

CAS CLINIQUE

LA CYTOLOGIE HÉMATOLOGIQUE DÉSUÈTE À L'HEURE DE LA BIOLOGIE MOLÉCULAIRE ET DE LA CYTOMÉTRIE EN FLUX ? ILLUSTRATION AU TRAVERS D'UN SYNDROME DE VEXAS

RULMONT J (1), TASSIN F (2), KEUTGENS A (2)

RÉSUMÉ : Le syndrome de VEXAS est une nouvelle entité, décrite comme pionnière d'une nouvelle classe de maladies hémato-inflammatoires. Au travers de cet article et sur base du premier cas mis en évidence au CHU de Liège, nous vous proposons une revue de la littérature ainsi qu'un aperçu des différentes techniques de laboratoire permettant le diagnostic de ce syndrome.

MOTS-CLÉS : VEXAS - Cytologie - Vacuoles

IS HEMATOLOGICAL CYTOLOGY OUTDATED AT THE AGE OF MOLECULAR BIOLOGY AND FLOW CYTOMETRY ?
REPORT OF A VEXAS SYNDROME CLINICAL CASE

SUMMARY : VEXAS syndrome is a new entity, described as the first one of a new class of hemato-inflammatory diseases. Through this article and based on the first case highlighted at the CHU of Liege, we offer you a review of the literature as well as an overview of different laboratory techniques used for the diagnosis of this syndrome.

KEYWORDS : VEXAS - Cytology - Vacuoles

INTRODUCTION

Le VEXAS est l'abréviation de «Vacuole; E1 enzyme; X-linked; Autoinflammatory; Somatic». En d'autres termes, il s'agit d'un syndrome hémato-inflammatoire causé par une mutation somatique sur le chromosome X du gène UBA1 des cellules hématopoïétiques. Ce gène code pour l'enzyme activatrice de l'ubiquitine 1, autrement appelée enzyme E1, responsable, comme son nom l'indique, de l'ubiquitination des protéines. Cette mutation somatique du gène UBA1 engendre la création d'isoformes inactives de l'enzyme «E1-activating», dont l'accumulation provoque, *de facto*, un stress cellulaire et est responsable de l'apoptose de la cellule et de la libération de médiateurs de l'inflammation. D'un point de vue systémique, ce syndrome se manifeste au travers d'une symptomatologie peu spécifique, touchant principalement les hommes, à un âge médian de 64 ans. En effet, des fièvres récurrentes d'étiologie indéterminée, des atteintes rhumatologiques, pulmonaires, dermatologiques et hématologiques sont fréquemment décrites. (1-3)

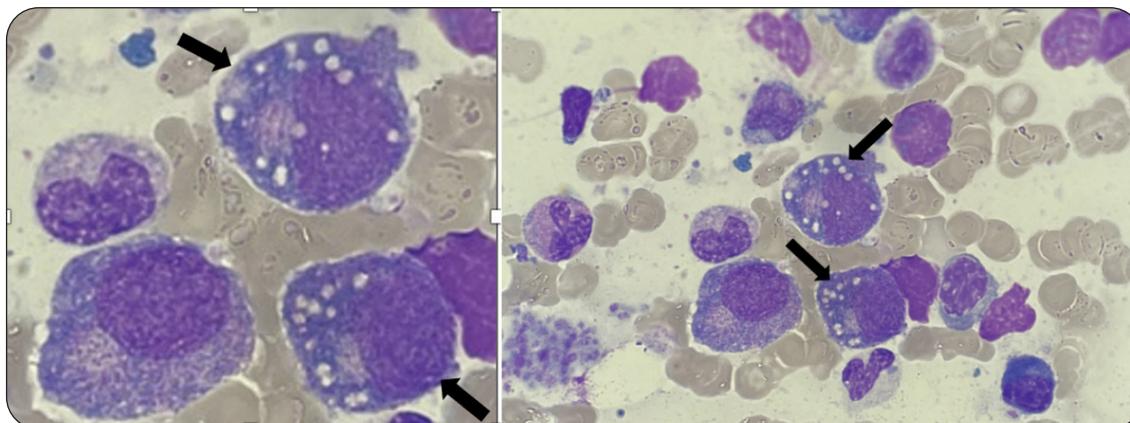
RAPPORT DE CAS

Pour la première fois au CHU de Liège, nous rapportons le cas d'un patient de 61 ans, avec

antécédent de sarcoïdose, se présentant en consultation dermatologique pour une dermatose des membres évoluant depuis 3 semaines de façon fluctuante. Ce tableau clinique est associé à un phénomène algique, notamment au niveau articulaire, ainsi qu'à de faibles pics fébriles. Une vascularite leucocytoclasique est le diagnostic retenu. Une corticothérapie systémique dégressive par Medrol® ainsi qu'un traitement par Plaquenil® sont alors introduits. Trois semaines après la mise en place de ce traitement, le patient se présente aux urgences pour céphalées persistantes et nouvelles éruptions cutanées se manifestant au niveau des mains. D'un point de vue biologique, une CRP supérieure à 300 mg/L (N : < 5 mg/L) ainsi qu'une diminution constante des trois lignées sanguines sont constatées. Après exclusion d'une potentielle cause infectieuse sous-jacente, diverses hypothèses sont retenues telles qu'une récurrence de sarcoïdose, une maladie auto-immune, une lymphopathie, ou encore, une néoplasie myélo-dysplasique. C'est dans ce contexte, face à une clinique peu spécifique et face à des examens complémentaires peu concluants, qu'une ponction de moelle est réalisée. L'analyse médullaire a permis la mise en évidence de troubles de maturation au niveau des lignées granulocytaires et érythrocytaires, présents dans plus de 10 % des éléments. Parmi ces troubles, de nombreuses vacuoles dans les formes les plus immatures ont été observées (Figure 1). Ces anomalies cytologiques, associées à l'état inflammatoire du patient, sont fortement suggestives d'un syndrome de VEXAS. Suite à cet examen médullaire, la mutation du gène UBA1

(1) Service de Biologie clinique, CHU Liège, Belgique.
(2) Service d'Hématologie biologique et Immuno-Hématologie, CHU Liège, Belgique.

Figure 1. Précurseurs myéloïdes vacuolisés chez un patient atteint d'un syndrome de VEXAS. Médullogramme, coloration May-Grünwald Giemsa, objectif 100x



a été recherchée et mise en évidence, permettant de conclure à un diagnostic de syndrome de VEXAS.

DISCUSSION

HISTORIQUE

En 2020, une approche génotypique a permis, pour la première fois, la caractérisation du syndrome de VEXAS par Beck et coll. (4). En effet, la mise en évidence préalable de liens entre des mutations génétiques impactant l'ubiquitine et certaines maladies auto-inflammatoires a permis d'orienter les chercheurs vers le séquençage d'exomes définis. Ce séquençage a été réalisé sur du sang périphérique de patients souffrant, pour la plupart, d'un syndrome inflammatoire ou d'une atteinte hématologique. Les résultats de cette étude ont permis la corrélation entre ce tableau clinique «hémato-inflammatoire» peu spécifique et une mutation somatique affectant une méthionine particulière du gène UBA1 des cellules des lignées myéloïde et érythroïde (4).

DESCRIPTION DE LA PATHOLOGIE

PHYSIOPATHOLOGIE

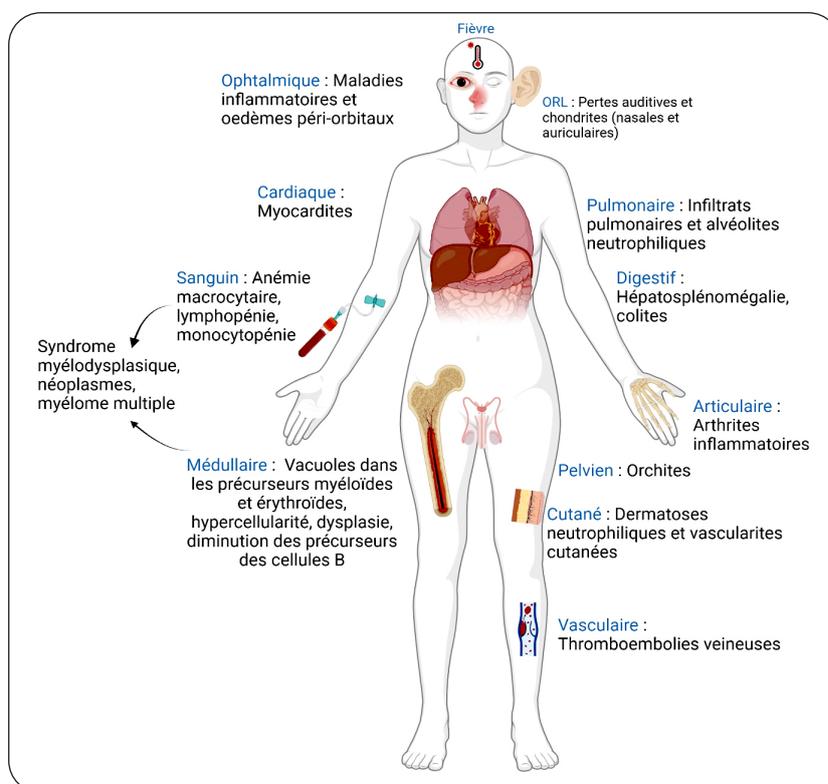
L'ubiquitination est une forme de modification post-traductionnelle impliquée dans la signalisation intracellulaire, en favorisant les interactions protéines – protéines, ainsi que dans la dégradation des protéines par le protéasome ou par les lysosomes. Il s'agit d'un processus

complexe impliquant trois phases principales, faisant intervenir 3 enzymes distinctes. Ces enzymes ont pour but, *in fine*, de lier l'ubiquitine aux protéines désignées. Elles sont respectivement nommées «E1-activating», «E2-conjugating» et «E3-ligase». Comme le désigne leur nom, E1 permet l'activation du cycle d'ubiquitination, E2 et E3 permettent respectivement la conjugaison et la liaison des ubiquitines aux protéines. Lorsqu'une mutation survient au niveau d'une méthionine spécifique du gène UBA1, cela engendre la synthèse d'une isoforme inactive de l'enzyme E1 ayant pour conséquence un dérèglement de ce système de signalisation intracellulaire ainsi qu'une accumulation de ces enzymes mutées non fonctionnelles et la nécessité de les éliminer. Cette accumulation et cette élimination engendrent un stress cellulaire conduisant à la libération de cytokines extracellulaires ainsi qu'à l'apoptose (1, 4).

MANIFESTATIONS CLINIQUES

Le syndrome de VEXAS est responsable de la production d'un large panel de symptômes inflammatoires, associés généralement à une fièvre d'origine non déterminée. Différents types de manifestations sont décrites telles que des atteintes hématologiques, détaillées ci-dessous, des atteintes dermatologiques mettant en évidence des vascularites, des dermatoses neutrophiliques et des éruptions cutanées diverses. Des atteintes rhumatologiques rapportent des arthrites. Au niveau ORL, des chondrites nasales et auriculaires ainsi que des pertes auditives sont mentionnées. De manière moins systémique, sont également décrits des colites,

Figure 2. Illustration des différentes manifestations cliniques possiblement retrouvées lors d'un syndrome de VEXAS



des infiltrations pulmonaires, des orchites, des myocardites, des atteintes ophtalmiques de type inflammatoires ainsi que des oedèmes péri-orbitaux (Figure 2) (1, 2, 4).

DIAGNOSTIC

ASPECT GÉNÉTIQUE

L'analyse de référence permettant le diagnostic d'un syndrome de VEXAS est le séquençage du gène UBA1. Ce séquençage permet la mise en évidence de mutations potentielles du gène, connues pour être responsables de ce syndrome, au sein des cellules myéloïdes et érythroïdes.

Deux mutations sont actuellement décrites, celles-ci touchent toutes deux une méthionine, située, soit en position 1 et induisant une isoforme nucléaire, soit en position 41 (principalement décrite et retrouvée) induisant une isoforme cytoplasmique. La caractérisation précise de la mutation semble aussi avoir toute son importance puisque le pronostic vital des patients impactés semble être également déterminé par

le type de substitution. En effet, la substitution de p.Met41 par une valine semble être associée à un risque de mortalité (50 %) beaucoup plus élevé que pour les variants leucine (18 %) et thréonine (22 %). La détermination précise de la mutation pourrait donc, à l'avenir, devenir un facteur indicatif dans la prise en charge clinique du patient (1).

Il est également important d'appuyer le fait que la mutation n'est pas retrouvée au sein des lymphocytes matures ni des fibroblastes. Ceci se justifierait par l'absence de viabilité des lymphocytes présentant cette mutation (4).

Au CHU de Liège, l'analyse est réalisée dans le service du Professeur Vincent Bours, par NGS, sur moelle, à l'aide du kit «MYS Solution» permettant la recherche de mutations dans des gènes impliqués dans les pathologies myéloïdes.

ASPECT HÉMATOLOGIQUE

L'hémogramme est peu caractéristique. Une anémie macrocytaire est généralement retrouvée ainsi qu'une thrombopénie. De plus, le

VEXAS impactant directement la lignée myéloïde, il est parfois possible d'observer, au niveau sanguin, des précurseurs granulocytaires immatures, des neutrophiles et monocytes vacuolés, ainsi que des neutrophiles hyposegmentaires ou hypogranulaires, voire même, des cytopénies progressives (1-3, 5).

L'aspect cytologique au niveau médullaire est, quant à lui, beaucoup plus révélateur puisque des vacuoles, de taille significative, sont observées au niveau des précurseurs myéloïdes et érythroïdes chez tous les patients atteints de ce syndrome (Figure 1). Ces vacuoles ne sont pas pathognomoniques puisqu'elles peuvent être retrouvées dans d'autres contextes comme chez les personnes éthyliques, carencées en cuivre ou présentant un excès de zinc et lors de syndrome myélodysplasique. Cependant, celles-ci sont cliniquement indicatives lorsqu'elles sont associées à un tableau inflammatoire et orientent vers des tests génétiques spécifiques permettant la mise en évidence du syndrome. Une hypercellularité médullaire est, également, fréquemment décrite (1-3, 5).

En outre, il convient d'être vigilant, chez les patients atteints du VEXAS, au risque d'évolution vers une dysplasie ou une insuffisance médullaire ainsi que vers d'autres types d'hémopathies malignes (néoplasies myélodysplasiques, myélome multiple), favorisées par la présence d'un environnement inflammatoire au niveau de la moelle. De plus, une augmentation du risque thromboembolique est également à souligner. Un suivi hématologique rigoureux, inclus dans une prise en charge multisystémique, s'avère donc absolument nécessaire (1, 3, 5, 6).

PRISE EN CHARGE ET TRAITEMENT

L'association d'atteintes hématologiques et inflammatoires ainsi que l'absence de directives thérapeutiques claires compliquent la prise en charge d'un syndrome de VEXAS. La seule option curative actuellement disponible est la greffe de cellules souches, avec les risques que celle-ci comporte.

D'un point de vue symptomatique, il est possible de modifier l'aspect inflammatoire en administrant des corticoïdes (avec les effets indésirables qui leurs sont associés lors d'usage prolongé et dont l'efficacité n'est que sporadiquement démontrée dans le cadre de cette pathologie). Certains anticorps monoclonaux sont également en cours d'évaluation, notamment les anti-IL6 ou les inhibiteurs de JAK-2. L'aspect hématologique, quant à lui, consiste en l'administration de thérapies permettant l'éradication des cellules mutées. Notons également

que certains de ces patients deviennent dépendants à la transfusion (5).

ÉTUDE RÉTROSPECTIVE ET SENSIBILISATION DES CLINICIENS

Le VEXAS étant un syndrome récemment caractérisé, des études rétrospectives à large échelle sont actuellement entreprises afin d'établir la réelle prévalence de la maladie dans la population générale. L'objectif est de dépister le mieux possible les personnes atteintes afin qu'elles puissent être prises en charge avec les meilleurs moyens actuels.

Dès lors, il serait souhaitable que les cliniciens interpellés par ce syndrome réalisent, à leur propre échelle, une révision rétrospective au sein de leur patientèle dans le but de déceler de potentielles erreurs diagnostiques, liées au manque de connaissance de la pathologie avant l'année 2020, ainsi que chez les patients en errance thérapeutique dont le tableau clinique satisfait aux caractéristiques d'un VEXAS. Une analyse génétique et médullaire pourrait alors être demandée.

IMPORTANCE DE LA CYTOLOGIE DANS CERTAINS DIAGNOSTICS

Les avancées technologiques (tels le séquençage génétique, la cytométrie en flux,...) et l'automatisation toujours croissante des techniques analytiques en 2023, remettent parfois en perspective la plus-value de l'humain dans le rendu des résultats de laboratoire. Cependant, ce cas clinique de cytopathologie nous rappelle à tous, à l'époque actuelle, l'importance du cytologiste, de son regard avisé et de son expertise. En effet, c'est l'aspect vacuolisé des précurseurs myéloïdes lors de l'examen médullaire qui a permis l'orientation vers des tests génétiques.

Plus globalement, d'autres types d'anomalies cytoplasmiques pathognomoniques peuvent être mises en évidence au travers de l'examen microscopique. Parmi celles-ci, et à titre illustratif, nous pouvons citer ce qui suit.

LES CORPS D'AUER

Les corps d'Auer sont des inclusions cytoplasmiques en forme de fins bâtonnets rouges, originaires de la fusion de granulations azurophiles. Ils sont considérés comme des marqueurs morphologiques fortement évocateurs de la leucémie aiguë promyélocytaire avec fusion PML : RARA (des gènes éponymes impliqués dans la pathologie), et anciennement nommée LMA de type 3, selon la classification FAB. Dans cette pathologie, les corps d'Auer sont observables

Figure 3. Promyélocytes tumoraux avec fagots de corps d'Auer dans la LMA avec fusion PML :: RARA. Médullogramme, coloration May-Grünwald Giemsa, objectif 100x

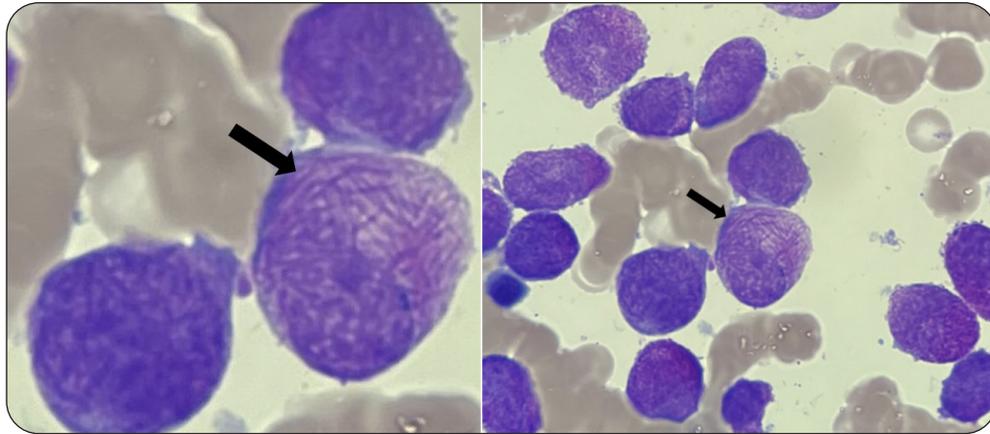
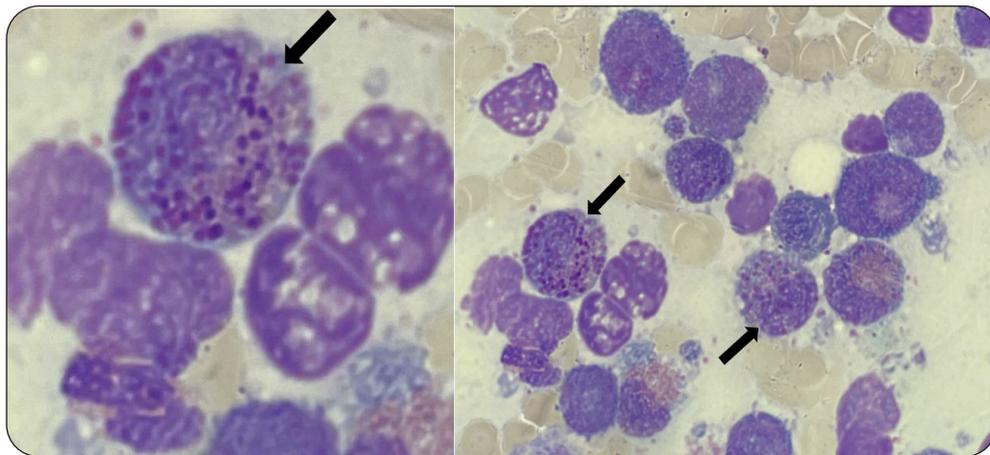


Figure 4. Éosinophiles présentant des granulations pourpres atypiques dans la LMA avec fusion CBFb :: MYH11. Médullogramme, coloration May-Grünwald Giemsa, objectif 100x



au niveau des promyélocytes anormaux sous forme individuelle et de fagot. Ces observations permettent une orientation diagnostique rapide et précieuse dans l'attente des tests génétiques et d'immunophénotypage (Figure 3). En effet, le risque élevé de coagulation intravasculaire disséminée associé à cette pathologie met en jeu le pronostic vital des patients et nécessite une prise en charge immédiate.

Les corps d'Auer peuvent également intervenir dans le suivi de la pathologie puisque leur présence, post-traitement, au niveau blastique, signe une absence de rémission.

Dans ce contexte, l'intégration de la cytologie médullaire avec les données cliniques et les

autres résultats de laboratoire joue un rôle clé dans l'établissement du diagnostic (7).

LES GRANULATIONS POURPRES ATYPIQUES DES ÉOSINOPHILES

La leucémie aiguë myélocytaire avec fusion CBFb :: MYH11 (inv(16)) est caractérisée par une hyperéosinophilie médullaire (> à 5 %) présentant des granulations pourpres anormales (Figure 4). À cet aspect morphopathologique s'associe généralement un trouble de la condensation de la chromatine ainsi qu'une segmentation anormale du noyau. Au niveau sanguin, une diminution, voire une absence des éosinophiles circulants, est généralement observée. La cytogénétique reste, certes, déterminante au

diagnostic mais ces images cellulaires révélatrices et singulières constituent une première ligne d'information et ne peuvent être exclues du raisonnement clinique (8).

CONCLUSION

Le VEXAS constitue une nouvelle entité pionnière dans le domaine des maladies hémato-inflammatoires. Comme toute découverte récente, une sensibilisation des cliniciens est nécessaire à l'établissement de nouveaux diagnostics ou à leur révision. En outre, cette pathologie, nécessitant une prise en charge multidisciplinaire, constitue un exemple illustratif idéal de l'importance de l'intégration des résultats de laboratoires, au cœur desquels la cytologie revêt toute son importance.

En effet, à l'époque actuelle où les avancées technologiques (biologie moléculaire, immunophénotypage, etc.) semblent occuper une place dominante dans le rendu des analyses de laboratoires, l'examen microscopique parvient encore à se démarquer, certes, par l'obtention d'image caractéristique et inédite, mais également par sa rapidité d'exécution, jusqu'ici inégalée par les techniques «plus modernes». Le microscope n'est donc pas prêt de devenir un objet désuet de sitôt et semble encore avoir de beaux jours devant lui.

BIBLIOGRAPHIE

1. Wautier S, Houssiau H, Straetmans N. VEXAS : une nouvelle entité au carrefour de la rhumatologie et de l'hématologie. *Louv Med* 2022;**141**:207-11.
2. Stubbins RJ, Cherniawsky H, Chen LY, et al. Innovations in genomics for undiagnosed diseases: vacuoles, E1 enzyme, X-linked, autoinflammatory, somatic (VEXAS) syndrome. *CMAJ* 2022;**194**:E1179-83.
3. Patel N, Dulau-Florea A, Calvo KR. Characteristic bone marrow findings in patients with UBA1 somatic mutations and VEXAS syndrome. *Semin Hematol* 2021;**58**:204-11.
4. Beck DB, Ferrada MA, Sikora KA, et al. Somatic mutations in UBA1 and severe adult-onset auto-inflammatory disease. *N Engl J Med* 2020;**383**:2628-38.
5. Al-Hakim A, Savic S. An update on VEXAS syndrome. *Expert Rev Clin Immunol* 2023;**19**:203-15.
6. Cherniawsky H, Friedmann J, Nicolson H, et al. VEXAS syndrome: a review of bone marrow aspirate and biopsies reporting myeloid and erythroid precursor vacuolation. *Eur J Haematol* 2023;**110**:633-8.
7. Rieu JB. Leucémies aiguës myéloïdes. Dans: *Cytologie des hémopathies malignes : anomalies sanguines et médullaires*. 5^{ème} ed. Arcueil: John Libbey Eurotext;2021. p 63-4.
8. Rieu JB. Leucémies aiguës myéloïdes. Dans: *Cytologie des hémopathies malignes : anomalies sanguines et médullaires*. 5^{ème} ed. Arcueil: John Libbey Eurotext;2021. p 71-2.

Les demandes de tirés à part doivent être adressées au Dr Rulmont J, Service de Biologie clinique, CHU Liège, Belgique.

Email : juliette.rulmont@chuliege.be