the blood and BM†
- Dysplasia in 1 or more myeloid lineages. If myelodysplasia is absent or minimal, the diagnosis of CMML may still be made if the other requirements are met and
- An acquired clonal cytogenetic or molecular genetic abnormality is present in hemopoietic cells‡

or

- The monocytosis (as previously defined) has persisted for at least 3 mo and
- All other causes of monocytosis have been excluded



CMML	Blastes (sang)	Blastes (médullaire)
CMML-0	< 2%	< 5%
CMML-1	2—4%	5-9%
CMML-2 (ou bâtons d' Auer)	5-19%	10-19%

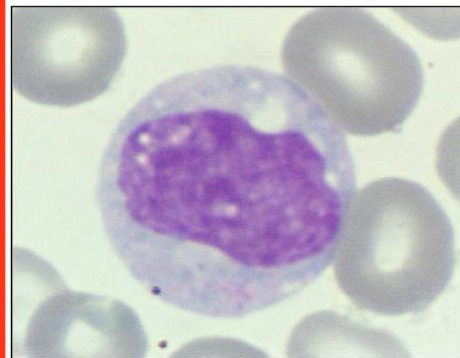
CMML

ATTENTION! Faible reproductibilité pour le comptage des « monoblastes équivalents »

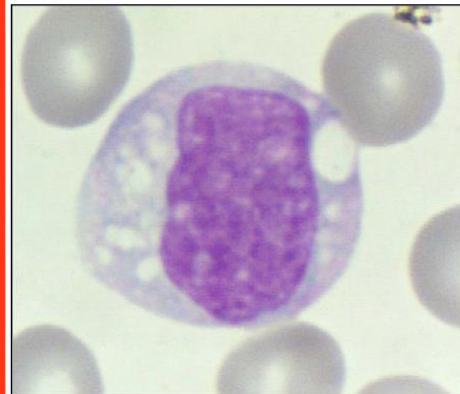
Monoblasts

Promonocytes

Monocytes



BLAST EQUIVALENTS



Courtesy of Robert Hasserjian, MGH

LMC atypique, BCR-ABL1 -

- DD + évident avec LNC (tous deux avec neutrophilie) grâce à mutation **CSF3R** :
 - LNC : souvent mutée ⇔ LMCa (< 10%)
- Profil moléculaire d'une LMC atypique:
 - *SETBP1*, *ETNK1* (jusqu'à 1/3 des cas)
 - Négatif pour les gènes drivers: *JAK2*, *CALR* & *MPL*.

1 | Classification OMS 2016 des SMP

Comment pouvons-nous mesurer ces changements et leurs implications quant au diagnostic, modifications ou non de traitement qu'ils impliquent?

2 | Epidémiologie

Comparaison de la distribution des SMP, SMD, SMD/SMP suivant la classification OMS 2008 et suivant la classification 2016 à UZ Leuven?

3 | Examens complémentaires

- En présence de ces nouveaux critères diagnostiques, comment pouvons-nous appréhender l'apport de la cytologie et des examens complémentaires au diagnostic hématologique final?
- Quel est l'impact de la qualité du prélèvement sur le diagnostic final?





Comment répondre à ces questions que soulève la nouvelle classification WHO 2016?

♦A:

♦B:

♦C:

♦D:



Comment répondre à ces questions que soulève la nouvelle classification WHO 2016?

♦A: En consultant Doctissimo

♦B:

♦C:

♦D:



Comment répondre à ces questions que soulève la nouvelle classification WHO 2016?

♦A: En consultant Doctissimo

♦B: En priant Dieu

♦C:

♦D:



Comment répondre à ces questions que soulève la nouvelle classification WHO 2016?

♦A: En consultant Doctissimo

♦B: En priant Dieu

♦C: WHO c'est pas du rock???

♦D:



Comment répondre à ces questions que soulève la nouvelle classification WHO 2016?

♦A: En consultant Doctissimo

♦B: En priant Dieu

♦C: WHO c'est pas du rock???

♦D: En créant un système de codage



Comment répondre à ces questions que soulève la nouvelle classification WHO 2016?

♦ **A:** En consultant Doctissimo

♦ **B:** En priant Dieu

♦ **C:** WHO c'est pas du rock???

♦ **D:** En créant un système de codage



Comment répondre à ces questions que soulève la nouvelle classification WHO 2016?

♦ **A:** En consultant Doctissimo

♦ **B:** En priant Dieu

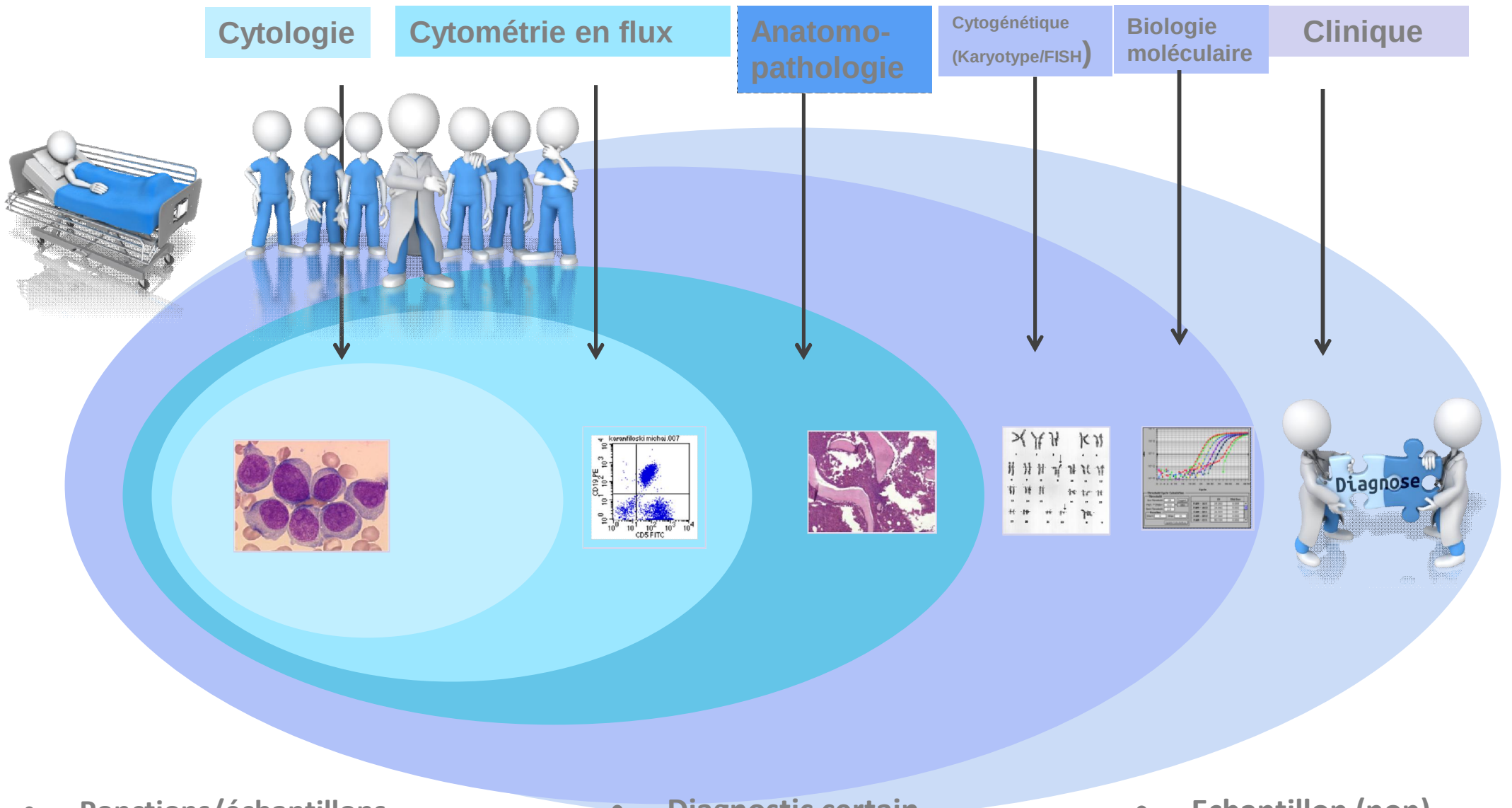
♦ **C:** WHO c'est pas du rock???

♦ **D:** En créant un système de codage



SITUATIONS : SYSTEMES DE CODAGE UTILISES EN FRANCE

- systèmes de codage ADICAP, SNOMED, CIM-0 et CIM-10.
- ADICAP: GFHC impliqué en 1^{ère} ligne pour cette classification pour les hémopathies en France.
- **ADICAP**: à chaque pathologie hématologique correspond un code (utilisé par cytologistes, anatomo-pathologistes, cytométrie en flux....)
- **CIM-0, CIM-10** : OMS (système à 9 chiffres)



- Ponctions/échantillons représentatifs
- Échantillons moins représentatifs

- Diagnostic certain
- Diagnostic suspecté
- Diagnostic différentiel

- Échantillon (non) réceptionné
- Analyse non effectuée

Rap clin

Geachte

Wij zag

Medisch

- Appen

- Prost

- 1991:
- Hyper

- 2006:

en verm

- 7/201

Roken:

ALCOHOL

Handige

Uw pati
voornam

Spontaneous Patient

1141122W

Gen 11

KLHISC

Bilater

Oedeem

SEEN AT

CH-113.

1997 1998 1999 2000 2001 2002 2003

Hypochrome microcytaire anemie met sterke anisopoikilocytose, potloodcellen: passend bij ferriprivie (cfr. ijzerparameters). Tekens van actieve erythropoïese (ovv. polychromasie, normoblasten). Leukocytose met relatieve/absolute neutrofilie met lichte linksverschuiving en lichte uitrijpingsstoornissen. Geen basofilie. Normaal bloedplaatjesaantal. Sterk cellulaire beenmergpreparaten met sterk vertegenwoordigde, volledig uitrijpende mergreksen. Matige dysplasie in de myeloïde en megakaryocytaire reeks. Geen blastenexces (2.7% op ANC). Geen lymfocytenexces. Morfologisch beeld passend bij de diagnose van een myeloproliferatieve aandoening.

* Flow:

Immunofenotypering toont geen argumenten voor de aanwezigheid van een monoclonaal B- of T-celproces.

PCR diagnostisch CML negatief voor BCR-ABL p190 en p210

* Genetica:
volgt

* Botboor:

Hypercellulair merg, met prominente myelopoïse. Beeld sterk suggestief voor MPN, type CML. Te correleren met aspiraat en cytogenetica: Philadelphia-chromosoom? DD. leukemoïde reactie. CD20 toont 1 klein aggregaatje B-lymfocyten. Geen evidentie voor beenmerginvasie door B-non Hodgkin lymfoma.

PET:

Fors hypermetabool voorkomen van de milt en beenmerg: ikv. diffuse lymfoominvlasie? Cf. bevindingen botboor.
Er zijn geen hypermetabole lymfeklieren geobserveerd.

BESPREKING EN BESLUIT:

Uw patient werd verwezen nav leukocytose en splenomegalie. Klinisch geen adenopathieën, B-symptomen niet duidelijk. Er gebeurde een investigatie.

Voorlopige resultaten zijn suggestief voor myeloproliferatieve aandoening, CML voorlopig niet bevestigd (FISH volgt nog, atypische CML kan nog). Patient voorlopig op te starten met Hydrea 1 co/d. Verdere therapie zal besproken worden nadat de genetica gekend is. (Dr Vanderlinden werd hiervan op de hoogte gebracht gezien Dr De Facq in verlof is, hij zal patient oproepen)

Met collegiale hoogachting

dr.L. Lammertijn

Dit verslag werd door prof.dr.A. Janssens elektronisch gevalideerd op 12-08-2011

Kopie aan: dr.P. Taffeiren, Tiensestraat 7, 3400 Landen

dr.L. De Facq, Kliniekstraat 45, 3300 Tienen

dr.I. Vanderlinden, Kliniekstraat 45, 3300 Tienen

Verantwoordelijk staflid
prof.dr.A. Janssens

SYSTEME DE CODAGE MMDH

(Mise au point Multidisciplinaire du Diagnostic Hématologique)

- Pathologies?
- Prévalence?
- Hypothèses, questions à priori des cliniciens?
- Index de certitudes ?
- Résultats des autres tests complémentaires ?
-



À la base du système
de codage MMDH

Multidisciplinair Hematologisch Overleg

26-05-2016 15:12 - beenmerg + perifeer bloed - BM-16-522

MDHO CODERING

Alg. vraagstelling
Alg. Classificatie
WHO 2008 codering MPN/MDS
Andere omschrijving

Zekerheidsgraad
Tijdsniveau
Beenmerglokalisatie

Chronische myeloproliferatieve aandoening ?
Myeloproliferatieve neoplasms
Chronic myelogenous leukaemia, BCR-ABL1 positive
WHO 2016 : Chronic myeloid leukaemia, BCR-ABL1 positive
3
Nieuwe oppuntstelling
aanwezig

BESPREKING KWS

Presentatie op spoedgevallen op verwijzing van de huisarts nav persisterende leukocytose, met bij recente controle op 18/05/2016 50 000/mcl WBC waarbij 1% normoblasten, 17% myelocyten en 5% metamyelocyten zonder geassocieerd inflammatoir bloedbeeld (CRP <5mg/l). Voorts cytologisch weerhouden we een normaal trombocytenaantal en een lichte normocytaire normochrome anemie van 12,6g/dl. Een perifeer uitstrijkje weerhoudt forse leucocytose met linksverschuiving. Klinisch geen perifere adenopathieën palpabel, CT thorax en echo/CT abdomen in 10/2015 (Geel) konden evenmin hepatosplenomegalie of adenopathieën aantonen.

Cytologie

CML ?
Geen waarden van het perifeer bloed ter beschikking.
Hypercellulair beenmerg met meerdere hypercellulaire mergbrokjes. Hyperplastische myeloïde reeks, relatief zwakke rode reeks en matig cellulaire megakaryocytenreeks. Volledig uitrijpende mergreeksen met overwegend normale morfologie. Geen blastentoeename. Geen eosinofilie/ basofilie. Te toetsen aan perifeer bloed, botboorbipt en cytogetica (BCR-ABL1)

Flowcytometrie

niet van toepassing na uitvoering microscopisch onderzoek

Path. Ontleedkunde

Botboorbiopsie:
- Matig representatieve botboorbiopsie.
- Hypercellulaire myeloïde reeks met proliferatie van jonge en uitgerijpte myeloïde elementen. Beeld niet diagnostisch voor maar zou kunnen passen bij een CML, chronische fase. Te correleren met cytogetica (Philadelphia chromosoom?).
- Myelofibrose graad 1/3 volgens Tefferi et al.

CME Karyotype

46,XY,t(9;22)(q34;q11)[10], diagnostisch voor CML.

CME Mol. Diagnostiek

De aanwezigheid van een BCR-ABL1 fusietranscript type b3a2 kan passen bij de diagnose van chronische myeloïde leukemie.

CME FISH

niet uitgevoerd
FISH onderzoek wordt niet uitgevoerd: zie karyotype

BESLUIT

Nieuwe diagnose CML in chronische fase, laag-risico CML volgens Hasford-, Sokal- en Eutos-score. Start Glivec 400mg/d op 23/06/2016.

Classification

Informations cliniques

Examens complémentaires

Conclusion diagnostique

Système de classification ... en détails

Multidisciplinair Hematologisch Overleg

26-05-2016 15-12 - beenmerg + perifere bloed - BM-16-522

Indication diagnostique du prélèvement médullaire

Classification générale

→ LMA, SMD, SMP, é

Classification WHO (de la classification générale)

→ ex : SMD-EB-1, ET, é

Autre → ex : marqueurs moléculaires d'intérêt pronostic ou diagnostic

Index de certitude diagnostic : Gradation à postériori de la certitude du diagnostic multidisciplinaire

Temps du prélèvement : diagnostic vs suivi

Localisation médullaire

Rapport structuré avec un système de code standardisé pour le diagnostic hématologique



Permet une traçabilité du diagnostic



Tient en compte des systèmes de classification internationalement reconnus (WHO, ICD10)...

MDHO CODERING

Alg. vraagstelling

Alg. Classificatie

WHO 2008 codering MPN/MDS

Andere omschrijving

Zekerheidsgraad

Tijdsniveau

Beenmerglokalisatie

Chronische myeloproliferatieve aandoening ?

Myeloproliferatieve neoplasms

Chronic myelogenous leukaemia, BCR-ABL1 positive

WHO 2016 : Chronic myeloid leukaemia, BCR-ABL1 positive

3

Nieuwe opuntstelling

aanwezig

BESPREKING

KWS

Presentatie op spoedgevallen op verwijzing van de huisarts nav persistente leukocytose, met bij recente controle op 18/05/2016 50 000/mdl WBC waarbij 1% normoblasten, 17% myelocyten en 5% metamyelocyten zonder geassocieerd inflammatoir bloedbeeld (CRP <5mg/l).

Voorts cytologisch weerhouden we een normaal trombocytenaantal en een lichte normocytaire normochrome anemie van 12,8g/dl.

Een perifeer uitstrijkje weerhoudt forse leucocytose met linksverschuiving.

Klinisch geen perifere adenopathieën palpabel, CT thorax en echo/CT abdomen in 10/2015 (Geel) konden evenmin hepatosplenomegalie of adenopathieën aantonen.

Cytologie

CML ?

Geen waarden van het perifeer bloed ter beschikking.

Hypercellulair beenmerg met meerdere hypercellulaire mergbrokjes. Hyperplastische myeloïde reeks, relatief zwakke rode reeks en matig cellulaire megakaryocytenreeks. Volledig uitrijpende mergreeksen met overwegend normale morfologie. Geen blastentoename. Geen eosinofilie/ basofilie. Te toetsen aan perifeer bloed, botboorbloot en cytogenetica (BCR-ABL1)

Flowcytometrie

niet van toepassing na uitvoering microscopisch onderzoek

Path. Ontleedkunde

Botboorbiopsie:

- Matig representatieve botboorbiopsie.

- Hypercellulaire myeloïde reeks met proliferatie van jonge en uitgerijpte myeloïde elementen. Beeld niet diagnostisch voor maar zou kunnen passen bij een CML, chronische fase. Te correleren met cytogenetica (Philadelphia chromosoom?).

- Myelofibrose graad 1/3 volgens Tefferi et al.

CME Karyotype

46,XY,(9;22)(q34;q11)[10], diagnostisch voor CML.

CME Mol. Diagnostiek

De aanwezigheid van een BCR-ABL1 fusietranscript type b3a2 kan passen bij de diagnose van chronische myeloïde leukemie.

CME FISH

niet uitgevoerd



Disponibilité dans les systèmes informatiques de la clinique pour les différents acteurs du diagnostic hématologique (anapath, cytométrie en flux, biologie moléculaire, ...)



Reprend les informations cliniques et des examens complémentaires les plus pertinentes

1

Classification OMS 2016 des SMP

Comment pouvons-nous mesurer ces changements et leurs implications quant au diagnostic, modifications ou non de traitement qu'ils impliquent?

Rencontre des différents acteurs du diagnostic hématologique



Professeur Dr. G. Verhoef
(Hématologue Clinique)



Professeur Dr. L. Michaux
(Cytogénétique et biologie moléculaire)



Dr. C. Brusselmans
(Cytologie)



Professeur Dr. T. Tousseyn
(Anatomopathologie)

Questions abordées avec les différents acteurs du diagnostic hématologique

- En général, pensez-vous que cette nouvelle classification 2016 de l'OMS a modifié/ajouté quelque chose à votre travail de routine?
 - En ce qui concerne les **leucémies aiguës/les syndromes myélodysplasiques/les syndromes myéloprolifératifs**, est-ce que les changements apportés par cette nouvelle classification ont une influence sur votre travail de routine?
- Quelles **informations** sont, selon-vous, les plus importantes à retrouver dans un **protocole de cytologie**?
- En quoi la **qualité du prélèvement** impacte-elle votre travail?
- **Standardisation** du processus de diagnostic hématologique



Dr. C. Brusselmans (Cytologie)

- Biomarqueurs: impact plus important qu'auparavant pour le diagnostic final
- Cependant: cytologie reste essentielle:
 - Résultats disponibles rapidement
 - Importance des anomalies morphologiques (ex: LMC, LMC atypique, LCN, LMMC, détermination de la blastose).
- Cytologie = **aiguilleur** pour la mise en place des tests complémentaires ou panels de tests dans les autres sous-disciplines diagnostiques hématologiques.
- **Qualité**: nécessaire pour établir un diagnostic adéquat.
- **Standardisation**: étant donné que l'examen morphologique est (parfois) subjectif, besoin de standardisation des protocoles grâce à des recommandations/atlas de référence

Exemple de standardisation : Protocole de cytologie

Kwaliteit preparaat	Goed uitgestreken en gekleurd	goed
	Geen mergbrokjes, gestolde preparaten. Droging-, fixatie- en keuringsartefacten. Talrijke gelyseerde (hematopoïetische) cellen, met uitzondering van de Gumprechtse schaduwen in kader van CLL. Te weinig beenmergmateriaal. Te dik uitgestreken preparaten.	niet optimaal
Achtergrondkleuring	Blauwe achtergrondkleuring macroscopisch en microscopisch	aanwezig
Perifere bijmenging	Beenmergformule vergelijkbaar met formule perifeer bloed, weinig of geen mergbrokjes aanwezig	aanwezig
Cellulariteit preparaat	Microscopische beoordeling Screen 5 verschillende velden met obj 50x. Schat het gemiddeld aantal hematopoïetische cellen per veld obj. 50x.	
	<=10 hematopoïetische cellen	hypocellulair
	11 - 30 hematopoïetische cellen	matig cellulair
	31 - 70 hematopoïetische cellen	normocellulair
	71 - 100 hematopoïetische cellen	goed tot sterk cellulair
	> 100 hematopoïetische cellen	hypercellulair
Aanwezigheid mergbrokjes	Beoordeel macroscopisch en microscopisch het aantal mergbrokjes	
	geen mergbrokjes op de preparaten	geen
	1 mergbrokje per preparaat	zeldzaam
	2 tot 3 mergbrokjes per preparaat	enkele
	> 3 mergbrokjes per preparaat	meerdere
Uitzicht mergbrokjes	Schat microscopisch de invulling van de mergbrokjes	
	< 25% met hematopoïetische cellen gevulde mergbrokjes	hypocellulair
	25% - 75% met hematopoïetische cellen gevulde mergbrokjes	celrijk
	> 75% met hematopoïetische cellen gevulde mergbrokjes	hypercellulair

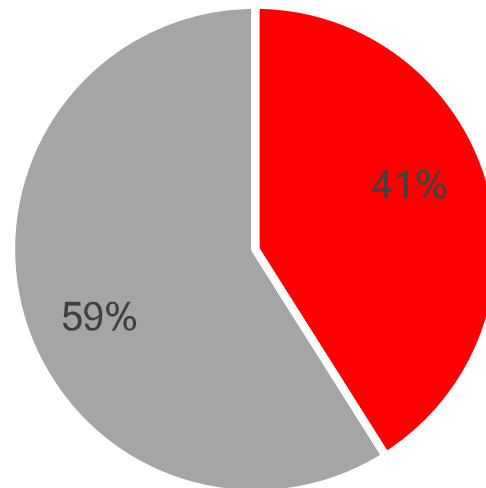


Professeur Dr. G. Verhoef
(Hématologue Clinique)

- Pas de grands changements apportés par cette nouvelle classification
- De plus en plus d'importance pour les données moléculaires et de cytogénétique (surtout vrai pour les leucémies aiguës)
- Pour les **syndromes myéloprolifératifs** : possibilité de poser le diagnostic à des **stades plus précoces**.
- Pour les **MDS** : pour le traitement aucun changement. La nouvelle classification rend les choses + évidentes.
- **Standardisation** : demander d'imposer le frottis sanguin lorsqu'une aspiration médullaire est demandée (cfr système informatique).
- **Qualité** du prélèvement : nécessité de formation optimale des nouveaux assistants, infirmières de salle de ponction, ...

PB : MPN 2016

- Pas de frottis de sang périphérique
- Frottis de sang périphérique





Professeur Dr. T. Tousseyn
(Anatomopathologie)

- Pas de changements significatifs en ce qui concerne les critères morphologiques en anatomo-pathologie.
- Pour le diagnostic : importance de plus en plus grande pour les données de biologie moléculaire et de cytogénétique. Impression que le rôle du pathologiste devient de plus en plus limité. (⇔ dysplasie & cytologie) ⇔ gradation de MF et architecture)
- **Qualité du prélèvement** : les biopsies, d'après les recommandations, doivent être de 2,5 cm (⇔ réalité) → ! Impact sur la représentativité.
- **Impression à priori** : ¼ des cas grosso modo absence de corrélation entre la cytologie et l'anatomo-pathologie.



Professeur Dr. L.
Michaux
(Cytogénétique et
biologie moléculaire)

- Pas de grands changements en pratique suite à cette nouvelle classification.
- Impression d'une **surconsommation de biologie moléculaire** (demandes infondées +++, surtout externes) : ex : PDGFR Bêta
- Pas de remboursement du NGS (Next-Generation Sequencing) en Belgique.
- Beaucoup de marqueurs trouvés ne sont pas encore explicités dans les guidelines (peu ou pas d'études multi-centriques) → ? *Signification diagnostique/pronostique?*
- **Standardisation** : les protocoles de cytogénétique et de biologie moléculaire sont complètement standardisés.
 - Tissu de prédilection caryotype SMP : Moelle ($\Leftrightarrow$ MF : Sang).

2 | Epidémiologie

Comparaison de la distribution des SMP suivant la classification WHO 2008 et suivant la classification 2016 à UZ Leuven?

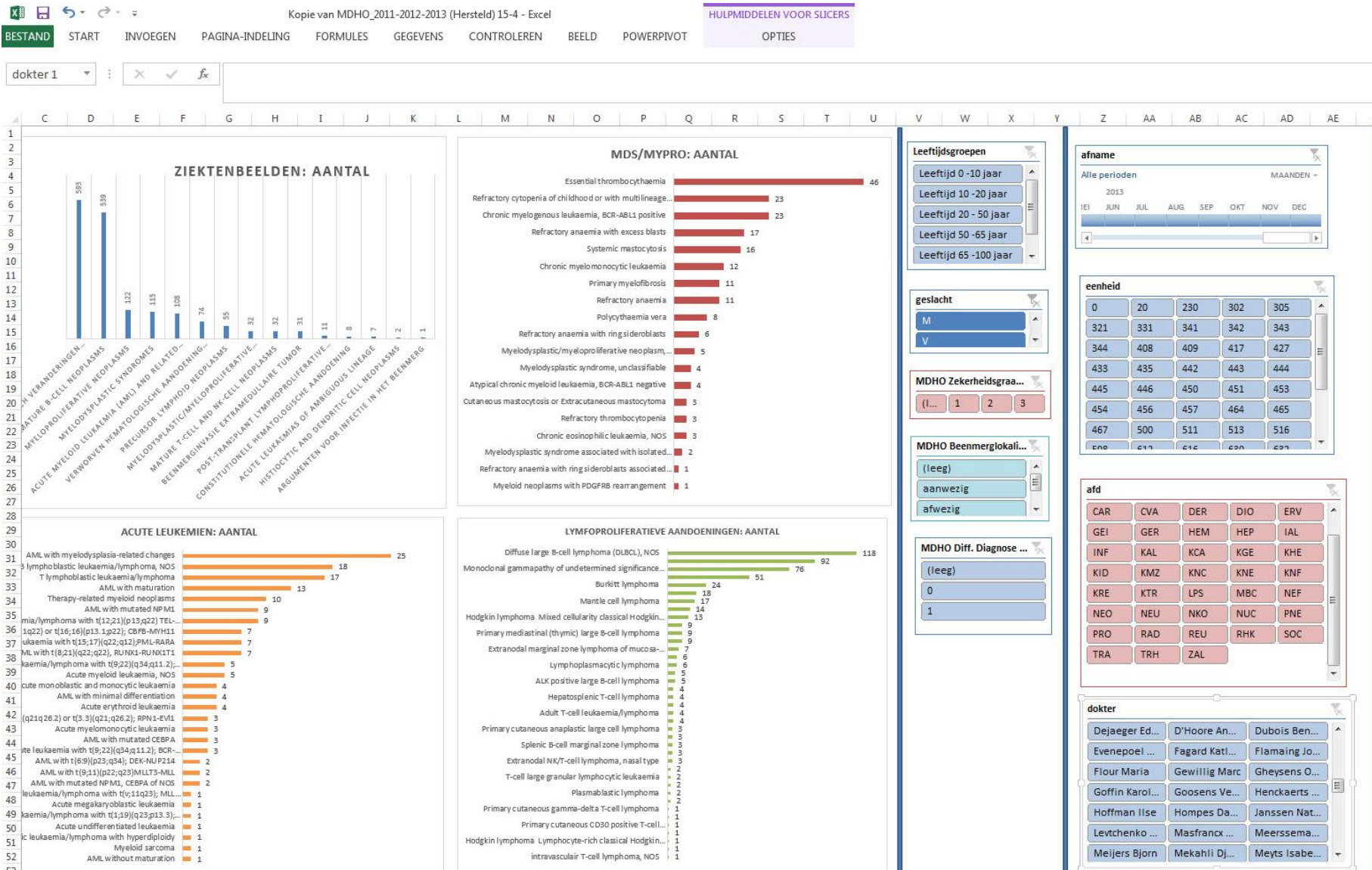
DEMARCHE DE L'ETUDE

- Etude rétrospective des **1658 moelles (mars 2016 – mars 2017)**.
- Codage spécifique des moelles « Nieuwe diagnose (**Nouveau diagnostic**) » dans la liste MMDH
- **Focus principal : SMP, SMD, SMP/SMD, leucémies aiguës.**

REMARQUES/CONSIDERATIONS PREALABLES

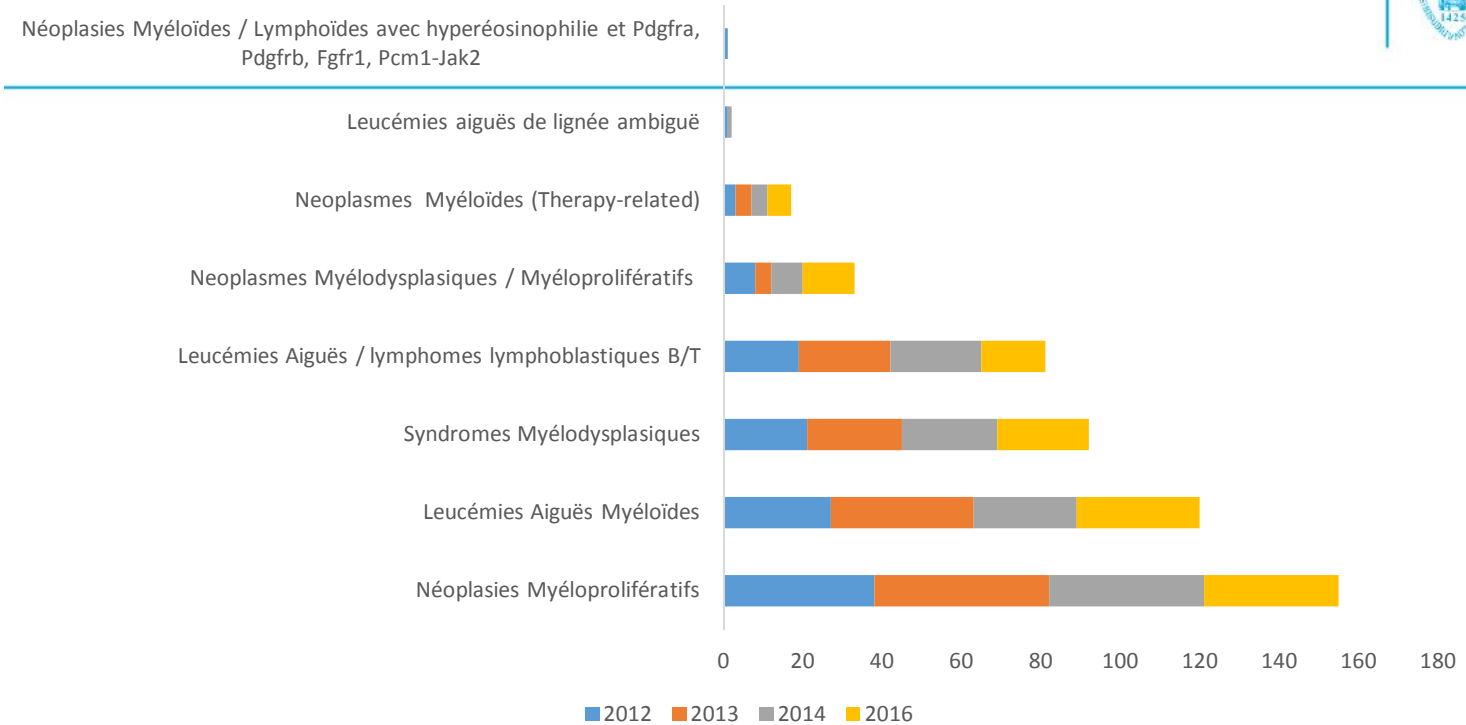
- Certitude d'une classification fidèle à 100% ne peut pas être promise
- Corrélation entre deux observateurs
- Diagnostic final parfois pas encore établi ou sous réserve de changement (cfr. TAT cytogénétique/biologie moléculaire).
- Etudes des courbes de distribution des différents pathologies : expression d'une tendance (↔ published material).

EXEMPLE RESULTATS DU SYSTEME DE CODAGE

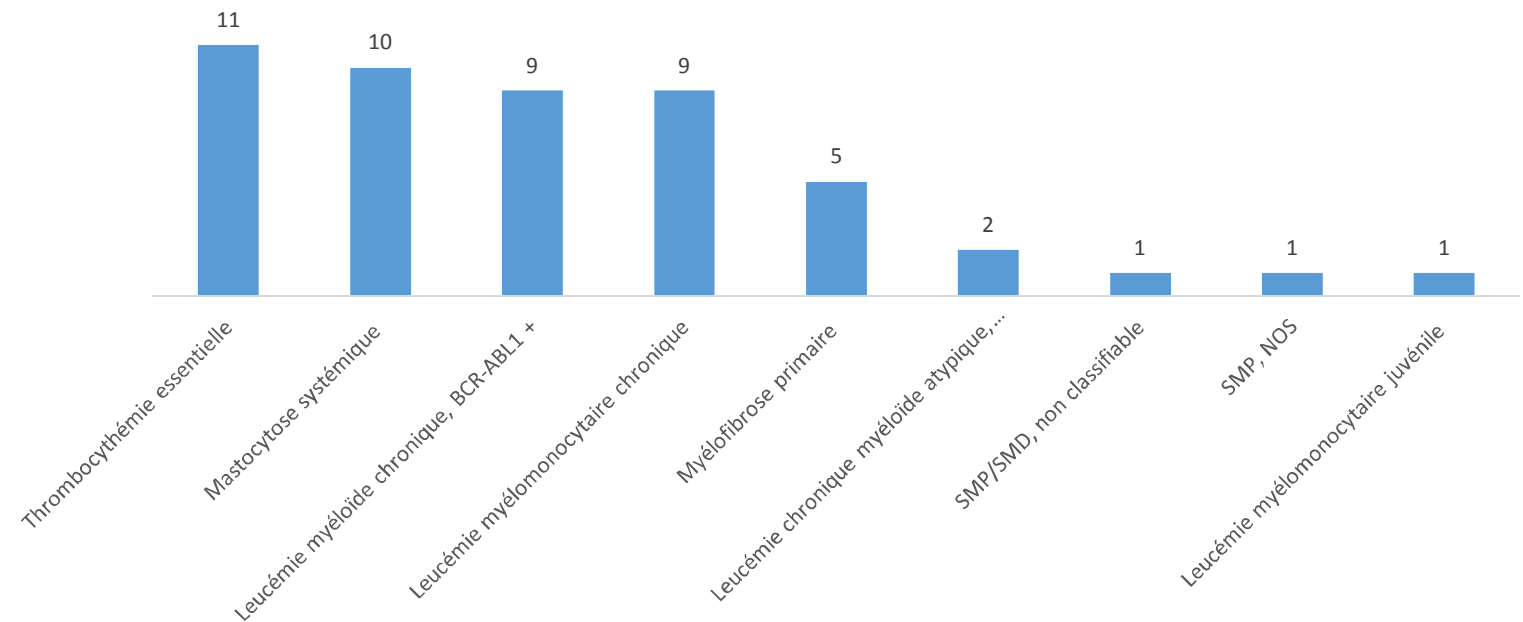




Distribution pathologies par année

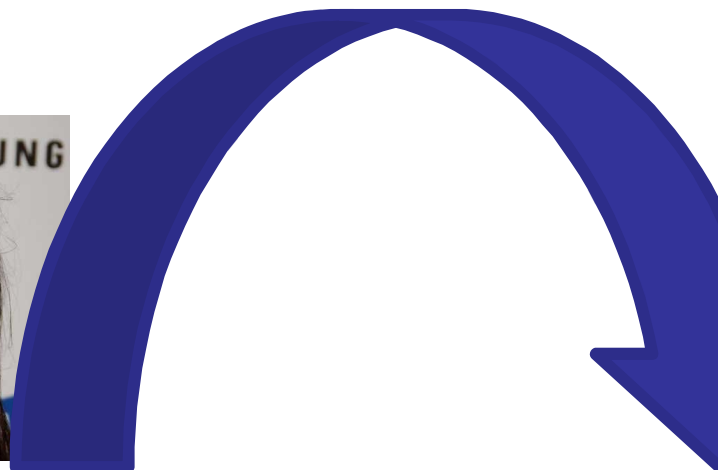


DISTRIBUTION DES SMP, SMP/SMD (LEUVEN 2016)



La distribution des pathologies est (relativement) équivalente suivant les années.

La Thrombocythémie Essentielle est la pathologie la plus fréquente dans le système de codage

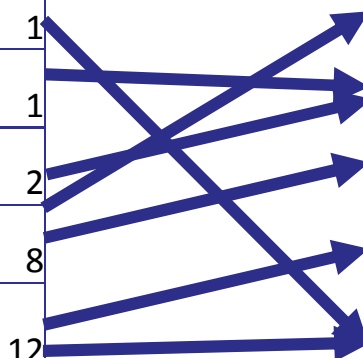


Distribution SMD selon les critères WHO 2008

Myelodysplastic syndrome, unclassifiable	1
Refractory anemia with ring sideroblasts	1
Refractory thrombocytopenia	1
Refractory anaemia	2
Refractory anaemia with excess blasts	8
Refractory cytopenia of childhood or with multilineage dysplasia	12

Distribution SMD selon les critères WHO 2016

MDS, unclassifiable	1
MDS-EB-2	2
MDS-SLD	3
MDS-EB-1	6
MDS-MLD	6
MDS-RS-MLD	7



3

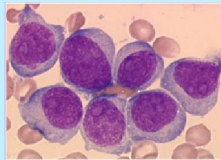
Examens complémentaires

- En présence de ces nouveaux critères diagnostiques, comment pouvons-nous appréhender l'apport de la cytologie et des examens complémentaires au diagnostic hématologique final?
- Quel est l'impact de la qualité du prélèvement sur le diagnostic final?

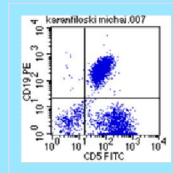
MPN MDS/MPN

& Mastocytose systémique 😊

Cytologie



Cytométrie en flux



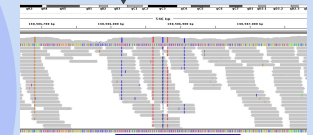
Anatomo-
pathologie



Cytogénétique
(Karyotype/FISH)



Biologie
moléculaire



Apport de la cytologie au diagnostic hématologique final : cytologie suffisante?

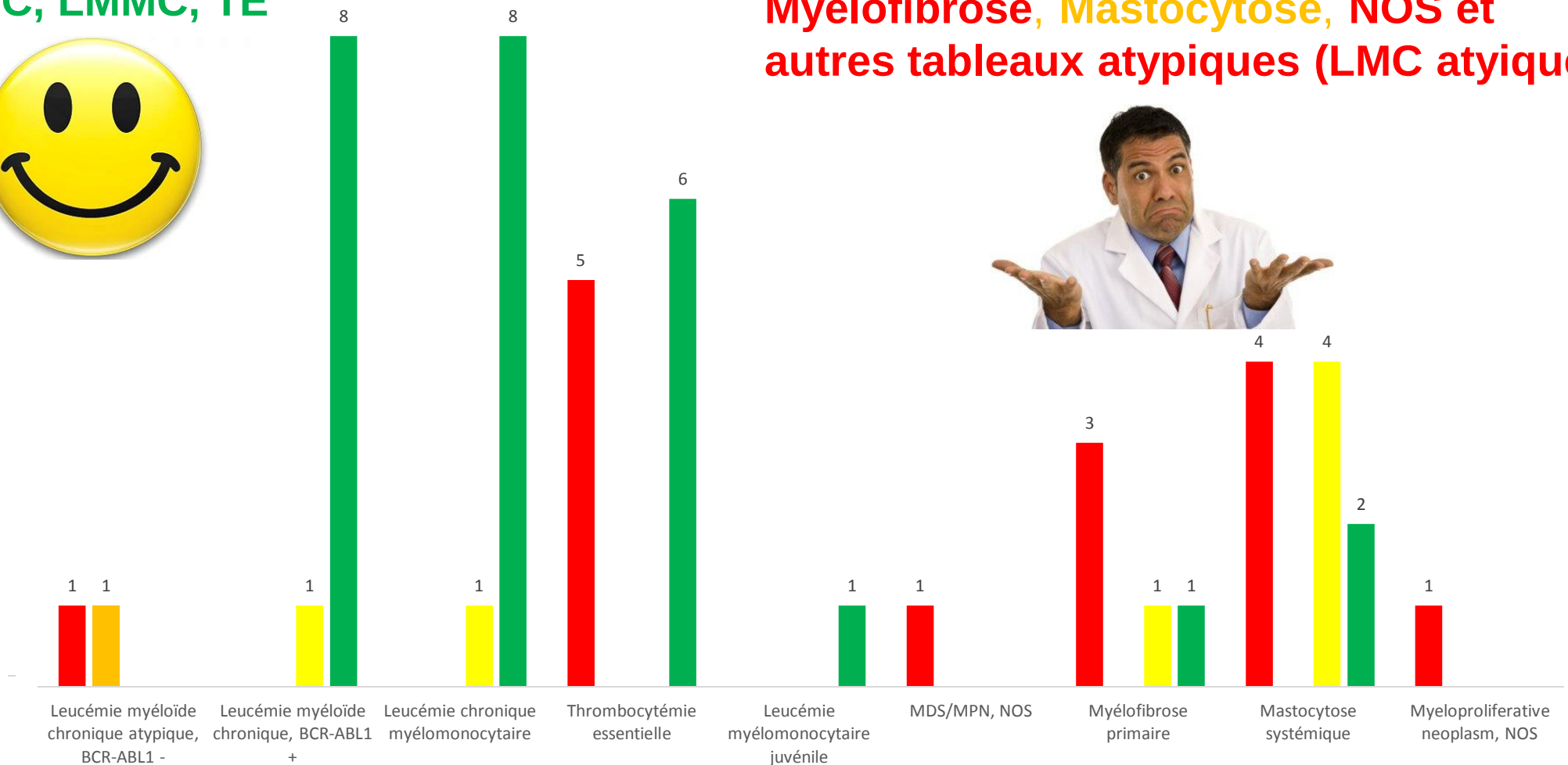
Contribution cytologie diagnostic final SMP 2016

■ Non contributive ■ Diagnostic différentiel ■ Suspecté ■ Certain

LMC, LMMC, TE



Myélofibrose, Mastocytose, NOS et autres tableaux atypiques (LMC atypique)

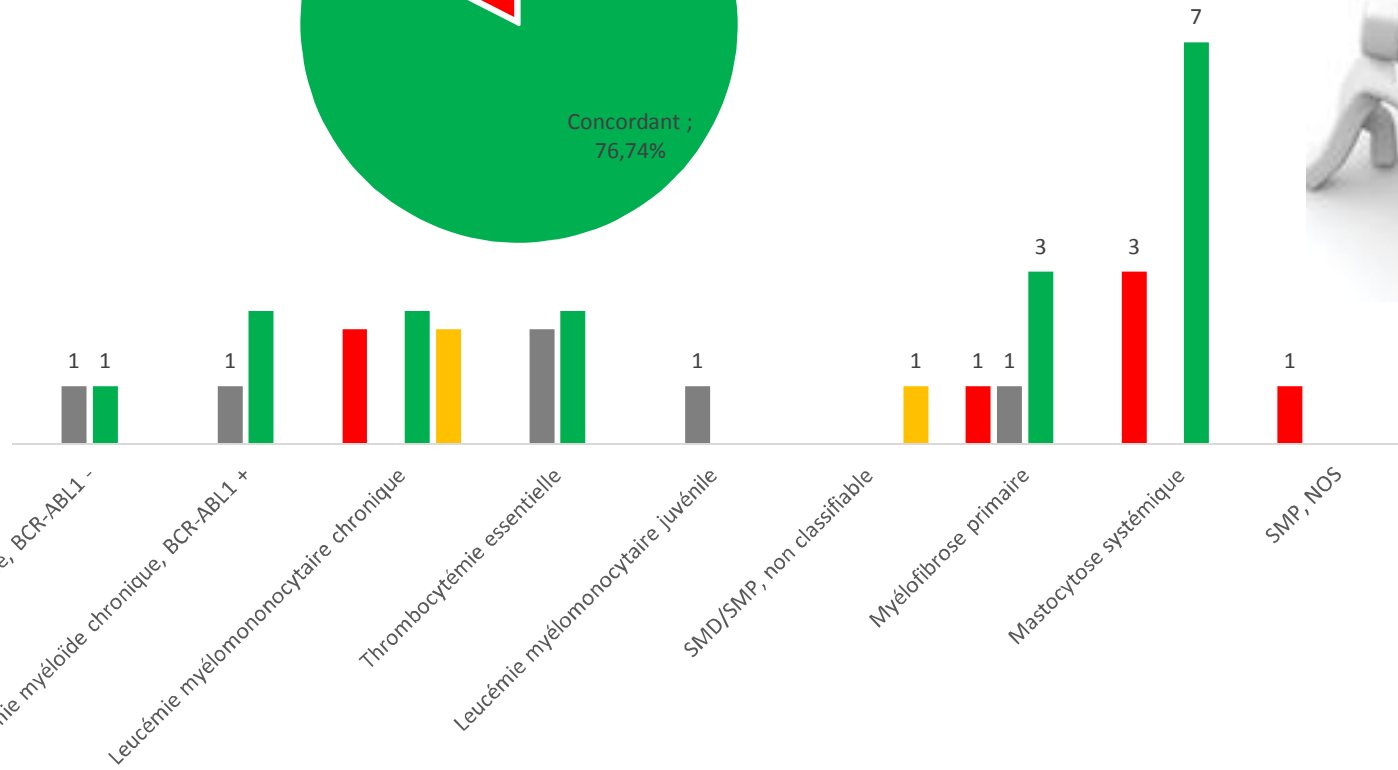
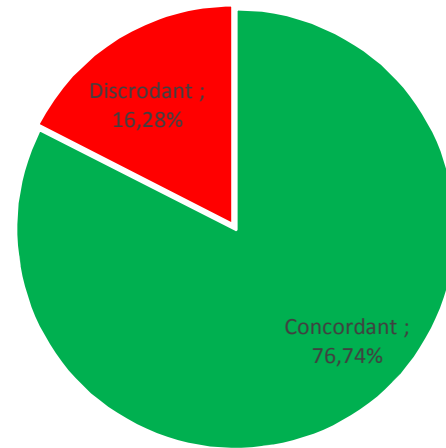


CYTOMETRIE EN FLUX

- À A l'exception de mastocytose (expression CD2, CD25 → CMF place de choix!
- À Guidelines ne préconisent pas recours à la CMF pour les MPN, MPN/MDS sauf en cas de critères d'accélération/progression (vers LMA)
- À Or dans notre cohorte MPN, MDS/MPN (à l'exception de la mastocytose systémique) (n= 37 patients)
 - À 36 fois demandée!!!

CONTRIBUTION ANATOMO-PATHOLOGIE

Myélofibrose, Mastocytose : Apports de l'Anapath à ces diagnostics difficiles!



CONTRIBUTION CYTOGENETIQUE

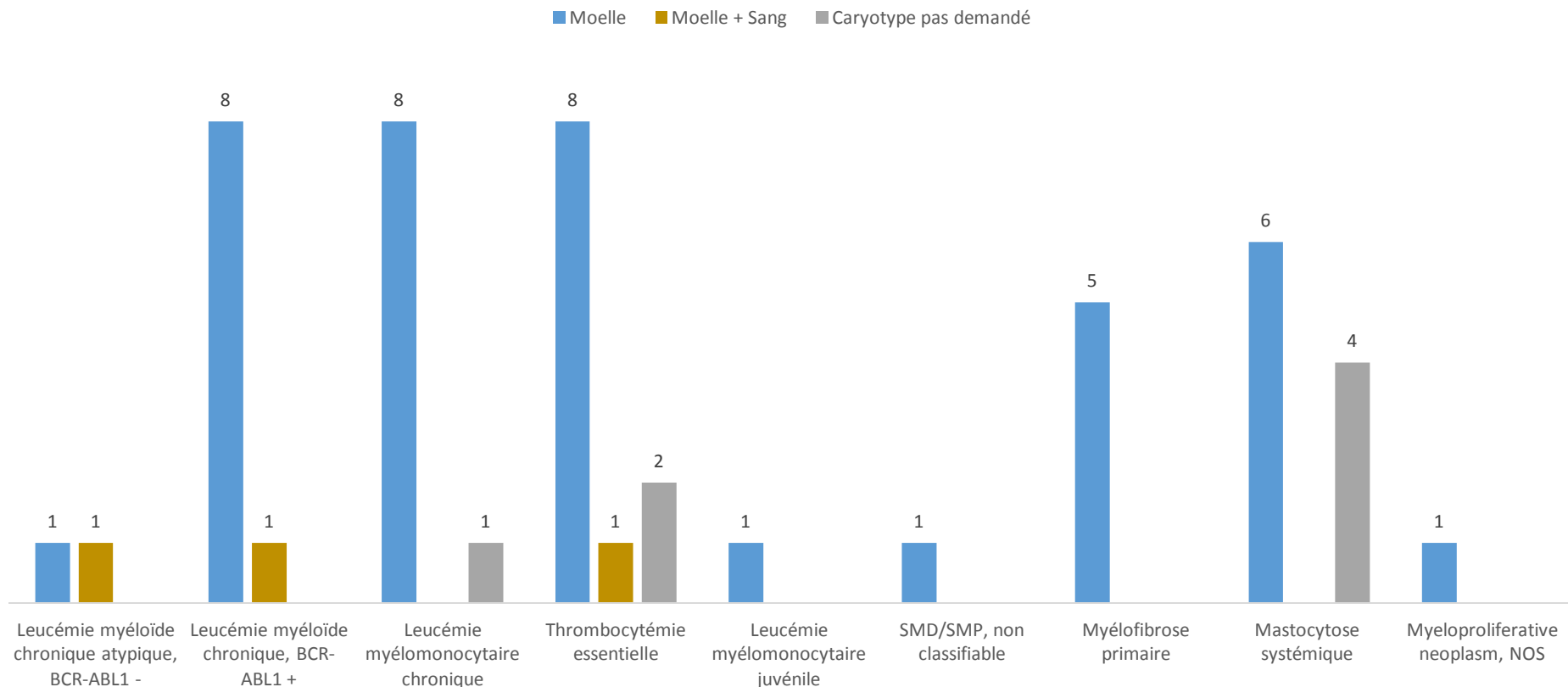
Tissu de prédilection ? Sang ou moelle?

À Dans un contexte de MPN : **Moelle**.

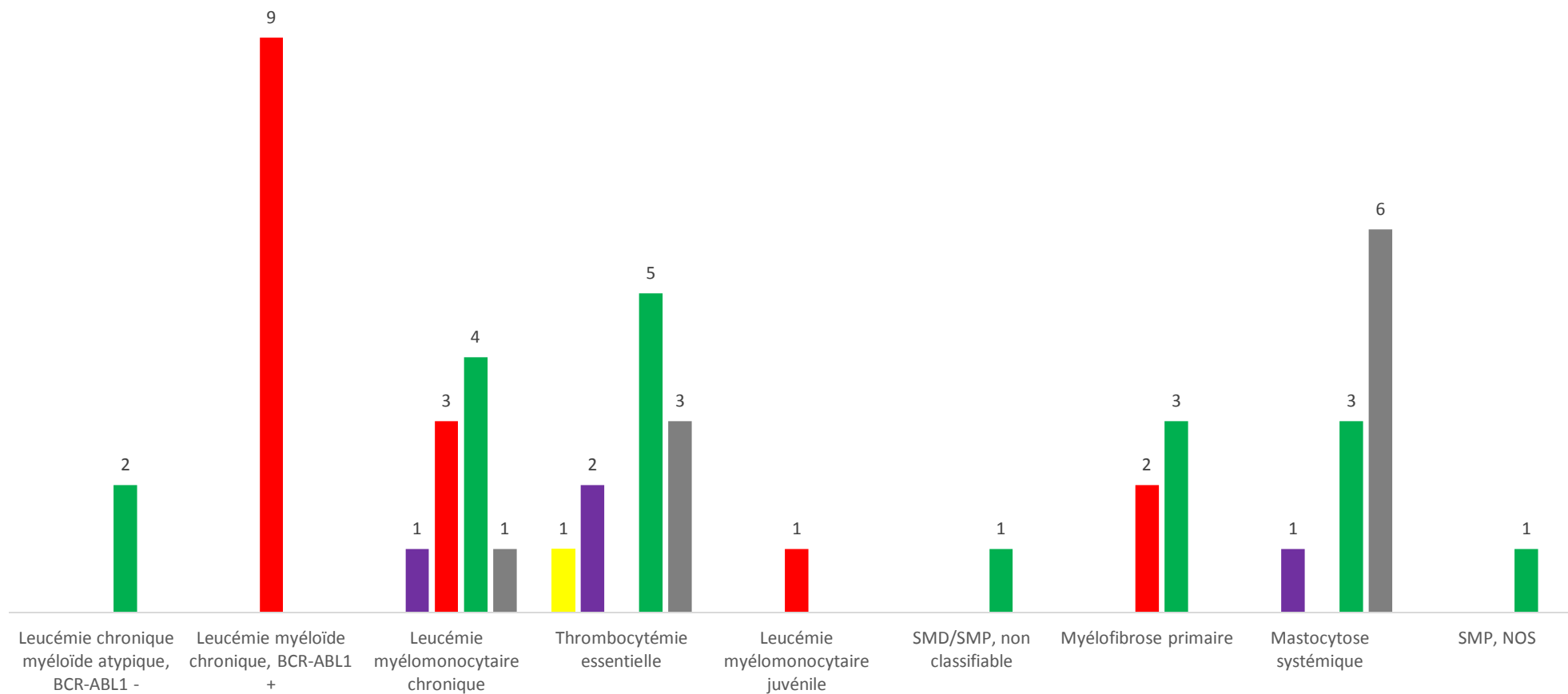
À Exception : Myélofibrose → **Sang**.

À Dans notre cohorte :

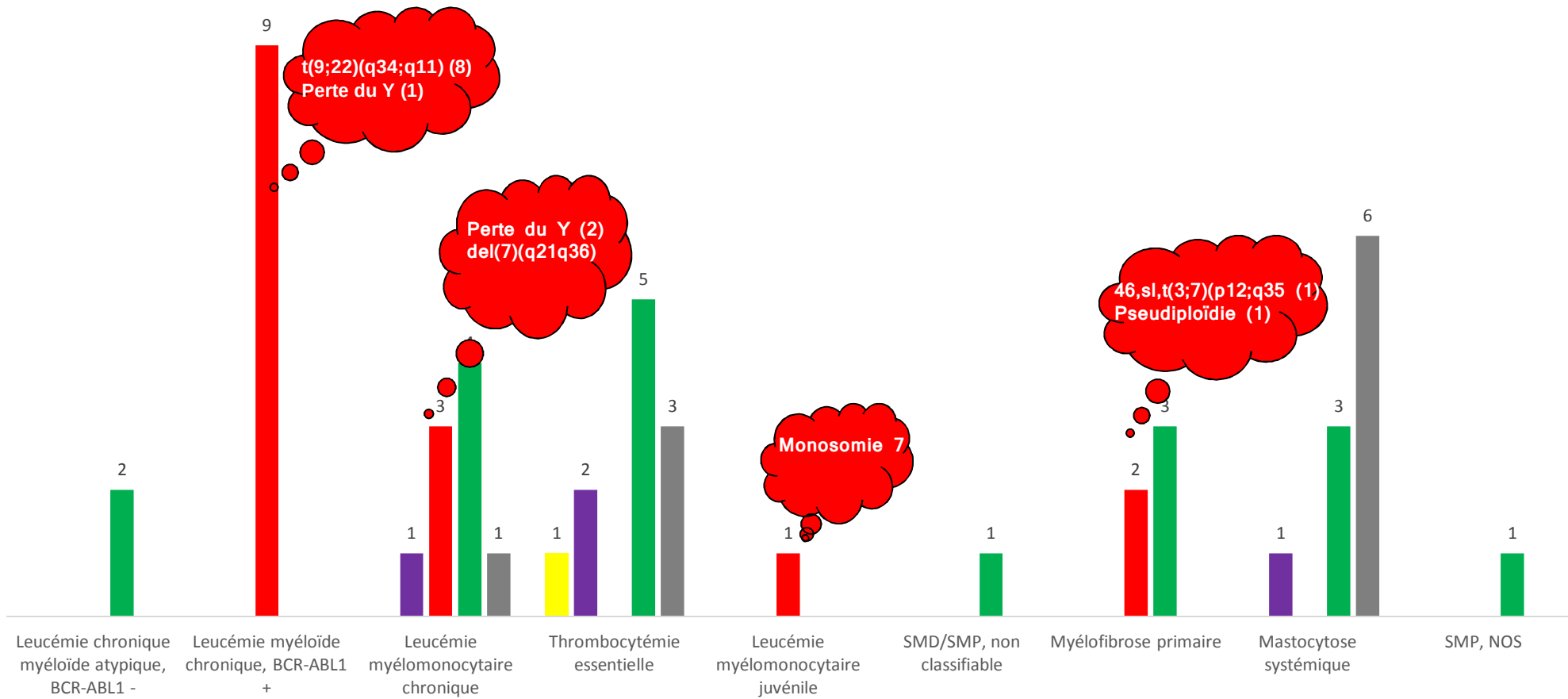
TYPE DE MATERIEL CARYOTYPE SMP 2016



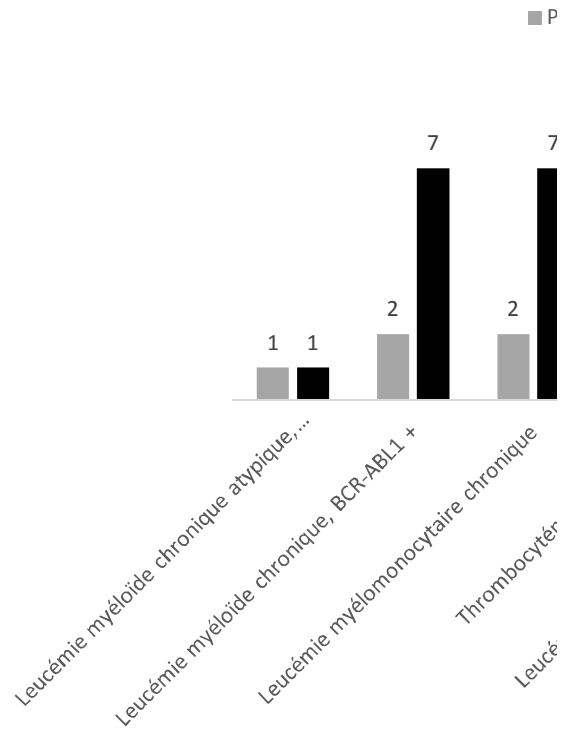
■ Non conclusif ■ Pas répondu ■ Anormal ■ Normal ■ Non demandé/ non réalisé



■ Non conclusif ■ Pas répondu ■ Anormal ■ Normal ■ Non demandé/ non réalisé



CONTRIBUTION FISH : PAS DE PLACE POUR LE FISH!



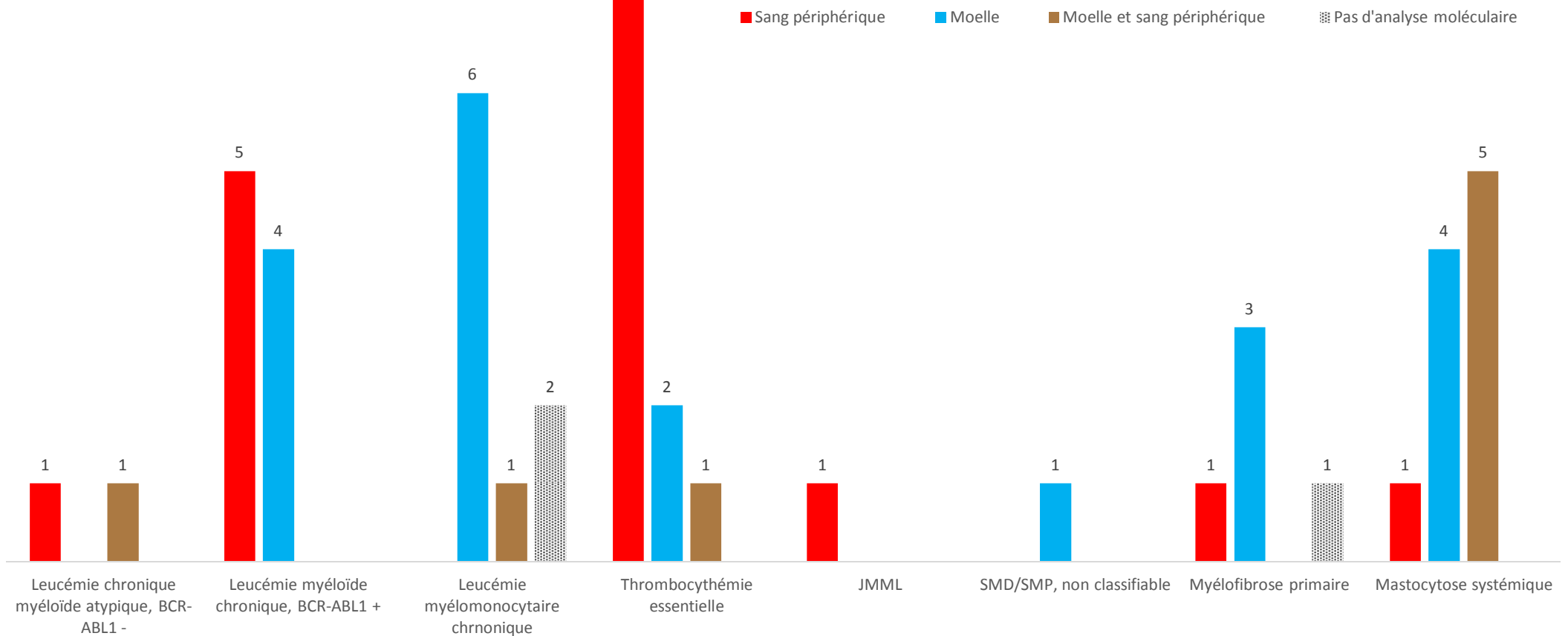
CONTRIBUTION DE LA BIOLOGIE MOLECULAIRE

• Tissu de prédilection ? Sang ou moelle?

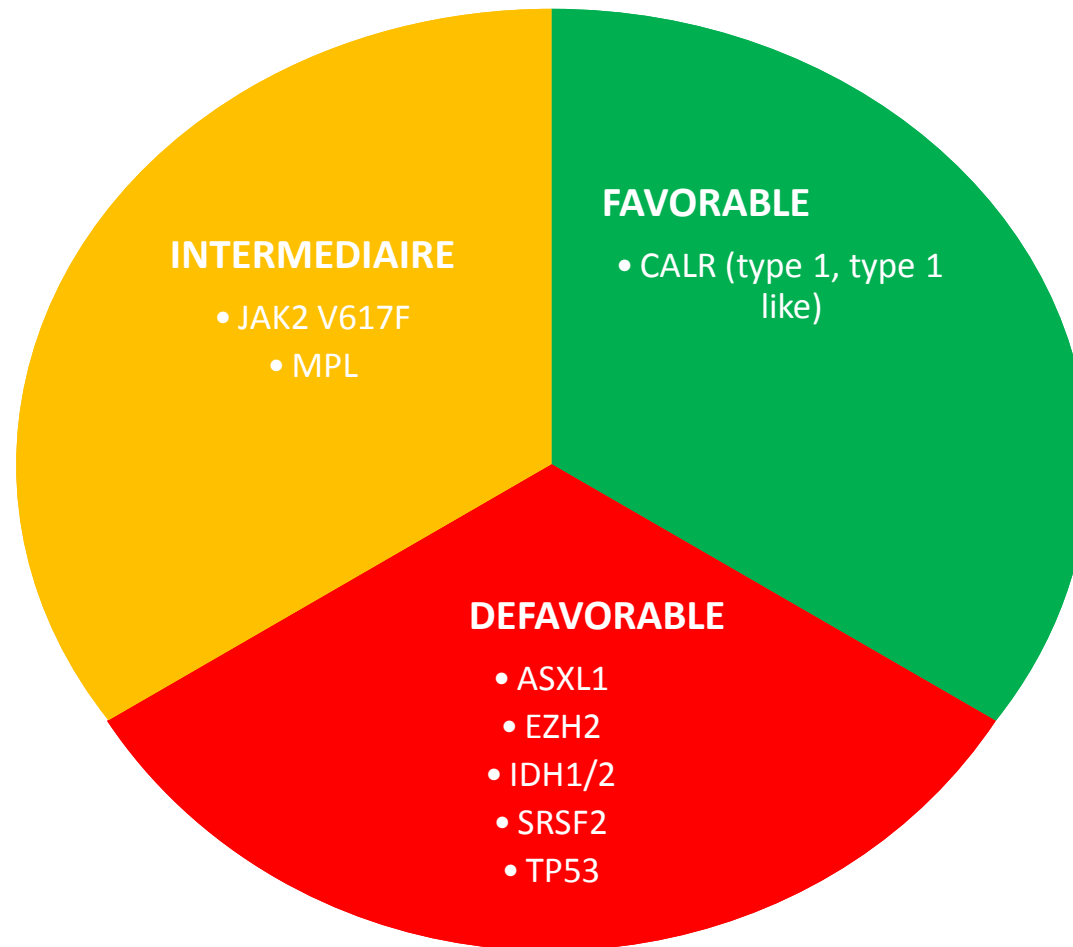
À Dans un contexte de MPN : **Moelle**.

À Exception : Myélofibrose → **Sang**.

À Dans notre cohorte :

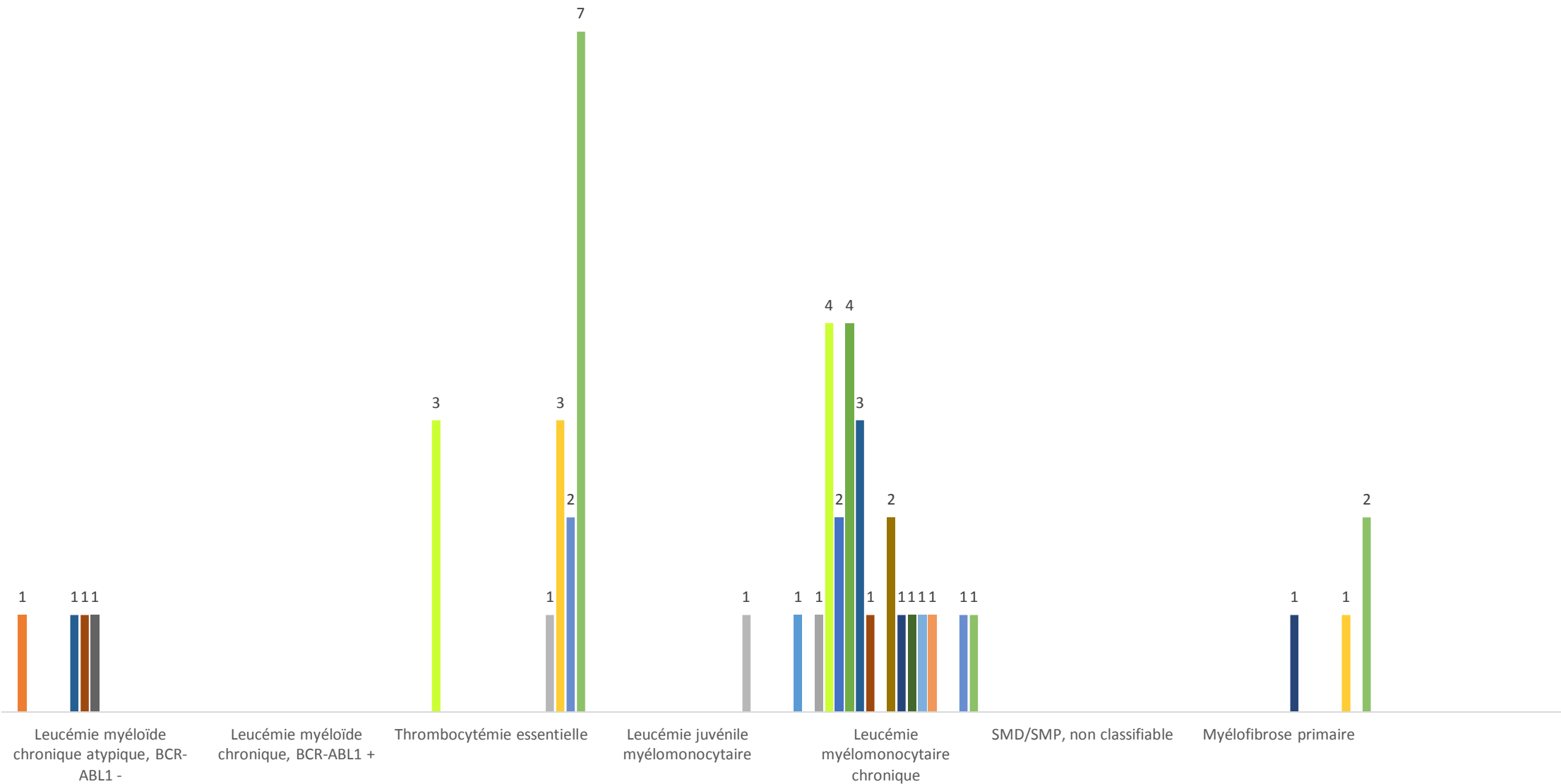


PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF MUTATIONS IN MPN



CONTRIBUTION BIOLOGIE MOLECULAIRE (NGS): Type de gènes mutés

■ NRAS ■ SETBP1 ■ KRAS ■ TET2 ■ ZRSR2 ■ SRSF2 ■ ASXL1 (exon 12) ■ TET2 (exon 3/exon 10) ■ SRSF2 (exon 1) ■ RUNX1 ■ U2AF1 ■ STAG2 ■ IDH2 ■ KDM6A ■ PTPN11 ■ CAL R ■ MPL ■ JAK 2



■ NRAS ■ SETBP1 ■ KRAS ■ TET2 ■ ZRSR2
 ■ SRSF2 ■ ASXL1 (exon 12) ■ TET2 (exon 3/exon 10) ■ SRSF2 (exon 1) ■ RUNX1
 ■ U2AF1 ■ STAG2 ■ IDH2 ■ KDM6A ■ PTPN11
 ■ CAL R ■ MPL ■ JAK 2

**TE (n=11): (90% gen +;
1 patient *triple neg*)**

JAK2 (6)
 JAK2 V617F(pas par NGS) (1)
 MPL (1)
 CAL R (2)

LMC atypique

SETBP1+, ASXL1+.
 JAK2, CALR MPL CSF3R

REVIEW

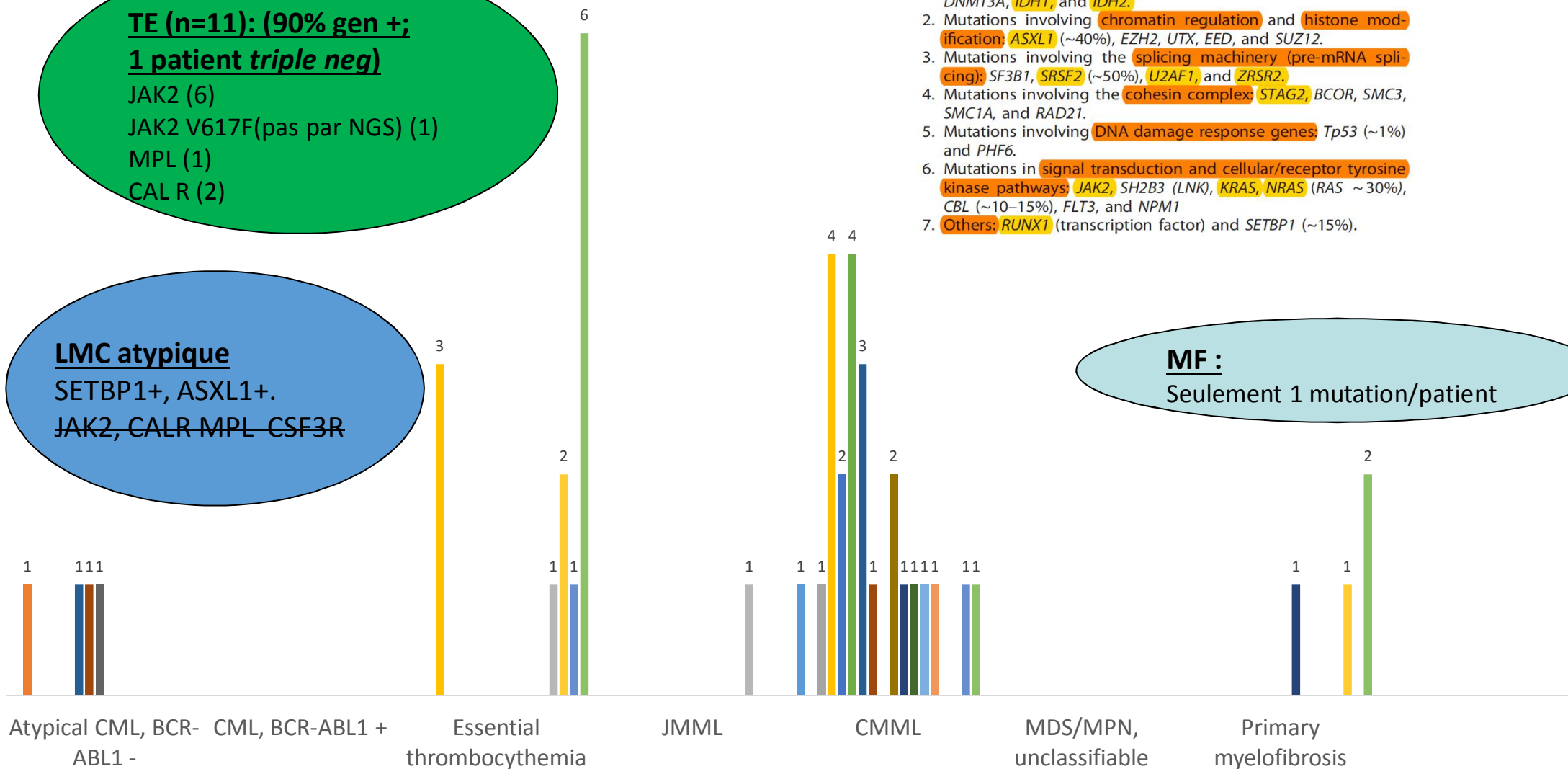
Cytogenetic and molecular abnormalities in chronic myelomonocytic leukemia

MM Patnaik and A Tefferi

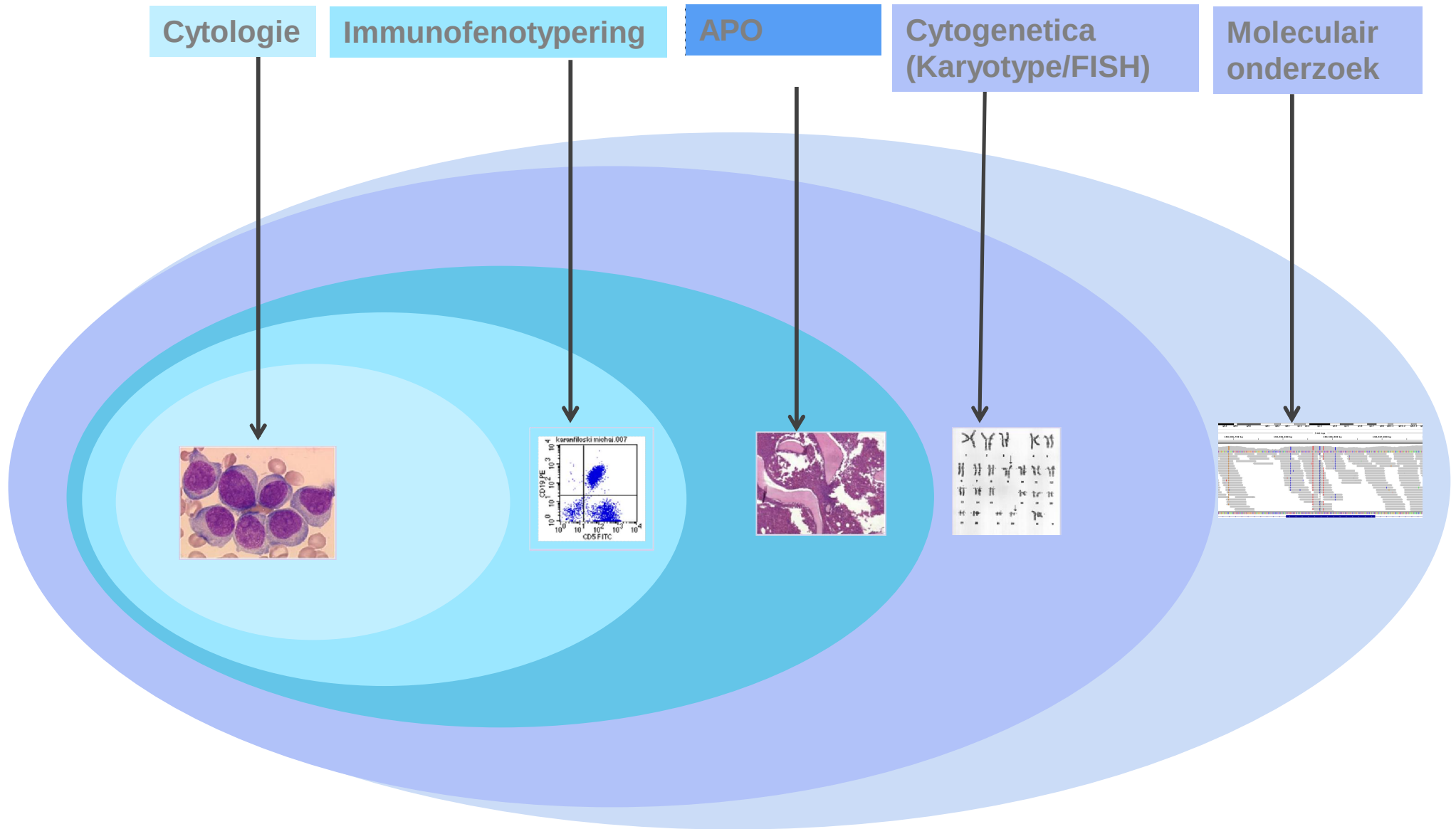
1. Mutations involving epigenetic regulator genes: *TET2* (~60%), *DNMT3A*, *IDH1*, and *IDH2*.
2. Mutations involving chromatin regulation and histone modification: *ASXL1* (~40%), *EZH2*, *UTX*, *EED*, and *SUZ12*.
3. Mutations involving the splicing machinery (pre-mRNA splicing): *SF3B1*, *SRSF2* (~50%), *U2AF1*, and *ZRSR2*.
4. Mutations involving the cohesin complex: *STAG2*, *BCOR*, *SMC3*, *SMC1A*, and *RAD21*.
5. Mutations involving DNA damage response genes: *Tp53* (~1%) and *PHF6*.
6. Mutations in signal transduction and cellular/receptor tyrosine kinase pathways: *JAK2*, *SH2B3* (*LNK*), *KRAS*, *NRAS* (*RAS* ~30%), *CBL* (~10–15%), *FLT3*, and *NPM1*.
7. Others: *RUNX1* (transcription factor) and *SETBP1* (~15%).

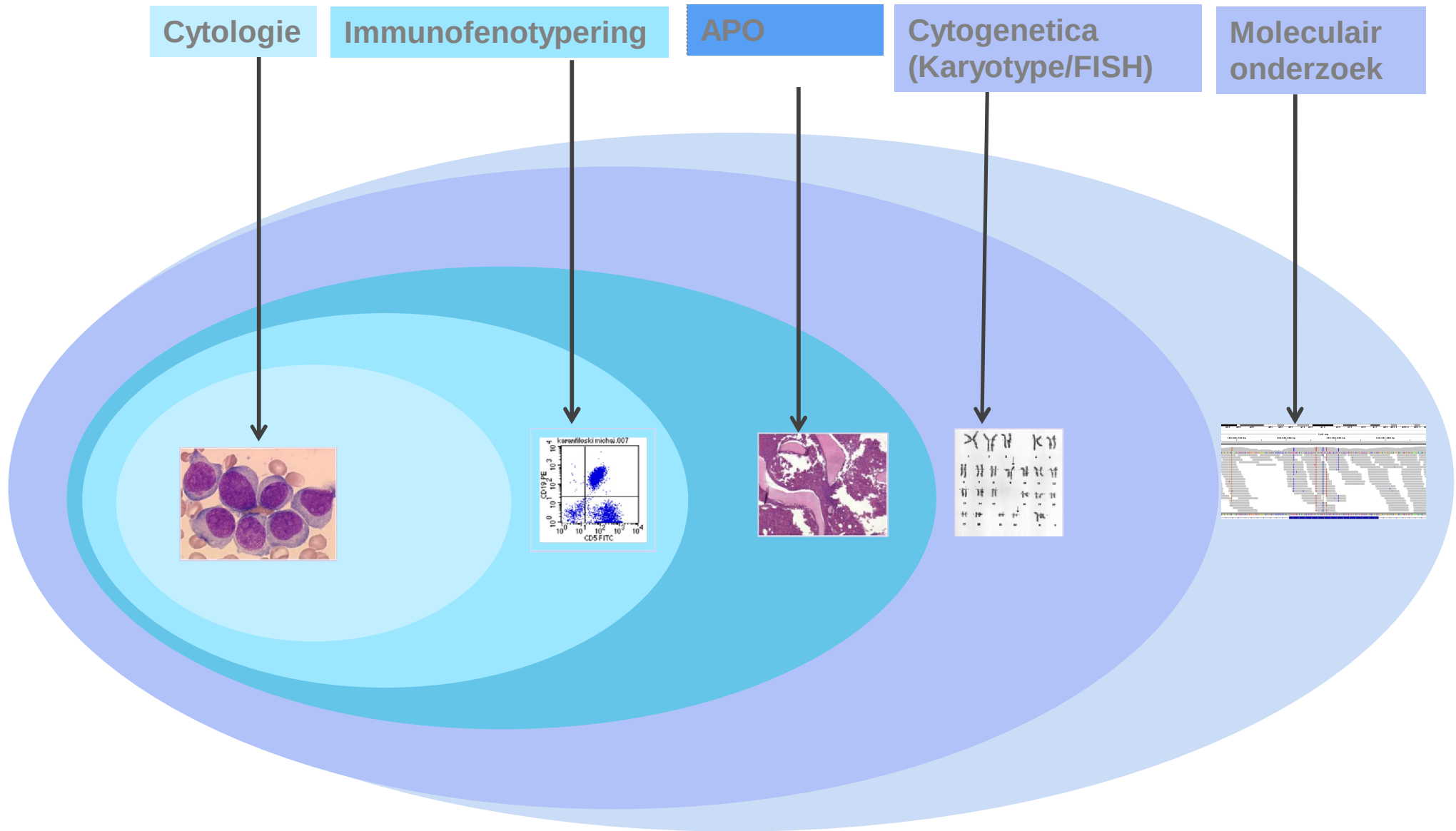
MF :

Seulement 1 mutation/patient

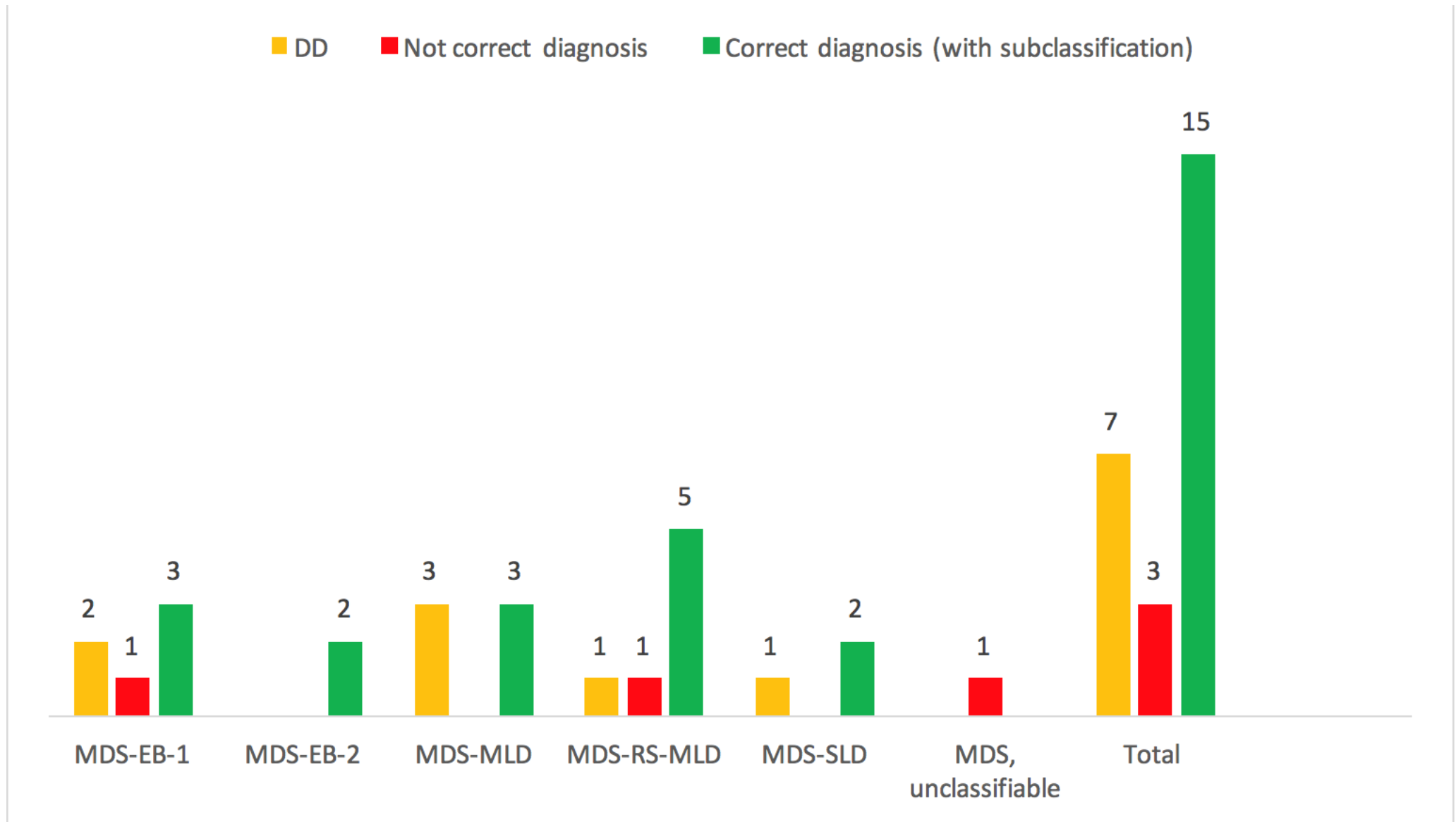


Syndromes myelodysplasiques (MDS)





Cytologie : corrélation avec le diagnostic final?

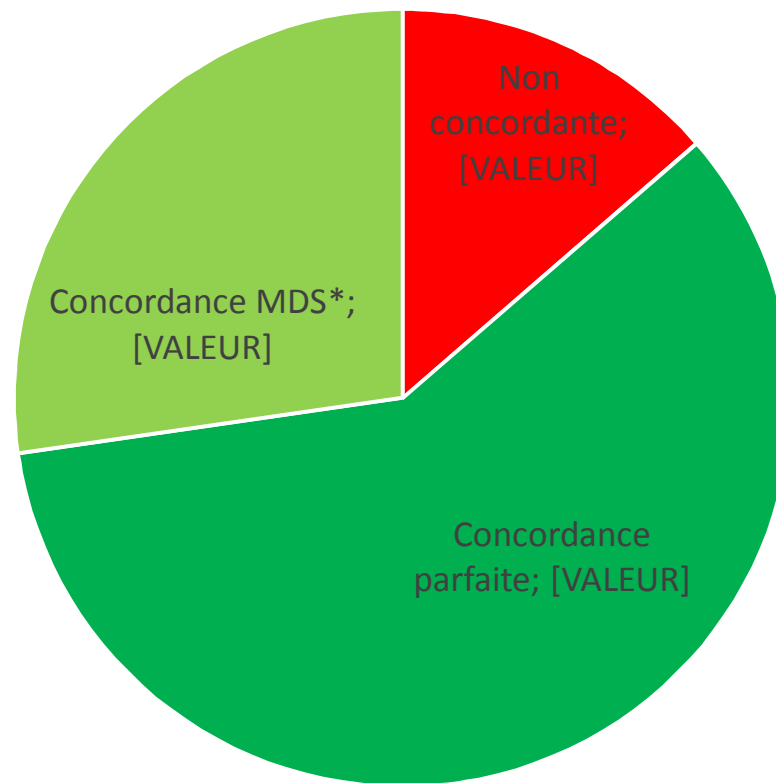


Cytométrie en flux

- Réalisée pour 5/25 patients
 - Confirmation myéloblastes (EB-1&2)
 - Population lymphocytaire B anormale (1 patient avec MDS-SLD et 1 avec MDS-MLD)

Contribution de l'anatomopathologie pour MDS

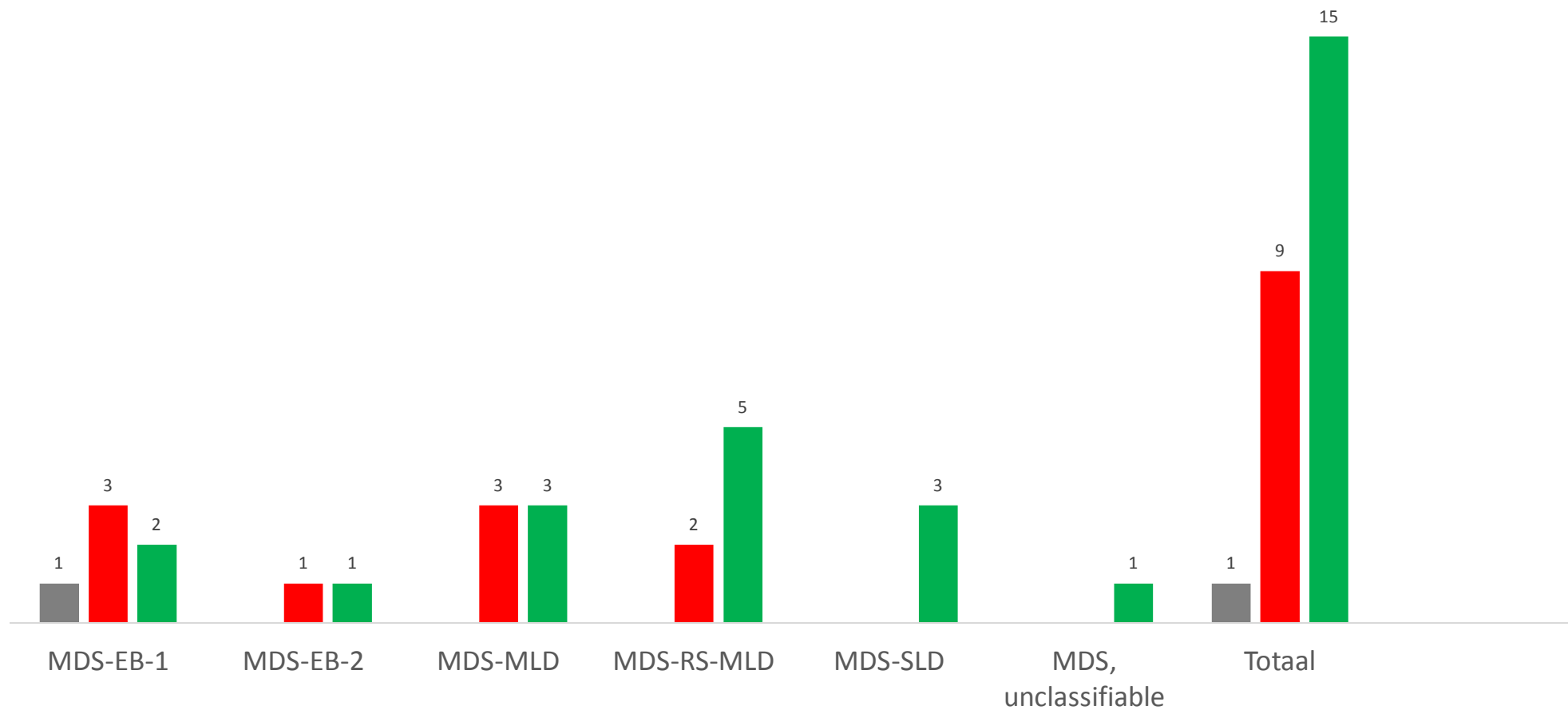
**Pas de subclassification*



CYTOGENETIQUE & MDS

DISTRIBUTION CARYOTYPE MDS 2016

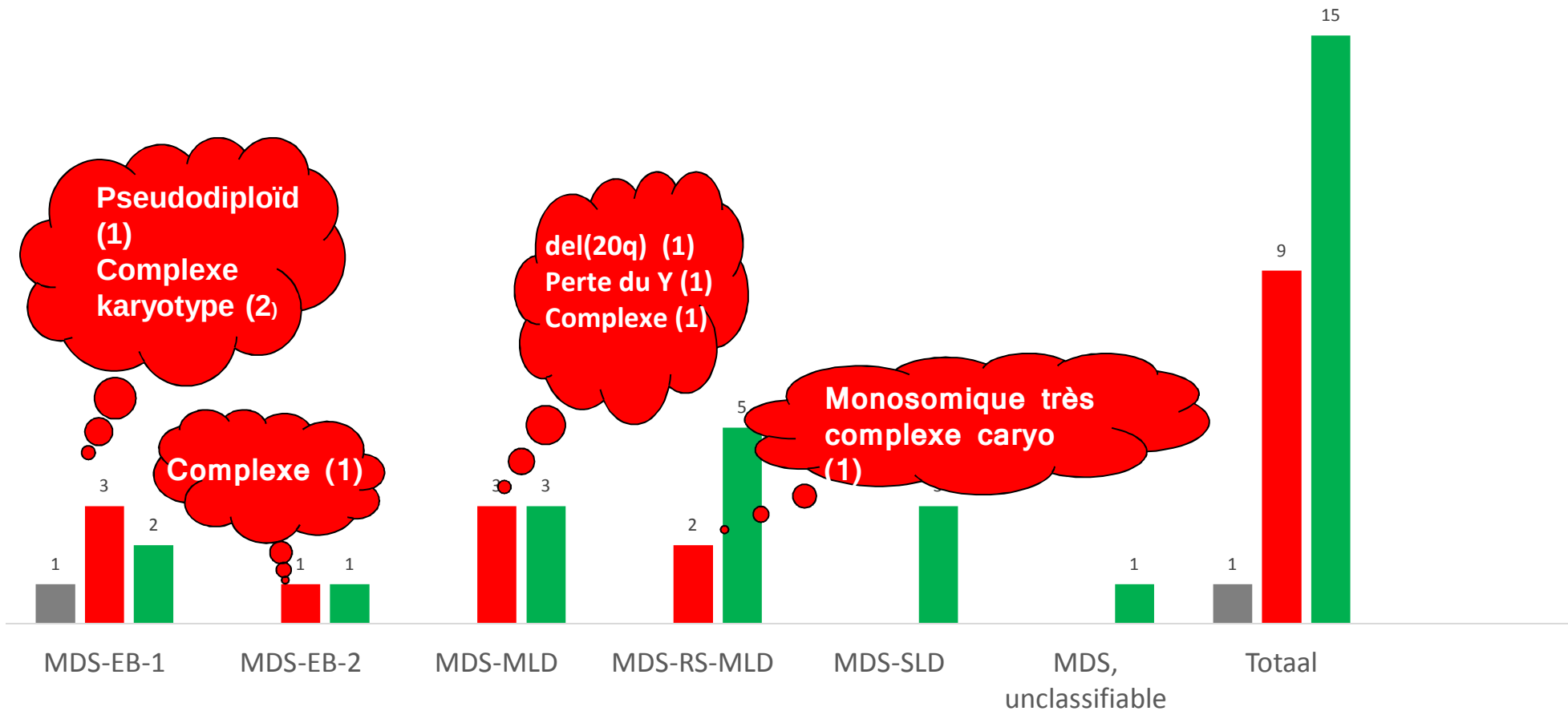
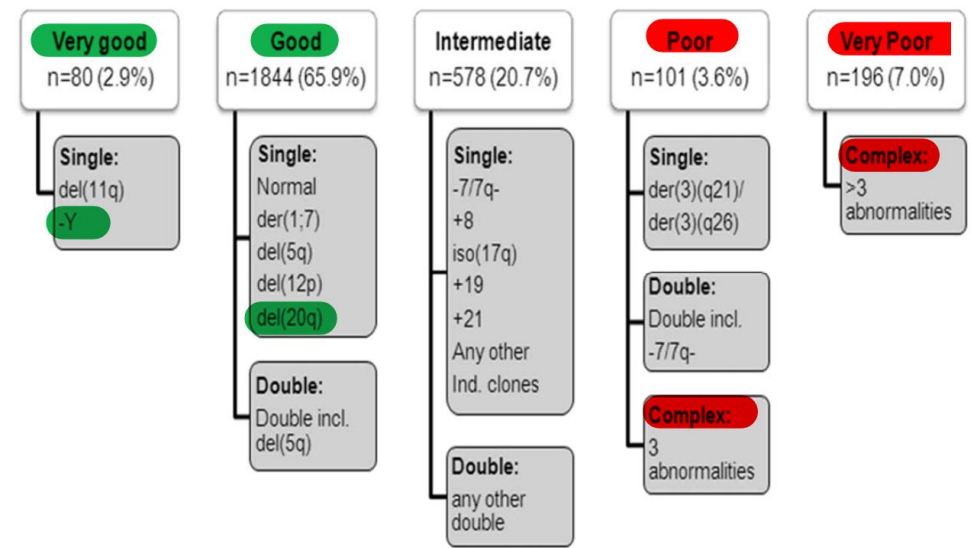
■ niet aangevraagd ■ Afwijkend ■ Normaal



CYTOGENETIQUE & MDS

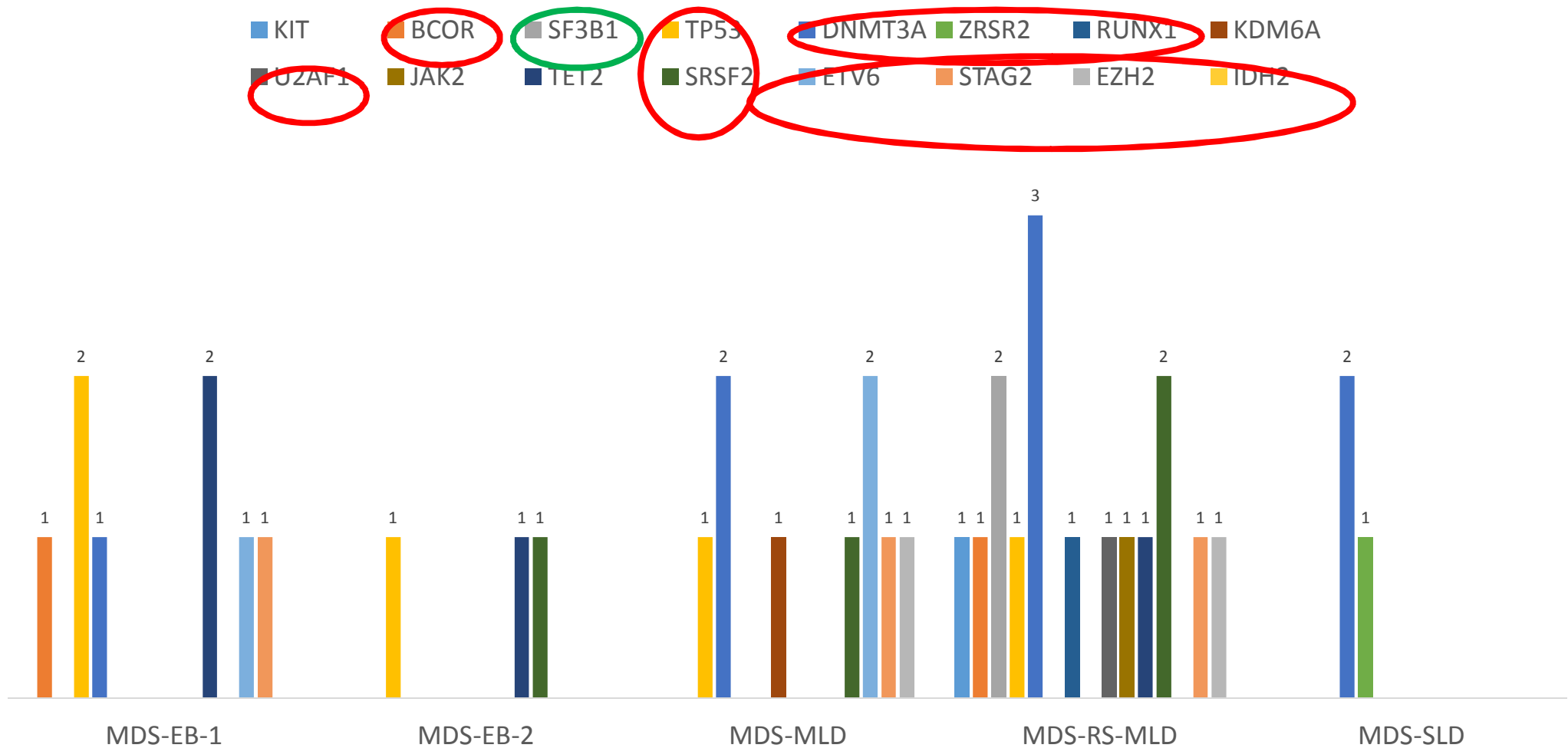
DISTRIBUTION CAROTYPES MDS

■ niet aangevraagd ■ Afwijker



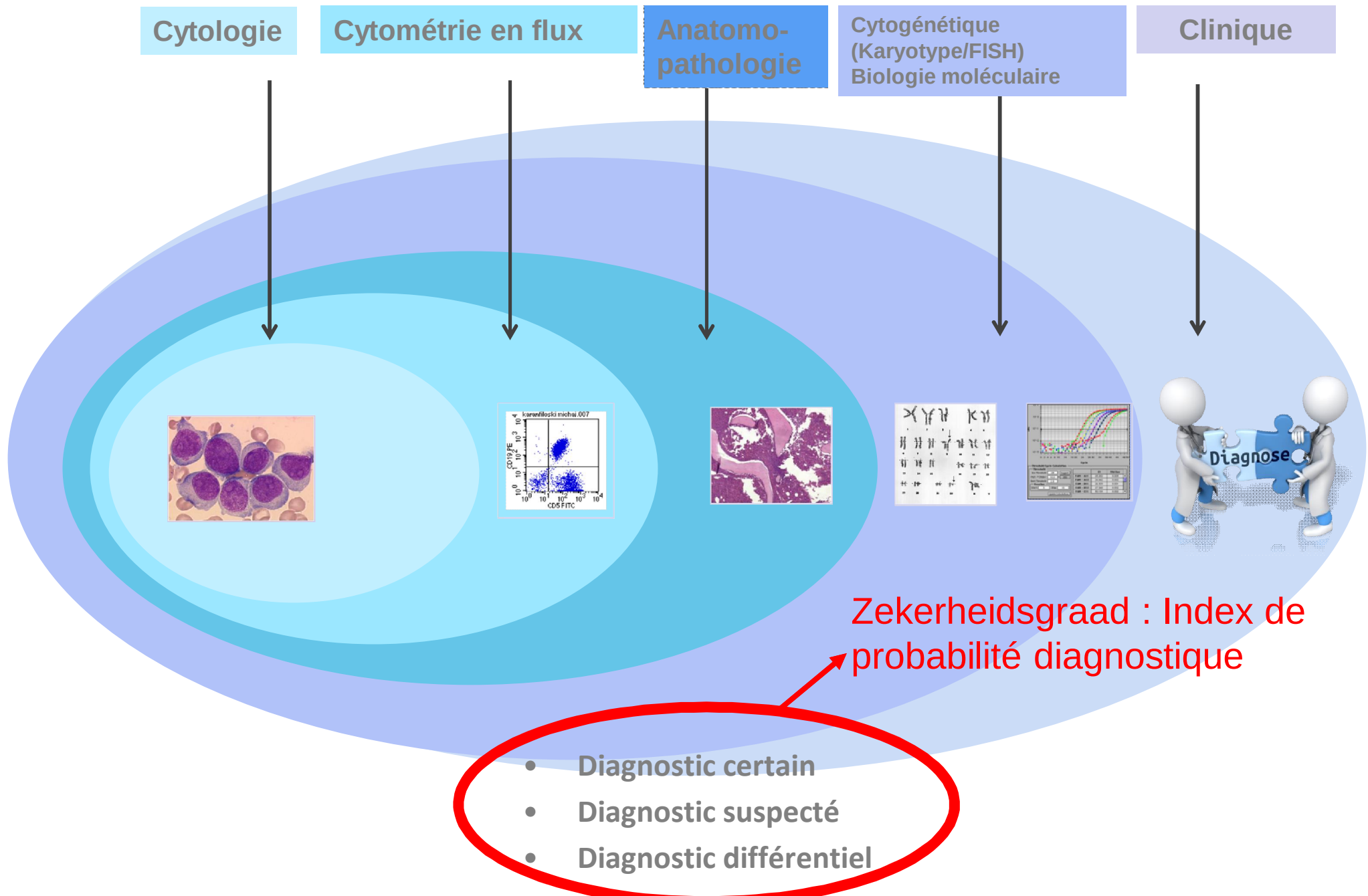
DIAGNOSTIQUE MOLECULAIRE

MUTATIONS RETROUVEES DANS COHORTE MDS 2016





GENES	LITTERATURE	UZ LEUVEN MDS 2016
DNMT3A	12-18%	31%
TP53	8-12%	19.23%
SRSF2	10-15%	15.38%
TET2	20-25%	15.38%
SF3B1	20-30%	7.69%
EZH2	5-10%	11.54%
STAG2	5-10%	11.54%
IDH2	< 5%	7.69%
ZRSR2	5-10%	3.85%
JAK2	< 5%	3.85%
RUNX1	10-15%	3.85%
U2AF1	8-12%	3.85%
BCOR	< 5%	3.85%



AUTRES UTILISATIONS DU SYSTEME DE CODAGE

- Evaluer l'index de probabilité diagnostique (*à posteriori*):
 - **Grade 1** : Pas ou très peu de certitude diagnostique
 - **Grade 2** : Certitude modérée
 - **Grade 3** : Haute certitude

INDEX DE PROBABILITE DIAGNOSTIQUE : 3

Code OMS 2008 SMP/SMD
Autres remarques

Leucémie myéloïde chronique, BCR-ABL1 positive.
OMS 2016 : Leucémie myéloïde chronique, BCR-ABL1 positive.

Index de certitude diagnostique

Timing
Localisation médullaire

3

Nouvelle présentation
Présente

Données cliniques :

Madame se sent bien. Depuis quelques mois, se plaint de **fatigue**, quoique sur ces 8 derniers jours : majoration extrême. Madame a **fortement maigri** : 14 kg en 1 ans. Perte d'appétit. Pas de sueurs nocturnes. Pas d'infections. **Majoration de la dyspnée** dans les dernières semaines : raison pour laquelle elle a consulté son médecin généraliste. NYHA de classe 3. Pas d'augmentation des saignements, seulement des hématomes qui se apparaissent facilement. Défécation difficile. Pas de plaintes urinaires. Œdèmes malléolaires stables; Parfois de la douleurs au côté gauche.

Cytologie :

Anémie normocytaire, hyperchrome avec anisopoikilocytose. Leucocytose importante avec neutrophilie et éosonophilie absolues et **basophilie** et monoctyose relatives/absolues. La lignée myéloïde présente une **déviati on gauche** avec un aspect toxique. **Formule leuco-érythroblastaire**. Augmentation de la thrombocytose.

Moelle **hypercellulaire** avec de nombreux grains hypercellulaires. La lignée myéloïde est **hyperplastique** avec un aspect toxique. Bonne représentation de la lignée **mégacaryocytaire** avec des signes **dysplasiques**. L'image morphologique peut correspondre au diagnostique d'une pathologie myéloproliférative chronique de type **leucémie myéloïde chronique LMC** (selon la classification OMS 2008 et 2016). À corrél er aux données de la cytogénétique, de l'anatomo-pathologique et au diagnostic

Cytométrie en flux :

Pas d'application après l'investigation cytologique.

Anatomo-pathologie

Biopsie médullaire :

- Image d'une LMC. A corrél er à la cytogénétique.
- Les colorations CD34 et réticuline suivent.

Caryotype

T(9;22)(q34;q11) : diagnostique d'une LMC

Données moléculaires

La présence d'un **transcrit de fusion BCR-ABL1 de type b3a2** appuie le diagnostic d'une leucémie myéloïde chronique.

FISH :

Non réalisé : voir caryotype.

Conclusion hématologique multidisciplinaire

Leucémie myéloïde chronique, BCR-ABL1 +

SYSTEME MMDH

Indication hématologique
Classification générale
Code OMS 2008 SMP/SMD
Autres remarques

Index de certitude diagnostique
Timing
Localisation médullaire

Leucémie myéloïde aiguë (LMA?)
Leucémie myéloïde aiguë (LMA) et autres néoplasmes des précurseurs
~~Leucémie myéloïde chronique atypique, BCR-ABL1 négative~~
~~OMS 2016 - Leucémie myéloïde chronique atypique, BCR-ABL1 négative~~
A suivre
2
Nouvelle présentation
Présente

Néoplasie myéloïde, therapy-related



- Lignée mégakaryocytaire dysplastique avec CD34+
- Excès de blastes (10-15% des ANC)
- Myélofibrose grade 1/3 à focalement au moins 2/3 selon Tefferi et al.

Caryotype

Conditions de culture : 1 jour non stimulé.

Conditions de culture : 2 jours non stimulés (non synchronisé). **46, XY, del(12)(p11p13){10}** : récurrent dans des hémopathies malignes variées, entre autres AML, SMD, SMP, SMP/SMD.

Données moléculaires

Résultat BCR-ABL1 : **pas de transcrit de fusion BCR-ABL1 détecté.**

Résultats NGS : la présence de mutations dans **SRSF2, NRAS et SETBP1** correspond au diagnostic d'un phénotype SMP/SMD, par exemple une LMMC. De plus, ces mutations sont associées avec **un pronostic moins favorable.**

FISH :

Non demandé

Conclusion hématologique multidisciplinaire

Le patient vient à la consultation pour seconde opinion.

En 2004 il a été traité pour une LCC et un lymphome du manteau stade IV-A (3x R-CHOP et une transplantation de cellules souches autologues BEAM avec atteinte d'une rémission complète. A Rotterdam, en 2007 : récurrence du lymphome du manteau sur base d'adénopathies progressives pour lesquels il a reçu 5x R-FC et 3X Rituximab. Depuis progression d'une leucocytose avec développement d'une splénomégalie.

Sur base des données des examens complémentaires, nous concluons en la présence d'un SMP/SMD ou d'un SMP avec cytogénétiquement une délétion 12p. Les mutations retrouvées peuvent se trouver dans le diagnostic d'une LMC atypique ou d'une LMMC et sont de mauvais pronostic. **Conclusion : diagnostic d'une néoplasie myéloïde therapy-related, type leucémie myéloïde atypique, avec délétion 12p et mutations de SRSF2, NRAS et SETBP1**

Données cliniques :

Historique :

- À **2004 : LLC et lymphome du manteau** stade IV-A pour lequel 3x R-CHOP et transplantation autologue de cellules souches → rémission complète.
- À 11/2006 : récurrence lymphome du manteau.

Problématique actuel :

- À Seconde opinion dans le cadre d'une récente **splénomégalie**.
- À Traitement par Hydroxyurée (commencé il y a deux semaines)
- À Initialement décision de faire une transplantation allogène de cellules souches mais après concertation multidisciplinaire : trop de comorbidités.
- À Symptômes actuels :
 - À Fatigue +++
 - À Douleurs dans la région de la rate, jusqu'aux épaules lors de grandes inspirations. Soulagées par Hydréa.

Cytologie :

LMC débutante?

Leucocytose avec lymphocytose et **basophilie. Discrète dysplasie** dans la li myéloïde.

Moelle de cellularité normale (compte tenu de l'âge) avec un seul grain médul **hypercellulaire** unique. La lignée myéloïde est normalement présente avec une déviation vers la droite (contamination par le sang périphérique?) et avec une discrète dyspl **Basophilie centrale**. Pas d'argument pour une invasion par un lymphome. A corréler données de l'immunophénotypage.

L'image morphologique **pourrait correspondre à une néoplasie myéloproliférative (LMC??)**. A corréler aux données de l'anatomo-pathologie et de la cytogénétique.

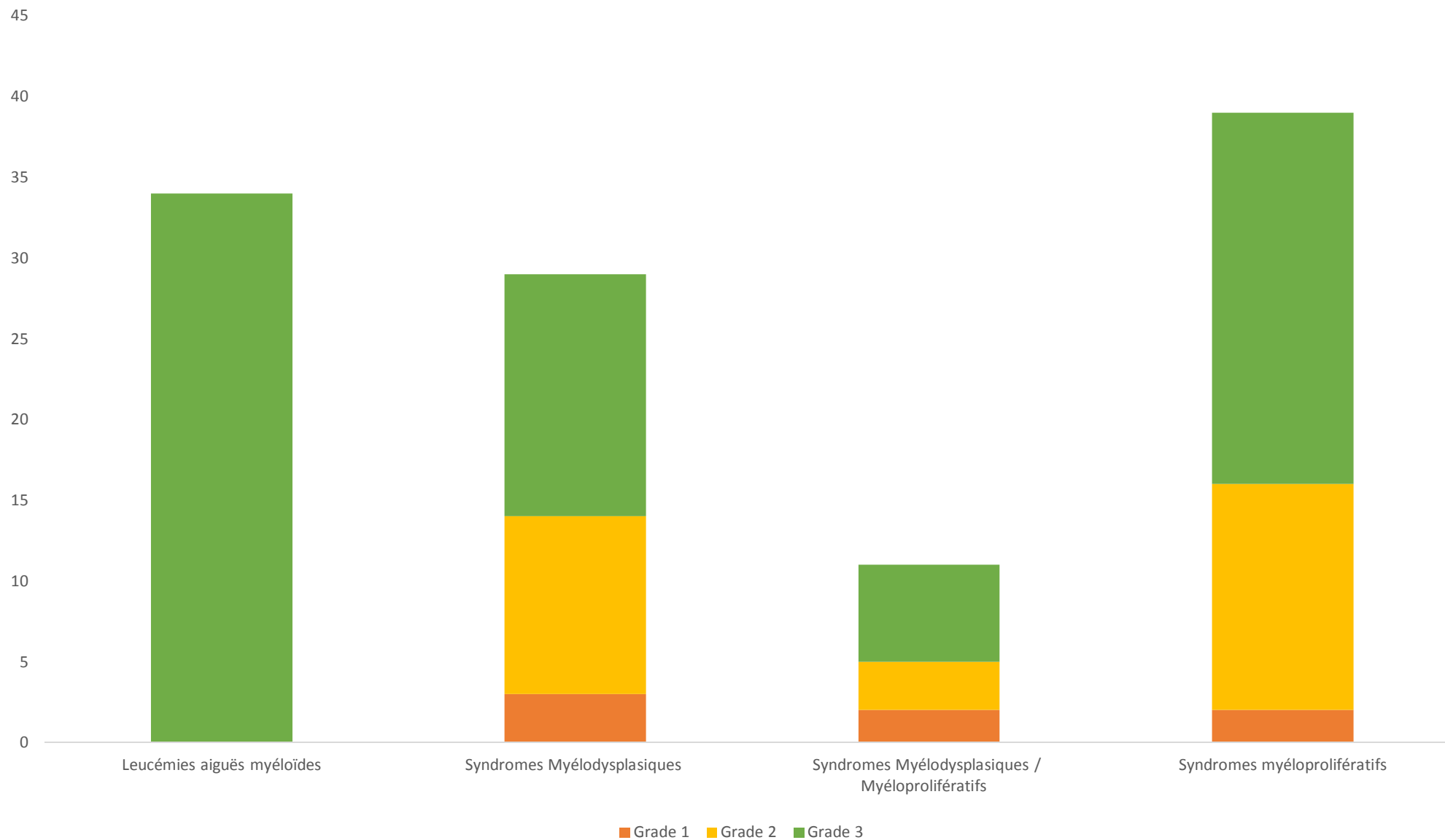
Cytométrie en flux :

L'analyse d'immunophénotypage ne donne pas d'arguments suffisants de la présence d'un processus monoclonal cellulaire B.

Anatomo-pathologie

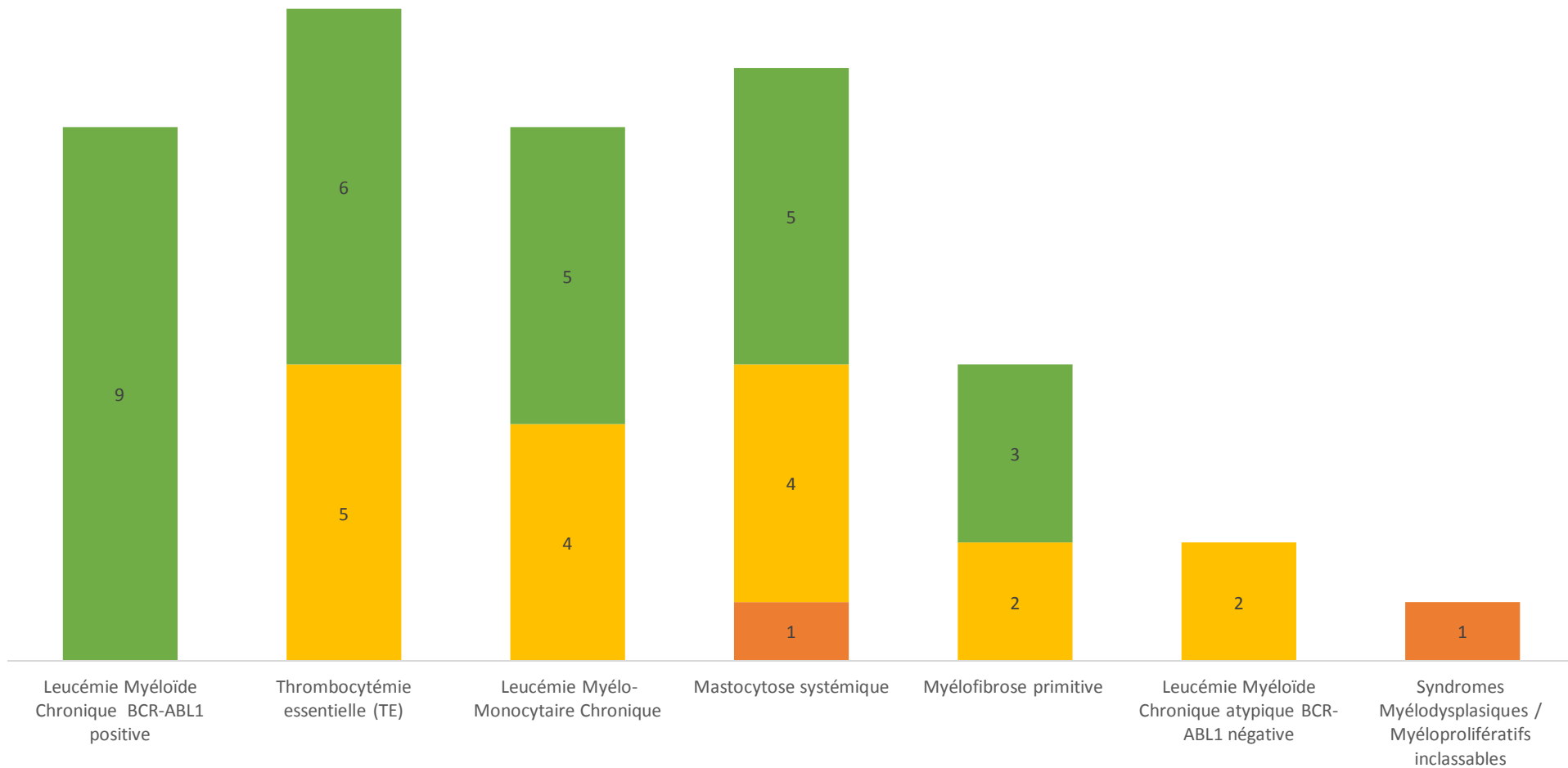
- Moelle hypercellulaire.
- Pas d'évidence d'une localisation du lymphome.
- Lignée myéloïde hypercellulaire, nombre augmenté d'éosinophiles

INDEX DE PROBABILITE DIAGNOSTIQUE LMA, SMD, SMP, SMP-SMD



INDEX DE PROBABILITE DIAGNOSTIQUE SMP, SMP-SMD

Grade 1 Grade 2 Grade 3



1 | Classification OMS 2016 des SMP

Comment pouvons-nous mesurer ces changements et leurs implications quant au diagnostic, modifications ou non de traitement qu'ils impliquent?

2 | Epidémiologie

Comparaison de la distribution des SMP suivant la classification WHO 2008 et suivant la classification 2016 à UZ Leuven?

3 | Examens complémentaires

- En présence de ces nouveaux critères diagnostiques, comment pouvons-nous appréhender l'apport de la cytologie et des examens complémentaires au diagnostic hématologique final?
- **Quel est l'impact de la qualité du prélèvement sur le diagnostic final?**

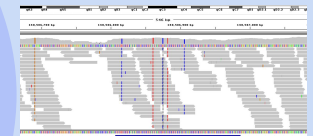
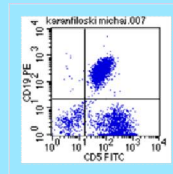
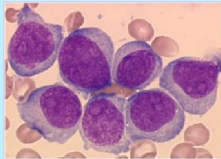
Cytologie

Cytométrie en flux

Anatomo-
pathologie

Cytogénétique
(Karyotype/FISH)

Biologie
moléculaire



Qualité du prélèvement

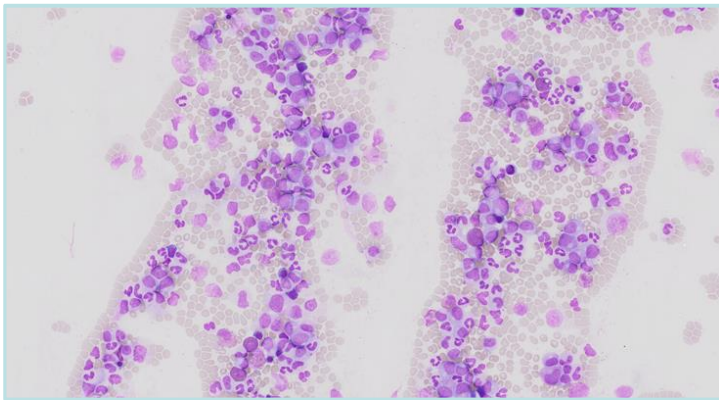
- Ponctions/échantillons représentatifs
- Echantillons moins représentatifs

- Diagnostic certain
- Diagnostic suspecté
- Diagnostic différentiel

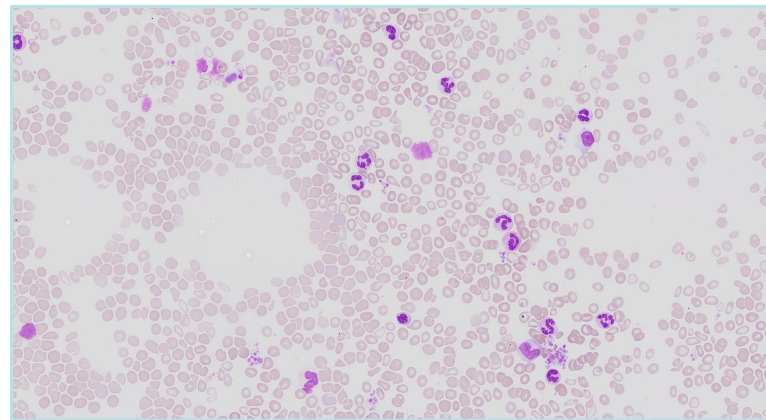
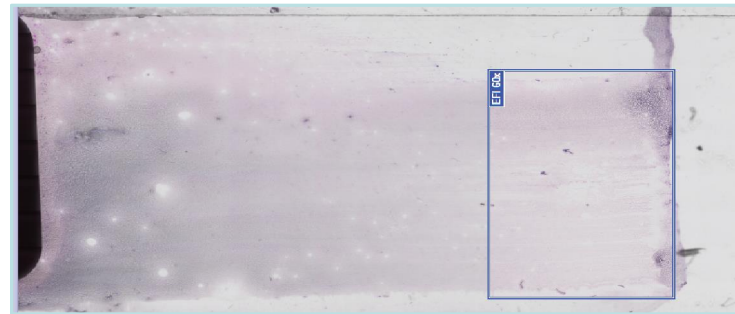
- Echantillon (non) réceptionné
- Analyse non effectuée

INFLUENCE DE LA QUALITE DU PRELEVEMENT

Bonne qualité



Mauvaise qualité



INDEX DE PROBABILITE DIAGNOSTIQUE SMP, SMP-SMD

Grade 1 Grade 2 Grade 3

Myélofibrose primaire

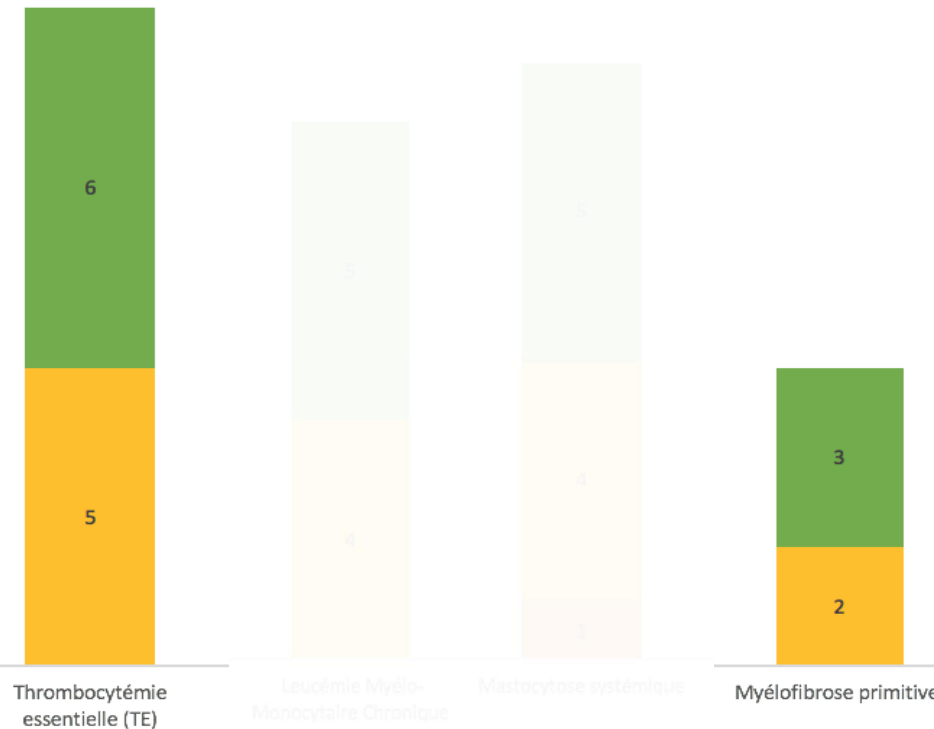
Bonne qualité

Mauvaise qualité

TE

Bonne qualité

Mauvaise qualité



La mauvaise qualité **générale** des prélèvements permet d'expliquer un cas d'index de probabilité diagnostique + faible à la fois pour MF et TE.



CONCLUSIONS- POINTS CLES

- Standardisation du processus de diagnostique hématologique : un processus **ardu**.
- Le diagnostic des pathologies hématologiques nécessite plus que jamais **une approche multidisciplinaire**.
- La nouvelle classification OMS 2016, accordant de plus en plus d'importance aux données de la **biologie moléculaire**, entraine une **augmentation** de la demande de ces analyses. Une prescription raisonnée demeure importante et des études ultérieures quant à la signification diagnostique/pronostique des anomalies génétiques sont plus que jamais nécessaires.

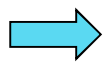
Un exemple d'un autre de mes « 12 travaux d'Hercule »!



Avantages

Datamining/Data management
des hémopathies

Constitution d'une base de
données homemade



Base de données évolutive

Nombreuses applications
(teaching, épidémiologie, ...)

Limitations

Toutes les pathologies hématologiques
ne sont pas codées (LLC,, ..)

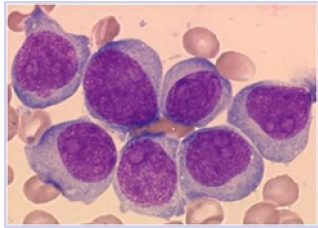
Demande du travail +++, soutien
logistique +++, nouvelle version du
software LIS de Leuven (LWS)
souhaitable.

To do

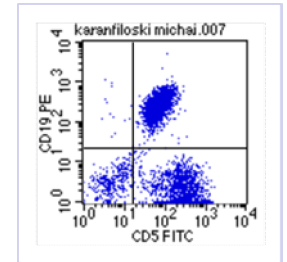
Amélioration du système de codage : vers une automatisation du processus : besoin
d'améliorer le LIS.

Standardiser également les procédures de demandes pour le diagnostic hématologique

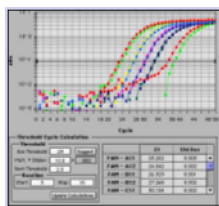
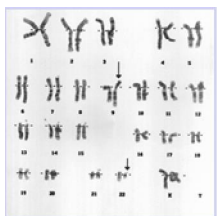
Cytologie



Cytométrie en flux



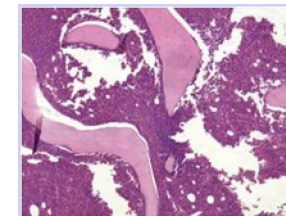
Cytogénétique Biologie moléculaire



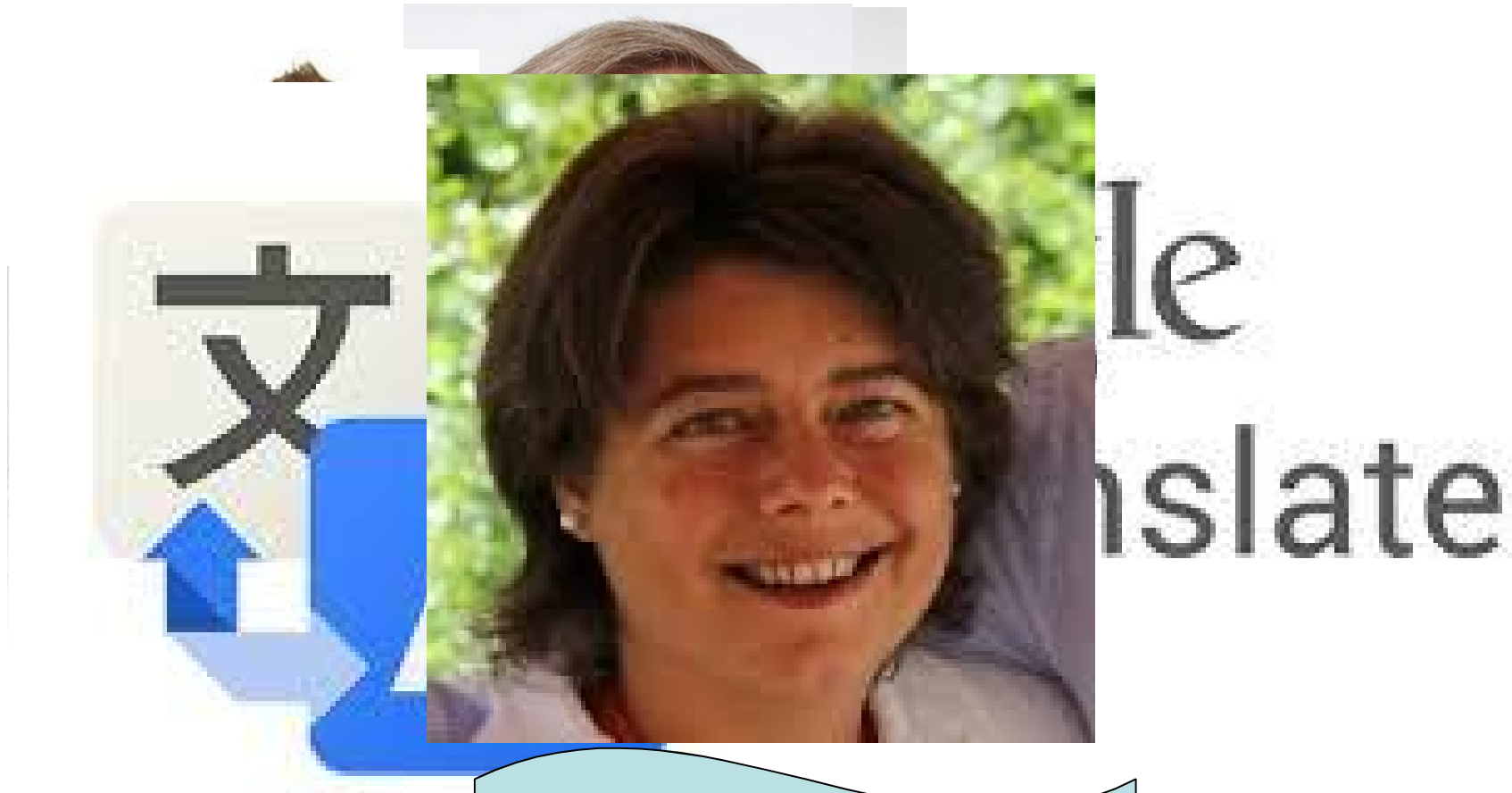
Données cliniques



Anatomo-pathologie



REMERCIEMENTS



ivichaux (Cytogenétique et
biologie moléculaire)

Dr. Brusselmans Caroline : une
promotrice en or! 😊

biologie moléculaire