

**Quelques données récentes
concernant les
Thrombocythémies
essentielles.**

Jean Brière

Mai 2008

A: Bases génétiques des Syndromes myéloprolifératifs

I: Concepts fondateurs

- **1951** William Dameshek: some speculations on the myéloproliférative disorders (MPD). Editorial Blood.
- **1974** Prchal JF Axelrad AA: Pousse «spontanée» des progéniteurs érythrocytaires dans la maladie de Vaquez (PV). Lettre NEJM.
- **1976** Adamson JW Fialkow PJ et al: Stem cell and probable clonal origin of the disease. NEJM.

I: Concepts fondateurs (1)

1951 Editorial Blood. William Dameshek

- Leucémie myéloïde chronique (LMC).
- Maladie de Vaquez (PV).
- Splénomégalie myéloïde (MMM, IMF, PMF).
- Leucémie à mégacaryocytes.
- Erythroleucémie.

en commun

1. *manifestations de l'activité proliférative de la moelle*
2. *peut être dues à un stimulus inconnu jusque là*

I: Concepts fondateurs (2)

- **1974** Lettre NEJM. Prchal JF Axelrad AA:
Dans la maladie de Vaquez (PV), la pousse de colonie de progéniteurs érythrocytaires peut être obtenue sans addition d'érythropoïétine (EEC).
 1. Elimine rôle de taux élevés de facteurs de croissance.
 2. Les progéniteurs hématopoïétiques sont doués d'un potentiel de croissance anormal endogène.**Avantage de prolifération**
- La présence d'une EEC est retrouvée dans 29%-69% des TE et une proportion importante de PMF

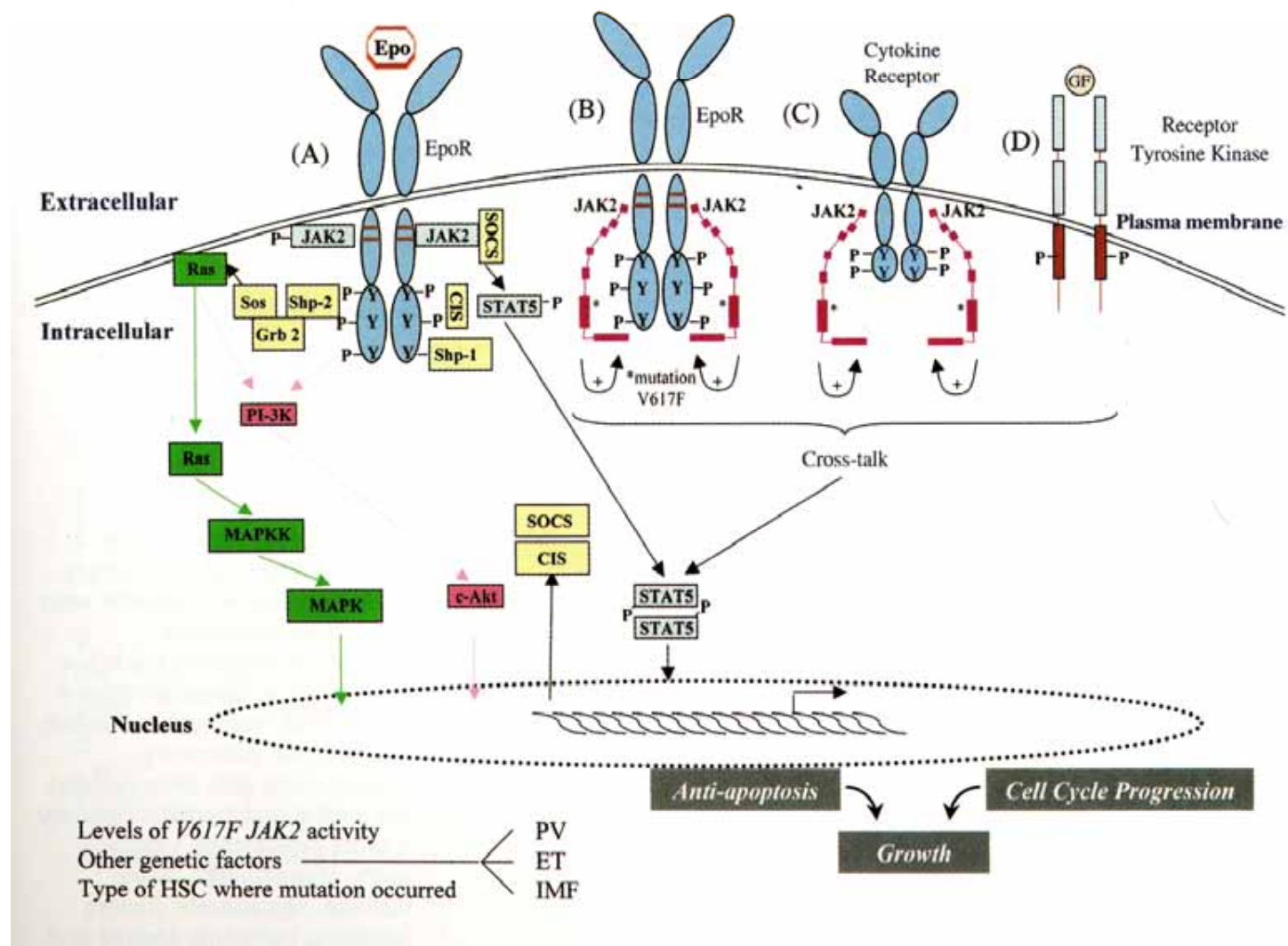
Problème de non coïncidence entre phénotype et marqueur biologique

I: Concepts fondateurs (3)

1976 Adamson JW Fialkow PJ et al:

Avantage compétitif de prolifération:

- ***Origine dans une cellule souche multipotente unique (myéloïde et lymphoïde au moins B).***
- ***Expansion clonale.***
 - ***Femmes hétérozygotes pour G6PD***
 - ***Inactivation de gènes polymorphes liés au chromosome X (méthylation).***
 - ***Marqueurs directs du clone chr Ph1, BCR/ABL, JAK2v617F, MPLW515K/L***



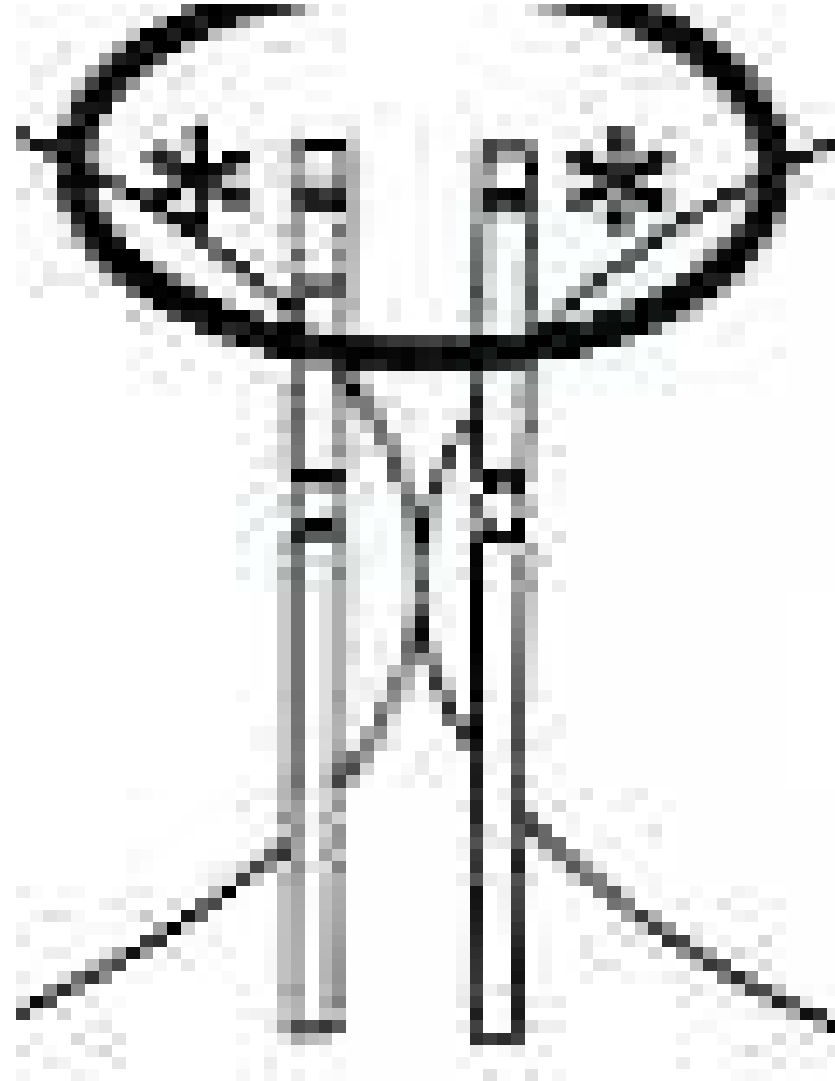
La mutation V617F de JAK2

2005

- William Vainchenker: sensibilité des progéniteurs érythrocytaires de PV (EEC) aux inhibiteurs de de kinases
→ JAK2 (tyrosine kinase).

Gary Gilliland and Tony Green: séquençage des gènes à activité kinase du DNA génomique des PV.

Kralovics et Skoda: séquençage de la zone commune minimale de DNA des PV ayant une perte d'hétérozygotie du bras court du chromosome 9 (9pLOH).



La mutation V617F de JAK2

2005

- William Vainchenker: sensibilité des progéniteurs érythrocytaires de PV (EEC) aux inhibiteurs de de kinases
→ JAK2 (tyrosine kinase).

Gary Gilliland and Tony Green: séquençage des gènes à activité kinase du DNA génomique des PV.

Kralovics et Skoda: séquençage de la zone commune minimale de DNA des PV ayant une perte d'hétérozygotie du bras court du chromosome 9 (9pLOH).

Mutation V617F de JAK2 et pathogénie des SMP

- Domaine pseudokinase de JAK2 exerçant un effet négatif sur l'activité tyrosine kinase de JAK2.
- Les cellules mutées se comportent comme ayant une activité tyrosine kinase permanente (constitutive) ou hypersensible aux signaux stimulateurs.
 - Pousse spontanée des progéniteurs érythrocytaires.
 - Avantage de prolifération

Fréquence de la mutation JAK2 dans PV ET MF

	James (France)		Levine USA Belgique Allemagne		Kralovic Suisse Italie		Baxter Royaume Uni	
	N	V617f	N	V617f	N	V617f	N	V617f
PV	45	88%	164	74%	128	65%	3	73-97%
ET	21	43%	115	32%	93	23%	51	12-57%
IMF	8	43%	46	35%	23	57%	16	44-50%

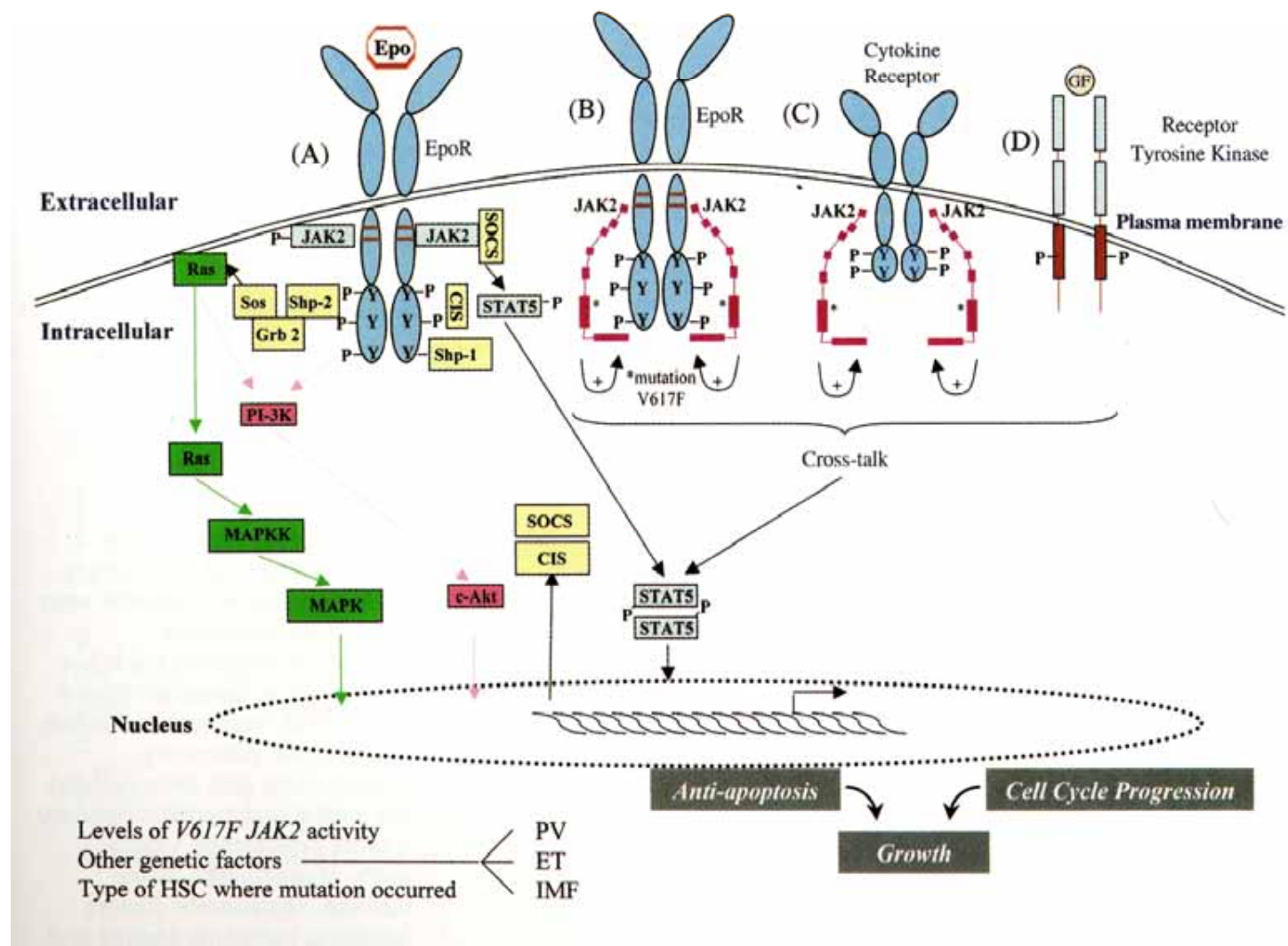
Hétérozygotie

- Chromosome 9



Fréquence relative de l'hétérozygotie et de l'homozygotie pour JAK2 des PV ET MF

	Levine	Kralovic	Jones
PV	N=164	N=128	N=72
V617F positif	74%	65%	81%
hétérozygote	49%	38%	47%
homozygote	25%	27%	33%
ET	N=115	N=93	N=59
V617F positif	32%	23%	41%
hétérozygote	29%	19%	34%
homozygote	3%	3%	7%
PMF	N=46	N=32	N=35
V617F positif	35%	57%	43%
hétérozygote	26%	35%	14%
homozygote	9%	22%	29%

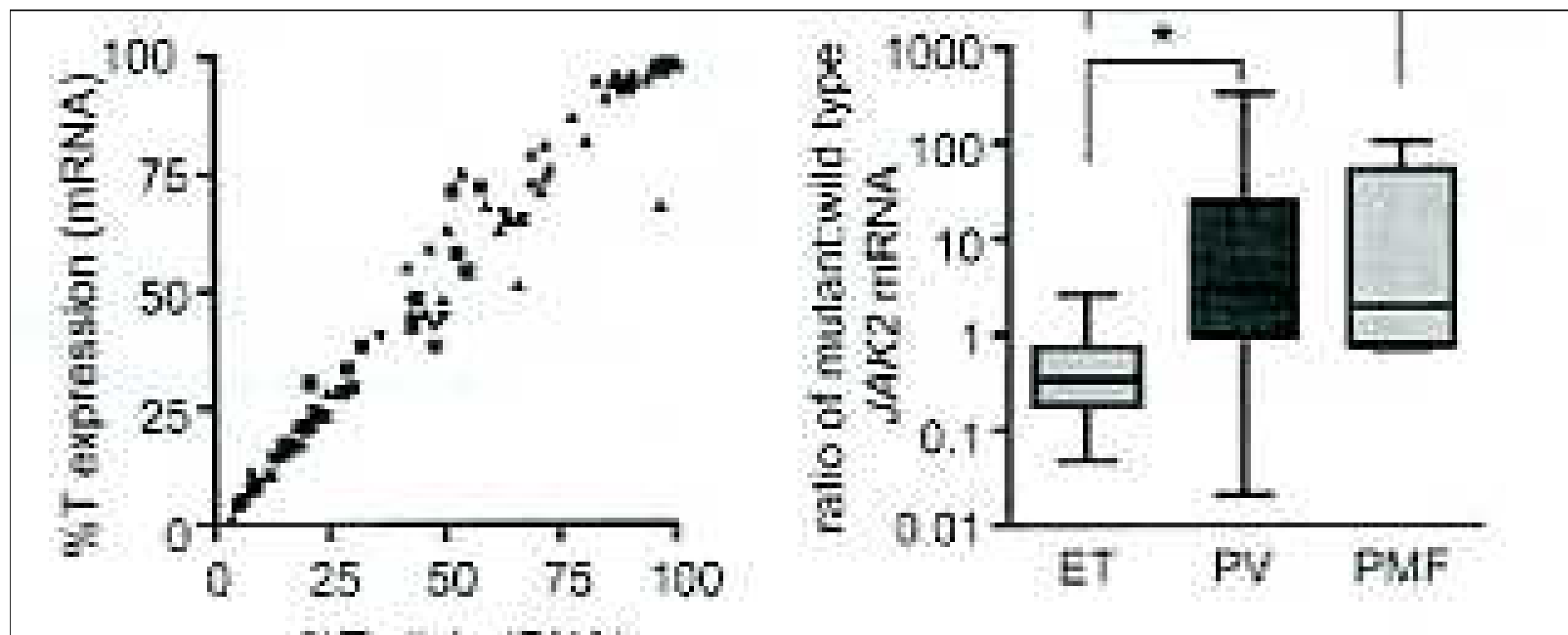


Transplantation de cellules médullaires ayant subie une transduction rétrovirale de JAK2V617F chez la souris après irradiation léthale

- Phénotype de PV
- Degré variable de fibrose.
- Pas d'hyperplaquettose.

Le rapport JAK2V617F/JAK2WT (non muté) détermine
le phénotype de la souris transgénique

- Expression de JAK2V617F < JAK2WT:
 - Phénotype de TE:
 - Chiffre de plaquettes très élevé.
 - Neutrophilie modérée.
 - Hb normale.
- Expression de JAK2V617F sensiblement égale à JAK2WT:
 - Phénotype proche de PV
 - Augmentation Hb; thrombocytose, neutrophilie.
- Expression de JAK2V617F > JAK2WT:
 - Phénotype de PV
 - Sans thrombocytose



Mutation exon 12 de JAK2

- Quelques cas de mutations de l'exon 12 de JAK2 portant sur des nucléotides variables à proximité du codon 539
- Observés chez de PV négatives pour la mutation V617F de JAK2.
- (Patients se présentant plus volontiers sous la forme d'érythrocytoses pures).

Mutation MPLW515L/K

- Décrite initialement chez 10% des IMF et 2% des ET JAK2WT.
- Induisant
 - Une pousse indépendante de la présence de facteurs de croissance
 - Et une stimulation permanente des protéines de transmission du signal (STAT3; MAP kinase et PI3K).
- Provoquent chez les souris receveuses un syndrome myéloprolifératif avec:
 - Hyperplaquettose et hyperplasie mégacaryocytaire
 - Myélofibrose réticulinique et
 - Hématopoïèse extramédullaire.
- Les mutations d JAK2 et MPLW515L/K peuvent coexister

Fréquence des mutation de JAK2
 éxons 14 et 12
 et de MPLW515L

	PV	ET	IMF	Hyper Plaquetose s seconaire s	
JAK2V617F	90-95%	50-70%	40-50%	0%	
MPLW515 K/		2 - 4.7%	10%	0%	
JAK2V617F et MPLW515 K/L		possible	possible	0%	
JAK2 exon 12	rare			0%	

Distribution de JAK2V617F et des autres mutation dans les cellules de l'hématopoïèse

- Cellules souches hématopoïétiques
 - Myéloïdes et parfois lymphoïdes.
- Pas de différence de distribution selon le type de SMP
- La détection de la mutation par méthode sensible (allèle-spécific PCR) est actuellement la méthode la plus simple de détection d'une expansion clonale de l'hématopoïèse.
- Les TE ne portant pas la mutation peuvent aussi avoir une expansion clonale de l'hématopoïèse.

Ces mutations expliquent-elle la
totalité des phénomènes
observés au cours des SMP?

Natural clinical course of disease progression

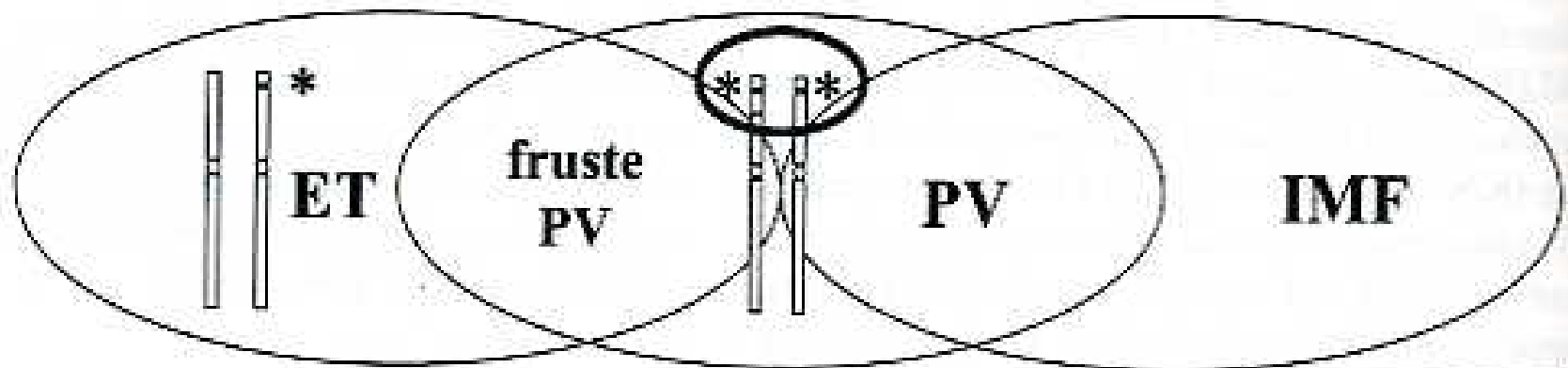
Severity of the disease

Scarcity of the disease

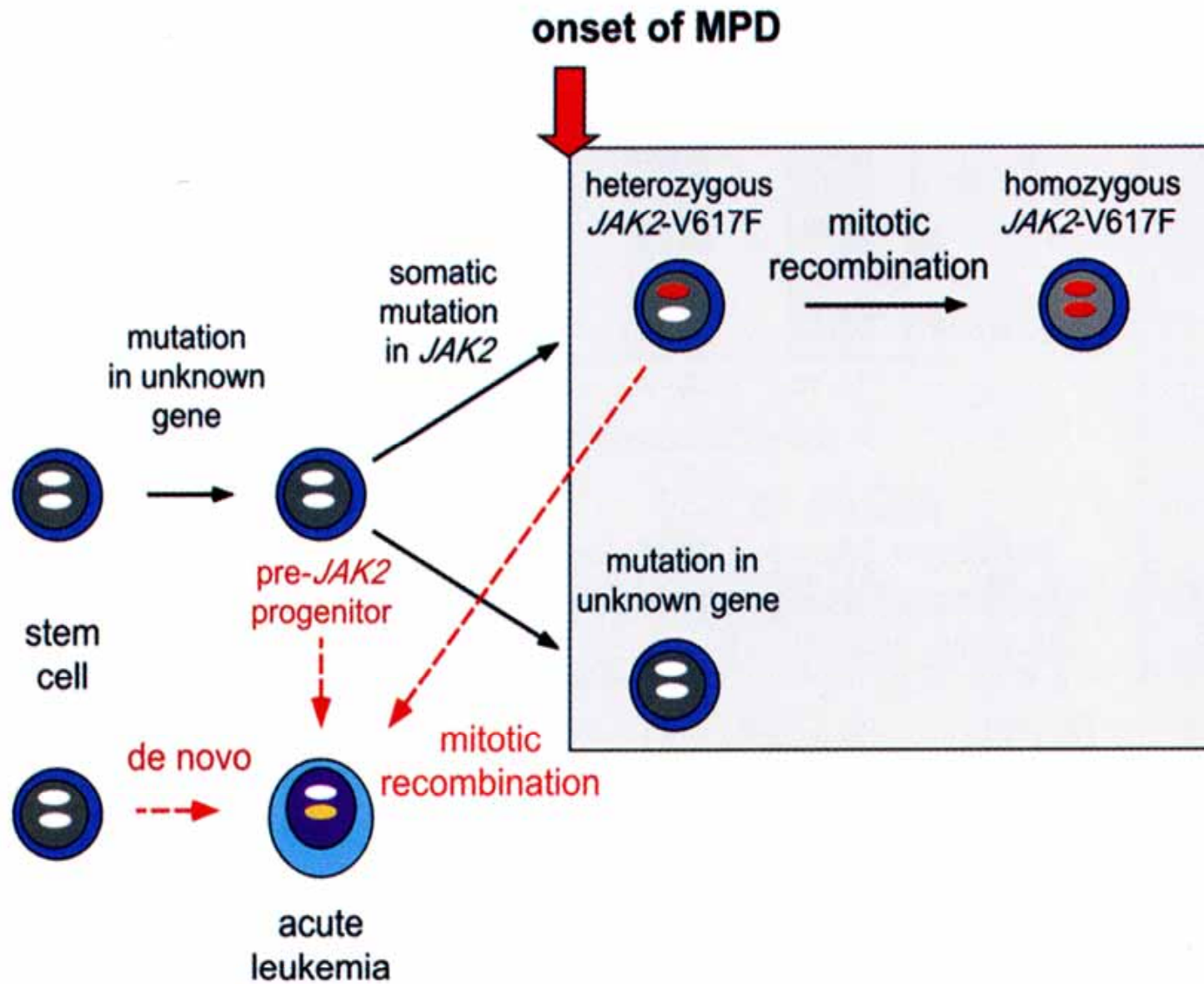
First event
JAK2V617F

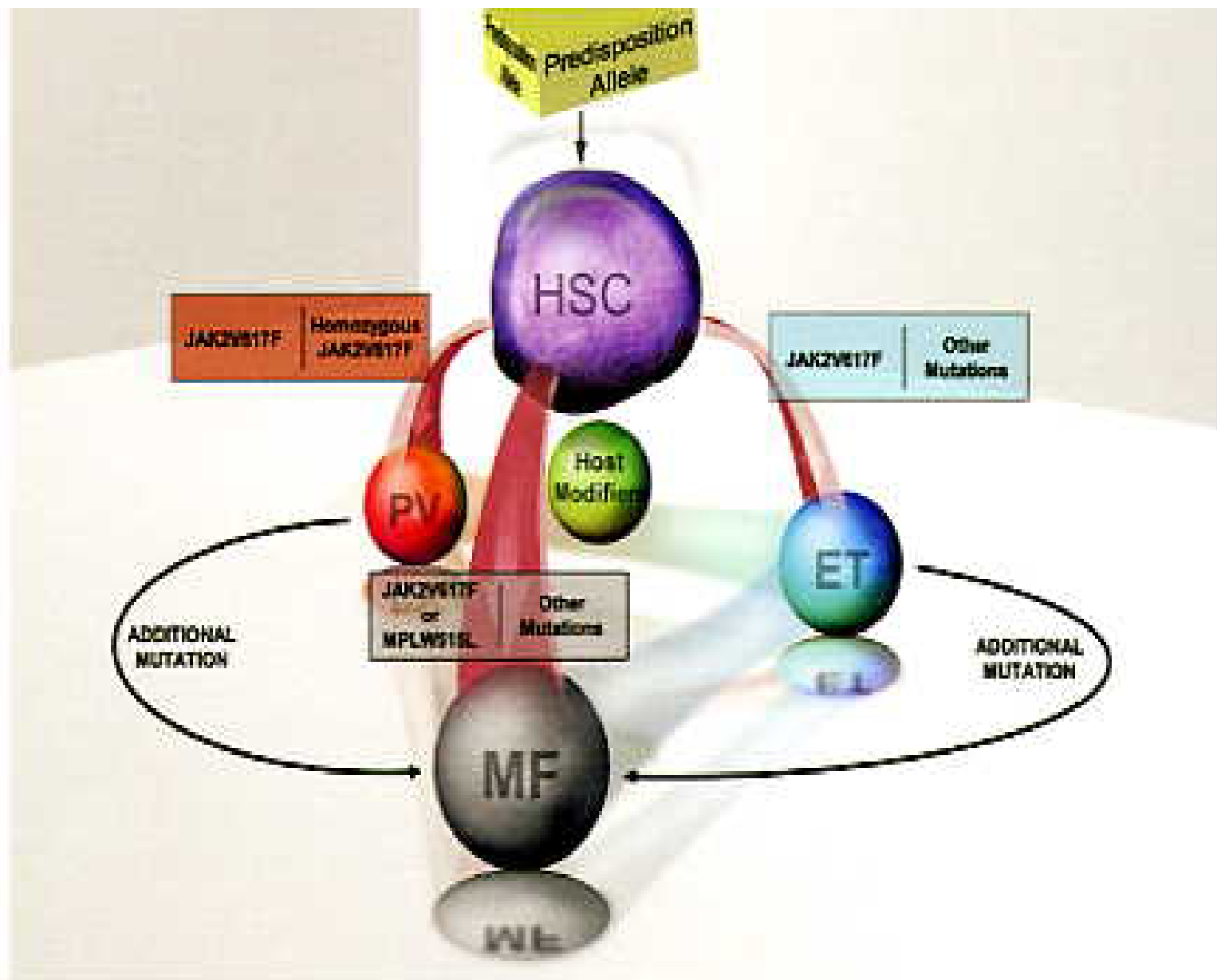
Second event
Gain of 9p or others

Initiating
event ?



JAK/Stat kinase activity





SMP sporadiques / Cas familiaux

Cas familiaux ressemblants à un SMP

- Transmission familiale mendélienne / forte pénétrance
 1. 1 seule lignée.
 2. Hématopoïèse polyclonale.

Cas sporadique

- Absence d'autres cas familiaux
 1. Origine dans une cellule souche multipotente.
 2. Hématopoïèse monoclonale.

Prédisposition familiale à la survenue d'un SMP vrai.

- Hématopoïèse monoclonale
- Présence fréquente mais non constante de mutation

Plusieurs cas dans la famille sur plusieurs générations/ pénétrance faible.

Hyperplaquettoses familiales

- **Thrombocytémie héréditaire ou thrombocytose familiale.**

1) Mutation activante du gène de la thrombopoïétine (TPO ou THPO).

TPO augmentée

Evolution bénigne

Jamais de transformation

Mutation jamais retrouvée dans formes sporadiques.

2) Mutation de MPL (récepteur de TPO ou TPOR)

position 505 MPLS505N.

4 familles

Jamais retrouvé dans formes sporadiques

La plupart des TE familiales sont de mécanisme (moléculaire) inconnu.

SMP sporadiques / Cas familiaux

Cas familiaux ressemblants à un SMP

- Transmission familiale mendélienne / forte pénétrance
 1. 1 seule lignée.
 2. Hématopoïèse polyclonale.

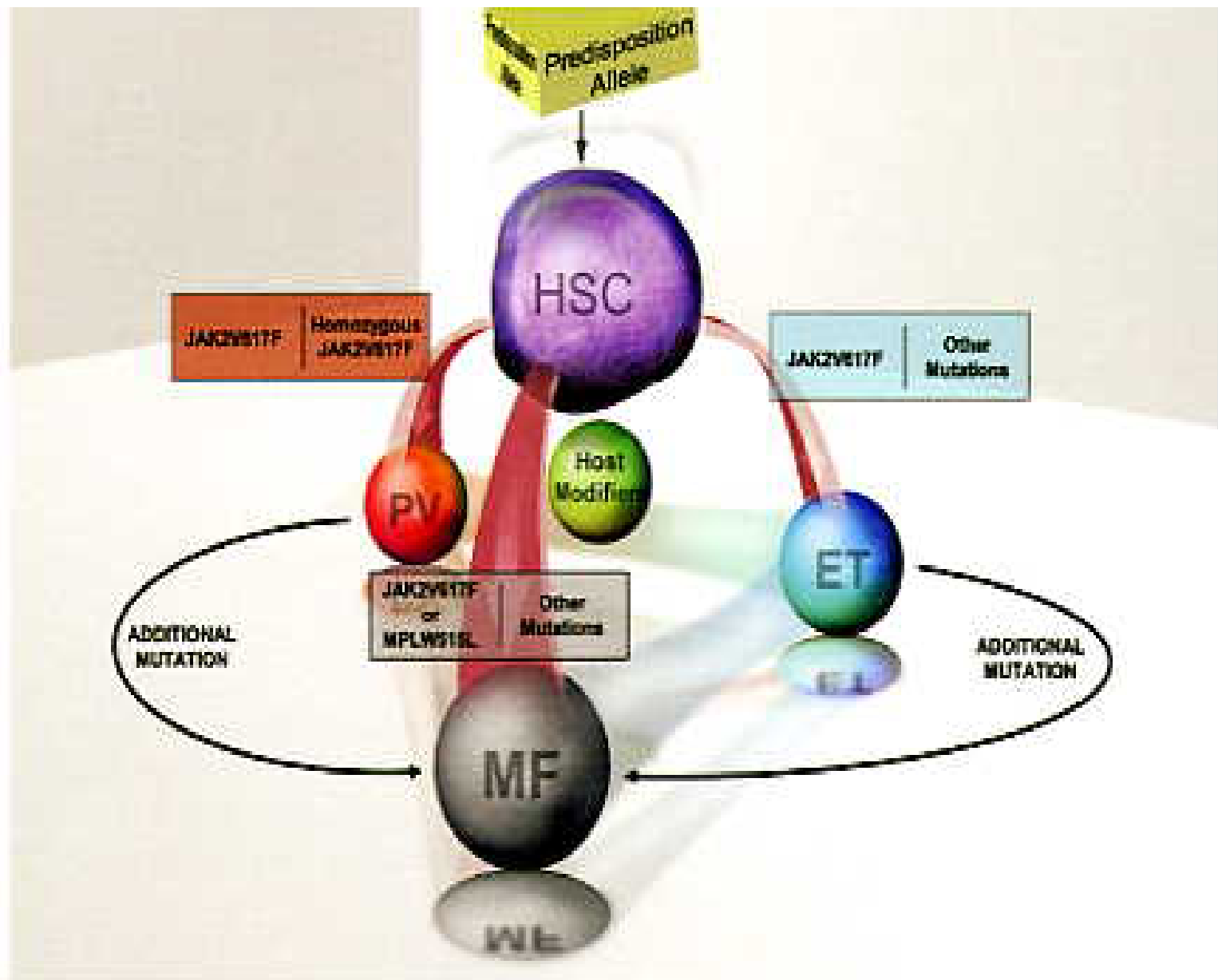
Cas sporadique

- Absence d'autres cas familiaux
 1. Origine dans une cellule souche multipotente.
 2. Hématopoïèse monoclonale.

Prédisposition familiale à la survenue d'un SMP vrai.

- Hématopoïèse monoclonale
- Présence fréquente mais non constante de mutation

Plusieurs cas dans la famille sur plusieurs générations/ pénétrance faible.



B:Diagnostic de TE

Chapitre I

Les critères du PVSG

**Diagnostic par élimination basé
sur des critères Phénotypiques .**

CRITERES DIAGNOSTIQUES DU PVSG.

Mise à jour Janvier 1997(3).

1. Nombre de plaquettes > 600.000/ μ L.
2. Hématocrite < 40%, ou Volume globulaire isotopique normal (<36 mL/kg chez l'homme ; <32 mL/kg chez la femme) (voir aussi Pearson TC BJH 1995; 89: 748-756).
3. Présence de fer à la coloration Perls dans la moelle ou ferritine normale ou Volume globulaire moyen érythrocytaire normal.
4. Absence de chromosome Philadelphie ou de réarrangement du gène bcr/abl.
5. Fibrose collagène de la moelle :
 A/ absente ou
 B/ <1/3 de la surface de la biopsie,
 sans splénomégalie ni érythro-myélémie importantes.
6. Absence d'anomalies morphologiques cellulaires ou cytogénétiques en faveur d'un syndrome myélodysplasique
7. Absence de cause de thrombocytose réactionnelle.

CRITERES DIAGNOSTIQUES DU PVSG.

Mise à jour Janvier 1997(3).

1. Nombre de plaquettes > 600.000/ μ L.
2. Hématocrite < 40%, ou Volume globulaire isotopique normal (<36 mL/kg chez l'homme ; <32 mL/kg chez la femme) (voir aussi PearsonTC BJH 1995; 89: 748-756).
3. Présence de fer à la coloration Perls dans la moelle ou ferritine normale ou Volume globulaire moyen érythrocytaire normal.
4. Absence de chromosome Philadelphie ou de réarrangement du gène bcr/abl.
5. Fibrose collagène de la moelle :
 A/ absente ou
 B/ <1/3 de la surface de la biopsie,
 sans splénomégalie ni érythro-myélémie importantes.
6. Absence d'anomalies morphologiques cellulaires ou cytogénétiques en faveur d'un syndrome myélodysplasique
7. Absence de cause de thrombocytose réactionnelle.

Diagnostic de TE

Les critères du PVSG ont figé le phénotype des SMP Ph – pour les 30 années suivantes

PV : Volume globulaire isotopique > 125% N.

IMF: Fibrose médullaire (collagène ou réticuline)

Métaplasie myéloïde (rate, myélémie)

TE : Elimination PV et IMF

Diagnostic de TE

Chapitre II

Les nouvelles approches

- OMS 2001 (importance de la biopsie médullaire).
- OMS 2008 (introduction des marqueurs génétiques).

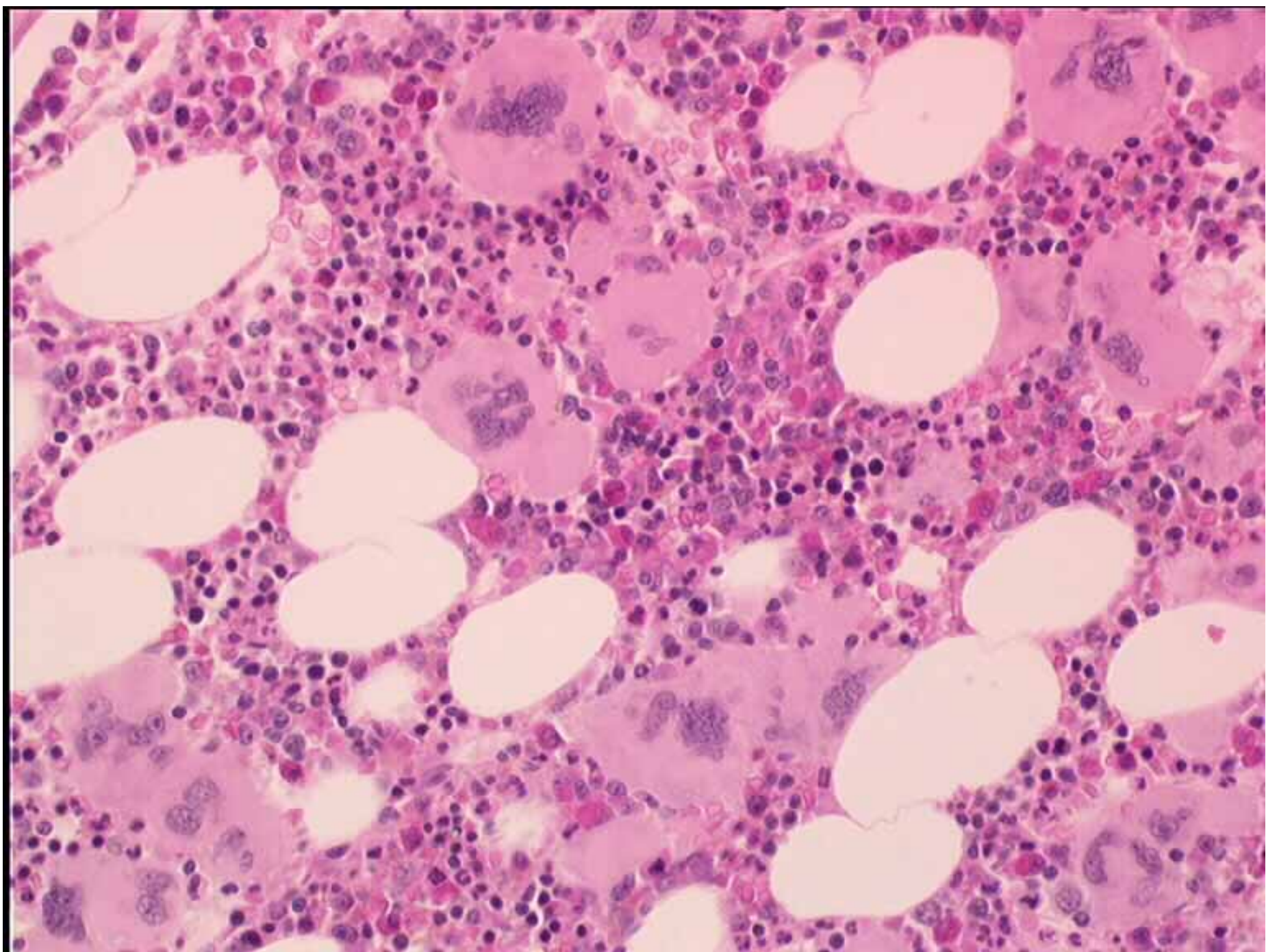
TTHROMBOCYTEMIE ESSENTIELLE
CCRITERES DIAGNOSTIQUES OMS 2001
Ccritères diagnostiques positifs

1. Nombre de plaquettes supérieur à $600 \times 10^9/L$

2. BM montrant une prolifération prédominant sur la lignée mégacaryocytaire

aavec augmentation du nombre d'éléments matures et de grande taille groupés en amas .





Critères d'exclusion(suite)

4.Absence de syndrome myélodysplasique :

- Absence de délétion du bras long du chromosome 5 del(5q) ; de translocation t(3 ;3) (q21;q26) ; d'inversion du chromosome 3 inv(3)(q21q26).
- Absence de dysplasie granuleuse significative, absence de ou très rares micromégacaryocytes.

5.Absence d'argument pour une thrombocytose réactionnelle :

- Absence d'inflammation ou d'infection sous jacente.
- Absence de néoplasie,
- Absence de splénectomie préalable.

Critères d'exclusion

1. Absence de polyglobulie primitive :

- **Masse globulaire normale ou taux d' Hémoglobine < 18,5g/dl chez l'homme , < 16,5g/dl chez la femme.**
- **Présence de fer médullaire à la coloration de perls, ferritine normale, VGM normal.**

Si la condition précédente n'est pas remplie, s'assurer qu'un traitement martial n'augmente pas la masse globulaire ou le taux d'hémoglobine a des valeurs qui sont celles des polyglobulies.

2. Absence de leucémie myéloïde chronique :

- **Absence de chromosome Philadelphie et du transcrit de fusion BCR/ABL.**

3. Absence de splénomégalie myéloïde :

- **Absence de fibrose collagène.**
- **Fibrose réticulinique absente ou minime.**

THROMBOCYTEMIE ESSENTIELLE
CRITERES DIAGNOSTIQUES OMS
Critères diagnostiques positifs

Définition d'une nouvelle variété
d'hyperplaquettose primitive
Formes préfibrotiques **IMF-0**
ou avec fibrose précoce **IMF-1**

Biopsies médullaires dans la Thrombocyémie Essentielle Mégacaryocytopoïèse

Aspect de la moelle	TE	forme préfibrotique
Nombre de mégas	Augmentation +++	Augmentation++
Taille des mégas	Grande taille à géante +++ à ++++	Moyenne à géante ++ à ++++
Histotopographie	En amas peu serrés	En amas serrés
Aspect des noyaux	Profondes lobulations (en corne de cerf)	Lobulations réduites « en bulbe; en nuage » Hyperechromatiques.
Anomalies nucléo- cytoplasmiques (dysplasie)	Pas d'anomalies notables nucléo- cytoplasmiques	Asynchronisme de maturation nucléo- cytoplasmique. (Aspect dysplastique)

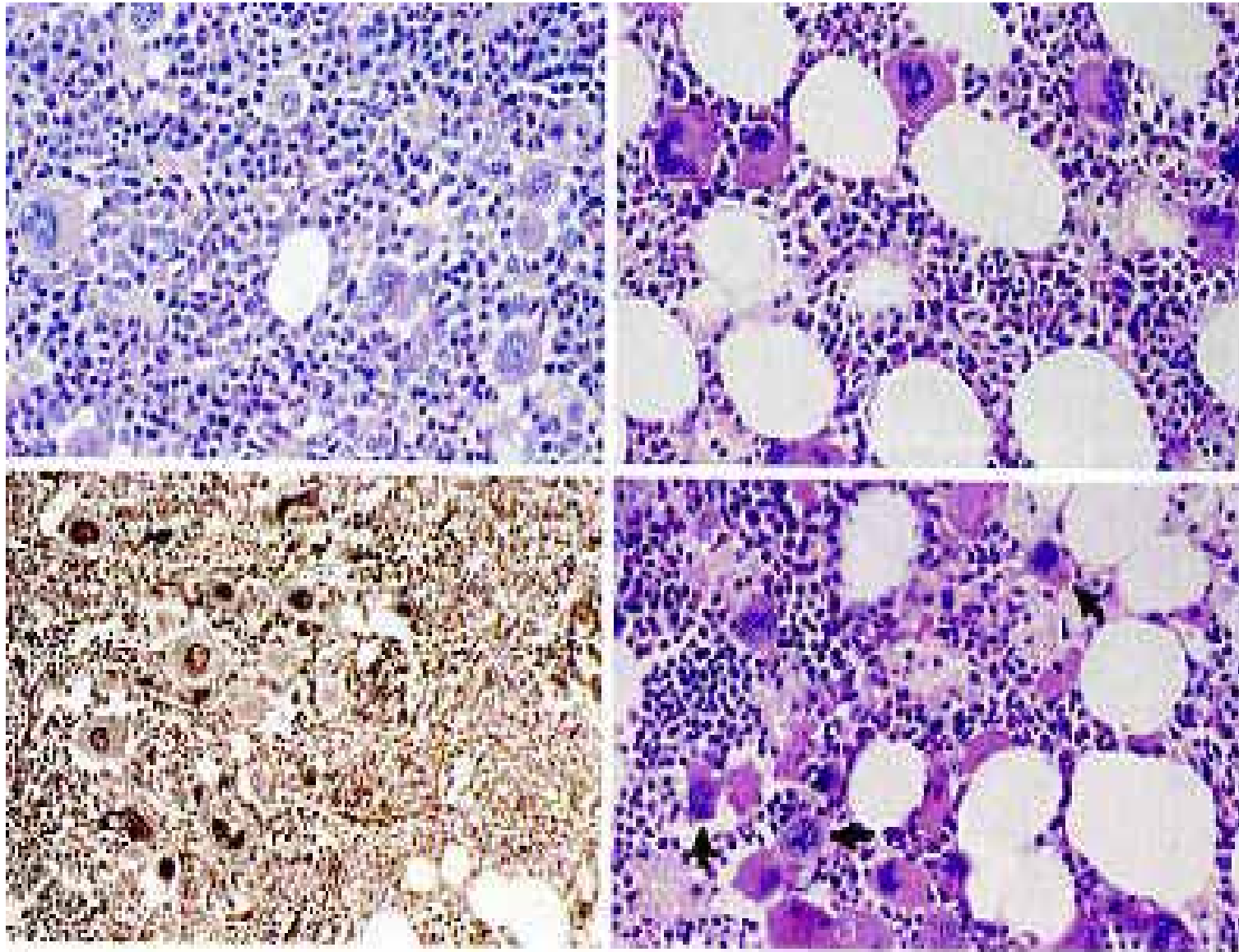
Mégacaryocytopoïèse dans

1) Polyglobulie primitive

2) Thrombocythémie essentielle

3) PMF stade de fibrose précoce IMF-1

4) PMF

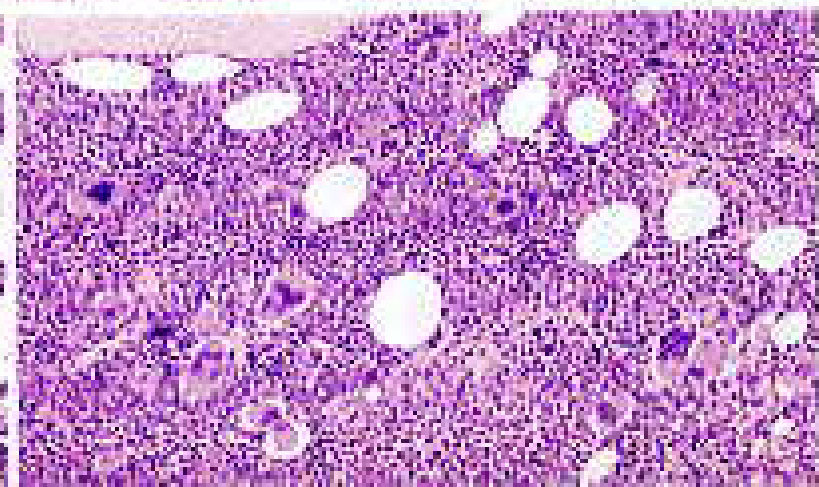
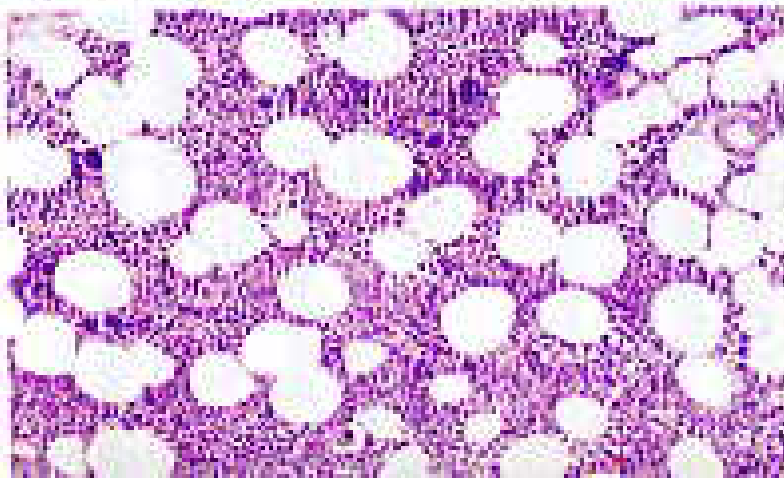
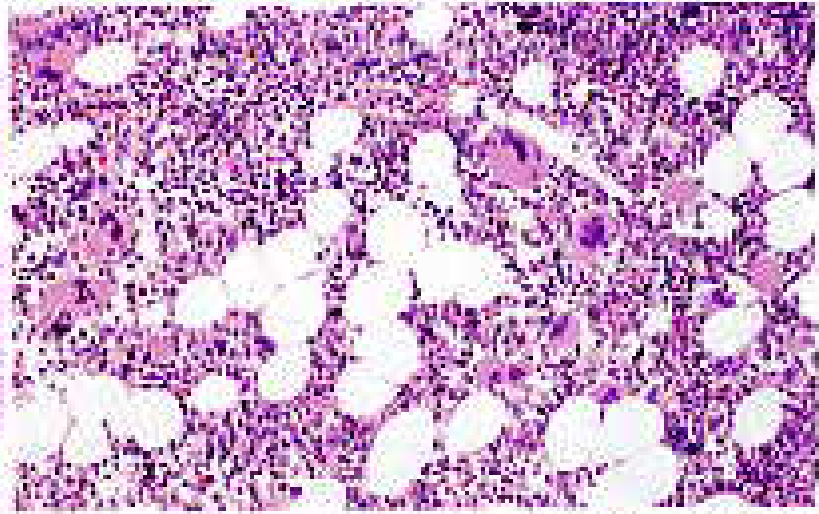
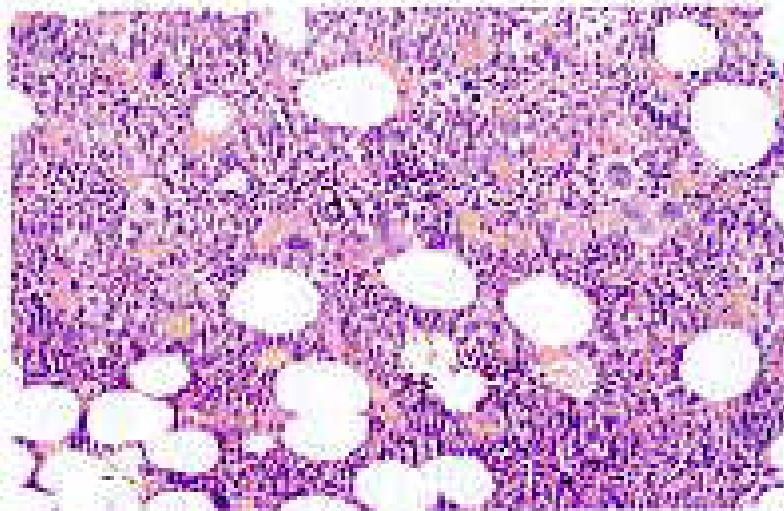


Biopsies médullaires dans la Thrombocyémie Essentielle et les Formes préfibrotiques de Splénomégalias myéloïdes

Aspect de la moelle	Thrombocyémie Essentielle	SM: forme préfibrotique
Richesse Cellulaire	Normale	Augmentée
Granulopoïèse	Normale	Augmentée
Erythropoïèse	Normale	Augmentée
Fibres argyrophiles (réticuline et collagène)	Pas d'augmentation	Pas d'augmentation Significative. IMF-0;IMF-1

Richesse médullaire dans
Polyglobulie
Thrombocytose réactionnelle

Trombocytémie essentielle
IMF-0 ou 1



Données Cliniques	Critères PVSG	Critères OMS
631 patients	463 patients	162 patients
		IMF-0 23%
		IMF-1 34%
		IMF-2 11%
		Pré PV 7%
		TE OMS 22%

Représentation schématique de la proportion de patients chez qui le diagnostic de TE, évoqué cliniquement est finalement authentifié selon que les critères du PVSG ou de l'OMS sont appliqués (d'après Thiele)

Diagnostic de TE

Chapitre II

Les nouvelles approches

- OMS 2001 (importance de la biopsie médullaire).
- OMS 2008 (introduction des marqueurs génétiques).

Critères révisés de thrombocythémie essentielle OMS 2008.

Le diagnostic exige la présence des 4 critères suivants :

1. Augmentation persistante des plaquettes $\geq 450 \times 10^9/L$

2. **Biopsie médullaire**: prolifération mégacaryocytaire
prédominante

(a/ majorité d'éléments mûrs et de grande taille. b/ pas d'augmentation significative de la granulopoïèse neutrophile ni de l'érythropoïèse c/ pas d'excès d'éléments immatures dans ces deux lignées).

3. Absence des critères l'OMS de a/PV b/ PMF c/ LMC d/ MDS
e/autre maladie maligne de la lignée myéloïde.

4. Démonstration de la **mutation JAK2V617F** ou d'un autre
marqueur de clonalité.

En l'absence de marqueur de clonalité : absence d'argument en faveur d'une thrombocytose réactionnelle.

Fréquence des mutation de JAK2
éxon 14 et 12
et de MPLW515L

	PV	ET	IMF	Hyper Plaquetoses seconaires
JAK2V617F	90-95%	50-70%	40-50%	0%
MPLW515 K/L		2 - 4.7% (9%des JAK2-)	10%	0%
JAK2V617F et MPLW515 K/L		possible	possible	0%
JAK2 exon 12	rare (10% des JAK2-)			0%

Critères révisés proposés par l'OMS pour le diagnostic de thrombocythémie essentielle

Critère 3. Absence des critères retenus par l'OMS en faveur du diagnostic de a PV

Requiert:

- Hémoglobine <18.5 g/dl chez l'homme; 16.5g/dl chez la femme; (Hématocrite < 51 et 49% ?)
- En présence d'une ferritinémie basse, l'absence, après traitement martial, d'augmentation de l'hématocrite ou de l'hémoglobine au dessus des valeurs définissant le phénotype polyglobulie
- **L'exclusion de la PV est basée sur les taux d'hémoglobine et sur l'hématocrite. La mesure de la masse globulaire n'est pas nécessaire.**

Critères révisés proposés par l'OMS pour le diagnostic de thrombocythémie essentielle

Critère 3. Absence des critères retenus par l'OMS en faveur du diagnostic de PMF

Requiert:

- l'absence de fibrose réticulinique significative
 - l'absence de toute fibrose collagène
 - l'absence d'érythromyélocytémie sanguine
 - l'absence d'hypercellularité médullaire manifeste (fonction de l'âge),
- La présence d'un aspect des mégacaryocytes typique de myélofibrose primitive:
éléments regroupés en amas denses,
de taille variant de petite à grande,
dont le rapport nucléocytoplasmique est anormal
avec un aspect hyperchromatique, bulbeux ou irrégulièrement contourné des noyaux.

Critères révisés proposés par l'OMS pour le diagnostic de thrombocythémie essentielle

Critère 3. Absence des critères retenus par l'OMS en faveur du diagnostic

c/ LMC

- Requiert l'absence de BCR-ABL

d/ MDS e ou d'une autre maladie maligne de la lignée myéloïde.

- Requiert l'absence de dysérythropoïèses et de dysgranulopoïèse

Critères révisés proposés par l'OMS pour le diagnostic de thrombocythémie essentielle

Critère 4.

Les causes de thrombocytose réactionnelles incluent

- la présence d'une carence martiale,
- d'un antécédent de splénectomie,
- d'une intervention chirurgicale récente,
-
- d'infection, d'inflammation, de « collagénose » ,
-
- de cancer métastatique,
- de syndrome lymphoprolifératif.

Cependant si les trois premiers critères sont présents, l'existence d'une des causes précédentes de thrombocytose réactionnelle, n'exclue pas l'existence d'une TE associée.

Histoire naturelle des TE (PVSG)

- Fréquence:
- Espoir de vie:
- Complications « vasculaires »
- Complications liées a l'évolution clonale.

TE (PVSG)

- Fréquence:

Incidence des TE(PVSG)

- **Incidence annuelle des TE** (rapportée à population standard européenne):

1.55 pour 100 000 habitants/an.

En augmentation significative (hommes)

- **PV: 1.97 / 100 000 habitants an.**
- **SM: 0.3 / 100 000 habitants an**

Prévalence des TE(PVSG)

30 pour 100 000 habitants

TE (PVSG)

- Fréquence:
- Espoir de vie:

Absence de diminution de l'espoir de vie

Nombre de patients	Durée d'observation (Mois)	Survie observée	Référence
247	27	70% (7ans) Analogue témoins	Rozman
435	111	73% (15 ans) Analogue témoins	Passamonti
74 ♀	110	Analogue témoins	Tefferi
47	32	Analogue témoins	Thiele

Diminution de l'espoir de vie

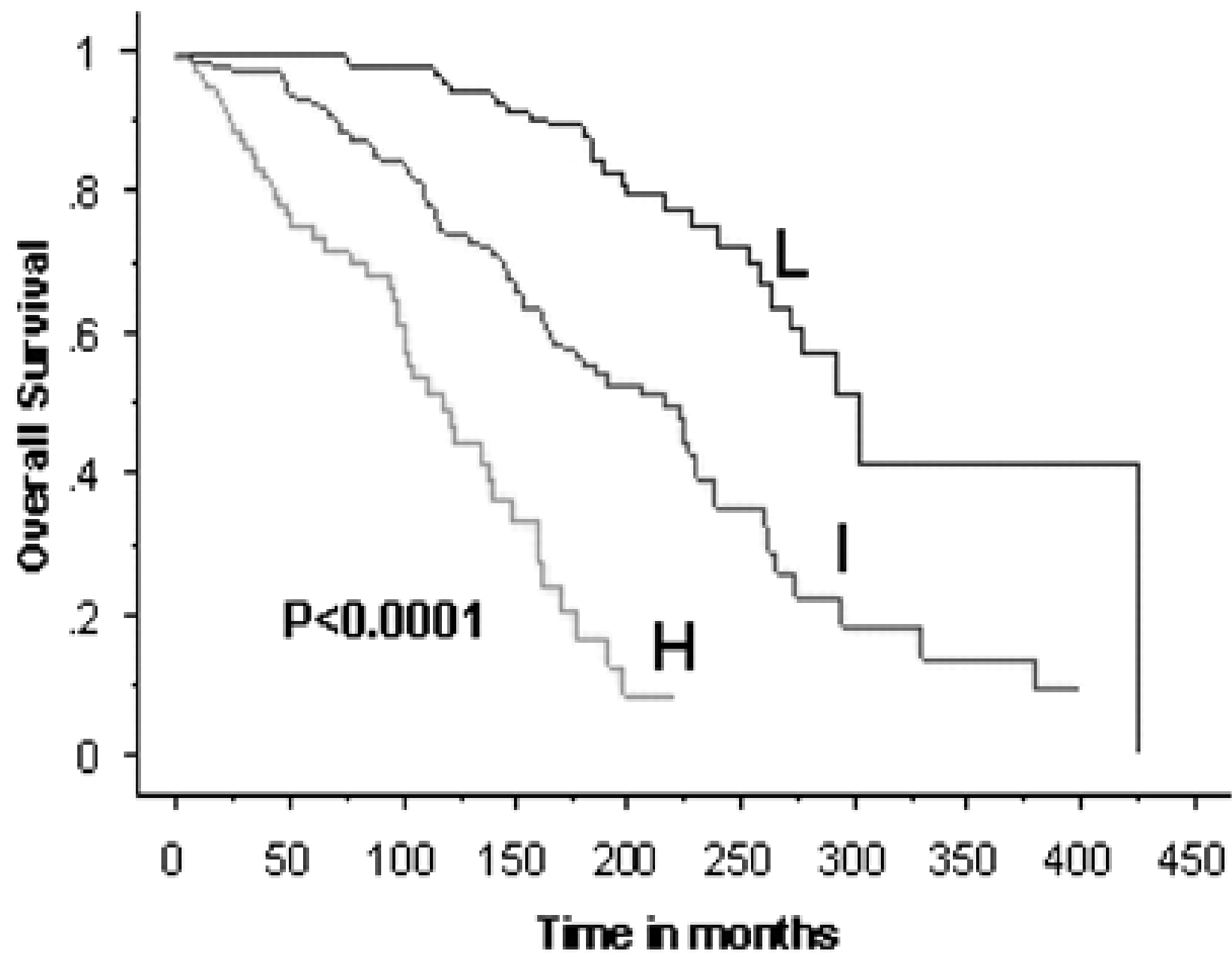
Nombre de patients	Durée d'observation (mois)	Survie observée	références
187	49	85% (7ans) Inférieure témoins <55 ans	Bazzan
39	62	74% (5 ans) TE 82% (5 ans) témoins	Wolanskyj
50	32	Inférieure témoins	Thiele IMF-0
27	32	Inférieure témoins	Thiele IMF-1

THROMBOCYTEMIE ESSENTIELLE
CRITERES DIAGNOSTIQUES OMS
Critères diagnostiques positifs

	Survie à 10 ans	↘ Survie
47 TE « vraies »:	97%	8.3%
50 IMF-0 «préfibrotiques »	87%	21.6%
27 IMF-1 «fibrose précoce »	74%	32.3%

Survie des TE:
Proposition de stratification
Gangat N. Wolanskyj A. Tefferi A. (605 patients).

- **Variables pronostiques :**
 - Age > 60ans.
 - Hémoglobine <12g/dl chez les femme et <13.5g/dlchez l'homme.
 - Leucocytose >15.000x10⁶/L.
- **modèle pronostique :**
 - Low risk: aucun facteur de risque médiane 23 ans
 - Intermediate risk: 1 des 3 facteurs de risque médiane 16ans
 - High risk: ≥ 2 facteurs de risque médiane 9.25ans



TE (PVSG)

- Fréquence:
- Espoir de vie:
- Evaluation du risque « vasculaires » à court et moyen terme

Expression du risque « vasculaire »

nombre d'évènements pour 100 patients/année

Risque hémorragique global:

0.33 pt/an

Facteurs de risque:

- **Forte augmentation du nombre de plaquettes:**

(Maladie de V.Willebrand acquise)

À partir de 1 000 000pl/mm³ (Van Genderen)

1 500 000pl/mm³ (Tefferi)

- Consommation de fortes doses d'aspirine

Évaluation du risque « vasculaire »

nombre d'évènements pour 100 patients/année

Risque thrombotique global:

6.6 pt/an (Mgus:1.2 pt/an)

Facteurs de risque:

Age

<40: 1.3

40-60: 6.3

>60: 15.1*

Antécédents de thrombose

Non: 3.4

Oui:31.4



Manifestations « ischémiques » de la microcirculation:

- ❖ Activation anormale des plaquettes dans la circulation
- ❖ Très sensible à l'aspirine;
- ❖ Peuvent apparaître dès $400 \times 10^9/L$
- ❖ Peuvent être source d'inflammation, prolifération fibro-musculaire et occlusions thrombotiques distales.

Manifestations « ischémiques » de la microcirculation:

- ❖ Erythromélgie (+ + +):

- ❖ Diverses manifestations neurologiques ou oculaires

AIT, épisodes de diplopie, troubles paroxystiques de l'équilibre

- ❖ Migraine, migraine ophtalmique, migraine accompagnée.

Évaluation du risque « vasculaire »

Risque ischémique

Pas de données de fréquence « patients/années ».

Considéré comme le risque **le plus fréquent 1/3 des cas.**

Souvent comptabilisé avec le risque thrombotique

TE (PVSG)

- Fréquence:
- Espoir de vie:
- Evaluation du risque « vasculaires » à court terme
- Complications liées a l'évolution clonale à long terme.

Progression vers la Polyglobulie

- La progression vers un tableau de polyglobulie est signalée dans 5% à 6,5% des cas de TE (Jantunen 1999)
- Habituellement dans les premières années qui suivent le diagnostic (médiane 29 mois extrêmes 12 à 138 m).
- Critiques: ignorance du bilan martial
 - pas de masse sanguine au diagnostic;
- **Observée préférentiellement voire exclusivement chez les patients porteurs de la mutation V617F de JAK2**

Progression vers la myélofibrose:

Série de 91TE (PVSG) 1997
surveillance médiane : 8 ans
« entre 5 et 10% »

Série de 195 TE (Cervantes) 2002
surveillance médiane: 7.2 ans
probabilité actuarielle

2,7 % à 5 ans (IC 95%:2,4 à 2,9)

8,3 % à 10 ans (IC 95%:7,8 à 8, 9)

13,0 % à 15 ans (IC 95%:6,1 à 24,5)

THROMBOCYTEMIE ESSENTIELLE
CRITERES DIAGNOSTIQUES OMS
Critères diagnostiques positifs

Cinquante pour cent des formes préfibrotiques(IMF-0 et IMF-1) sont devenues de vraies SM en biopsie après un délai de 38 +/- 30 mois.

Bone marrow pathology in essential thrombocythemia: interobserver

reliability and utility for identifying disease subtypes

Wilkins B S, Erber N, Bareford D, Campbell P.

- Relecture en « aveugle » de 370 BM de TE incluses dans l'un des 3 protocoles du MRC PT-1 Trial.
- Faible « reproductibilité inter-observateurs » de certains des critères OMS.
- Faible reproductibilité des classements (IMF-0/1 9-28%; TE vraies 10-48%)
- Aucune corrélation avec un mode évolutif particulier

Bone marrow pathology in essential thrombocythemia:

Aspect de la moelle	corrélation entre observateurs	Corrélation Avec V617FJAK2
Nombre de mégas	Bonne	0
Taille des mégas	Bonne	0
Regroupement en amas	Bonne	0
Richesse Cellulaire Globale	Bonne	Corrélée avec la présence de
Evaluation du degré de la myélofibrose réticulinique	Bonne	0

Bone marrow pathology in essential thrombocythemia:

Aspect des noyaux	Corrélations Entre observateurs
Profondes lobulations (en corne de cerf)	Médiocre
Lobulations réduites (en bulbe; en nuage)	médiocre
Asynchronisme de maturation nucléo-cytopasmique	médiocre
Méga hyperchromasiques. Dysplasiques	médiocre

Transformation en leucémie aiguë **ou en myélodysplasie**

1. **Nombre très limité de transformation publiées chez patients non traités:
(Geller 1982; Shibata 1994).**
2. **Les alkylants ou radiomimétiques augmentent le risque.**

P32

Busulfan.

3. **Les Tt séquentiels ont également un effet « potentialisateur ».**
alkylants/HU
HU/pipobroman (17p-)
4. **L'hydroxyurée utilisée seule dans la TE n'a un effet leucémogène:**
 - **Ni formellement démontré (Barbui), ni définitivement éliminé.**
 - **Pouvant être interprété comme un rôle:**
de sélection
mutagène

Fréquence de TA cohorte de 108 patients

Table 1 Summary of the Three Prospective Studies

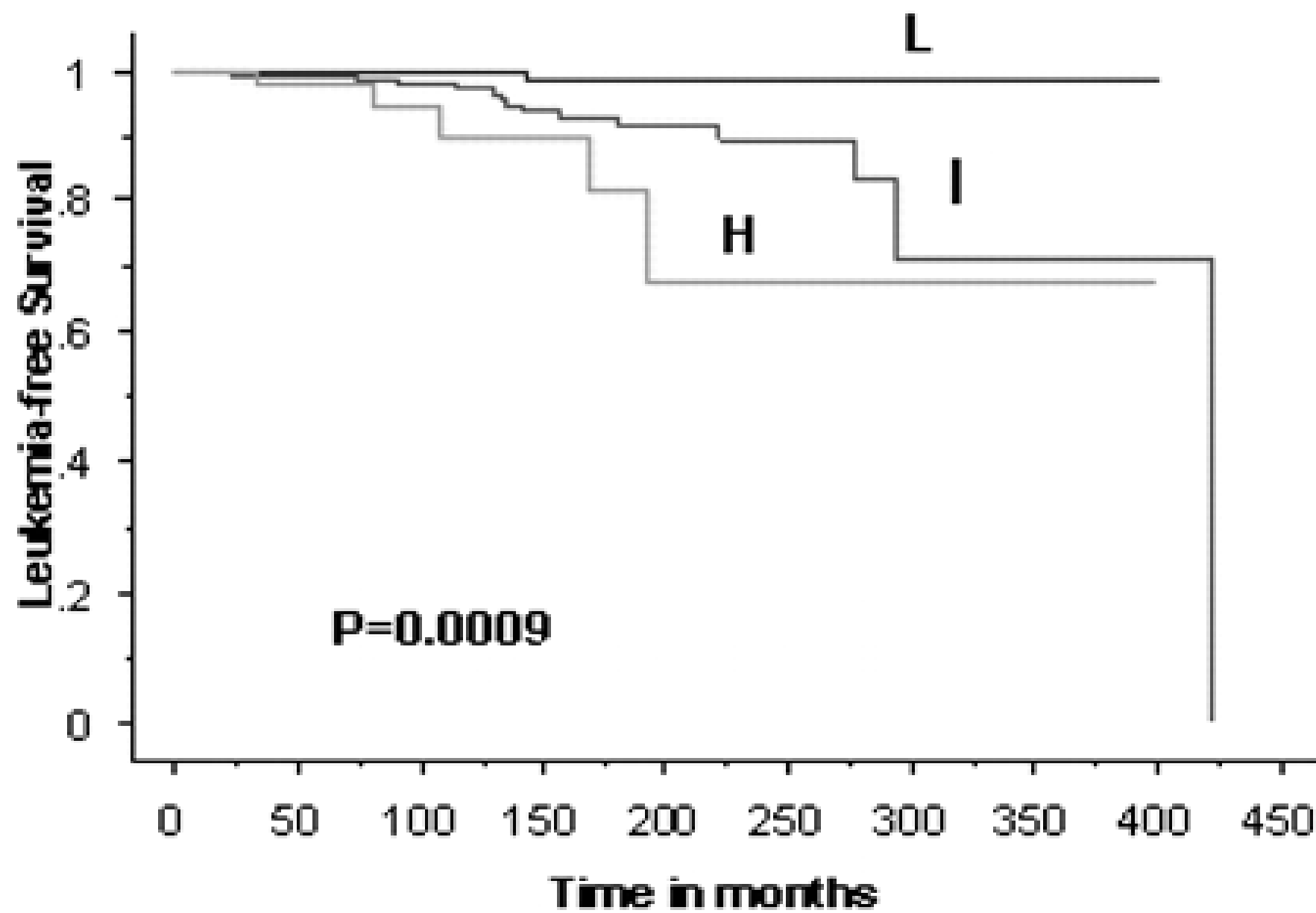
Study	Median Follow-Up [yr]	Number of Patients Analyzed	Evolution to AL + MDS		
			Number of AL/MDS	Median Time to AL/MDS (yr)	Number of AL/MDS after the 12th Year
Pipobroman Study	11.4	164	32	9.6	11 (34%)
FPSG Study					
HU arm	14	123	15	10	6 (40%)
Pipobroman arm	11	104	28	11	11 (44%)
ET Cohort	11.4	108	10	8	3 (37%)

AL, acute leukemia; MDS, myelodysplastic syndrome; FPSG, French Polycythemia Study Group; HU, hydroxyurea; ET, essential thrombocythemia.

Risque de transformation leucémique de la TE : proposition de stratification

Gangat N. Wolanskyj A. Tefferi A. (605 patients).

- Variable pronostiques:
 - Hémoglobine $<12\text{g/dl}$ chez la femme
 $<13.5\text{g/dl}$ chez l'homme.
 - Plaquettes $\geq 1000 \times 10^9/\text{L}$.
- Modèle pronostique :
 - Low risk: aucun des facteurs de risque 0.4%
 - Intermediate risk: 1 facteur de risque 4.8%
 - High risk: les 2 facteurs de risque : 6.5%



Stratification pronostique des TE

Patients à haut risque

- A. Age: le risque augmente de façon significative après 60 ans
- B. Antécédents de thrombose : observée au moment du diagnostic ou auparavant.
- C. Un nombre de plaquettes $> 1500 \times 10^9 / L$

Stratification pronostique des TE

Patients à faible risque

- A. Patients âgés de moins de 40 ans
- B. Patients affectés par *aucun* des critères de haut risque
- D. Patient sans facteur de risque cardiovasculaire ni thrombophilie ayant donné lieu à des complications dans la famille

Stratification pronostique des TE

- *Patients à risque intermédiaire*
- A. Un âge compris entre 40 et 60 ans.
- B. Des facteurs de risque cardiovasculaires bien établis (hypertension, hypercholestérolémie, diabète, tabagisme, obésité).
- C. proposé aussi quand le chiffre de plaquettes est compris entre 1000 et 1500x10⁹/L .
 - Dans ce cas le risque intermédiaire de **thrombose** est déterminé par l'association à un facteur de risque vasculaire, une thrombophilie familiale
 - celui d'**hémorragie** par l'association à des saignements mineurs ou à une thrombocythémie essentielle d'évolution très ancienne (15 ans).

Recommandation pour le traitement des TE

- Chez tous les patients:
rechercher et traiter tous les facteurs de risque cardio-vasculaires.
(tabac, hypertension, hypercholestérolémie, surcharge pondérale).
- Chez les patients à haut risque:
(antécédents de thrombose ou plus de 60 ans ou $> 1\ 500 \times 10^9/L$).
Aspirine faible dose + traitement cytoréducteur.
En France Hydroxyurée 1^{ère} intention; Anagrélide; Interféron 2^{ème} intention.
- Chez les patients à faible risque:
Abstention; Aspirine faible dose.
- Chez les patients à risque intermédiaire:
Aspirine faible dose; traitement cytoréducteur si facteurs de risque cardio-vasculaires associés

Recherche de nouveaux facteurs de risque de thrombose ou d'évolution clonale dans la TE

Rôle de JAK2 ?

Rôle des globules blancs (PN).

Rôle de l'activation des plaquettes
et des leucocyte ou des cellules
endotheliales.

Recherche de nouveaux facteurs risque de thrombose dans la TE

Rôle de JAK2V617F

- 1) Présence ou absence de la mutation de JAK2 ?
- 2) Niveau d'expression de la mutation de JAK2 ?
- 3) Homozygotie pour le gène de la mutation de JAK2 ?
- 4) Expression de de la mutation de JAK2 dans les cellules souches?

Incidence de la présence de la mutation sur le risque d'évolution clonale

Campbell P The Lancet 2005

	JAK2 V617F	JAK2 non muté	p
NB de patients	414	362	
Transf; en PV	6	0	0.01
Évolution fibrotique	7	13	0.2
Évolution leucémique/ myélodysplasie	5	2	0.3

Incidence de la présence de la mutation sur le risque d'évolution clonale

- Démontrée uniquement pour l'évolution vers la **Polyglobulie** Shih L-Y, Lee C-T,
- Confirmée par les travaux portant sur niveau d'expression et homozygotie Molitnero A, Spivak JL Vannucchi A, Barosi G, for te GIMEMA MPD WP

Incidence de la présence de la mutation sur la
présentation clinique de la TE

TE dont l'aspect est proche d'une
polyglobulie

EEC; baisse du taux d'érythropoïétine (EPO).

Formes frustres ou précoces de PV

Tefferi Michiels

Comparaison des TE selon la présence ou non de la mutation

Campbell P The Lancet 2005

	JAK2 V617F	JAK2 non muté	p
Nombre de patients	414	362	
Hémoglobine	14.5	13.5	< 0.0001
Polynucléaires	10.0	8.8	< 0.0001
Plaquettes	902	1030	< 0.0001
Erythroblastes(BM) Dim/ Augm / Nx	3/107/98	8/118/58	< 0.001
EPO serique	9.8	23.6	< 0.0001

Incidence de la présence de la mutation sur le
risque de thrombose

La relation directe entre la présence de la
mutation et le risque n'est toujours pas
démontrée formellement

Incidence de la présence de la mutation sur le risque vasculaire

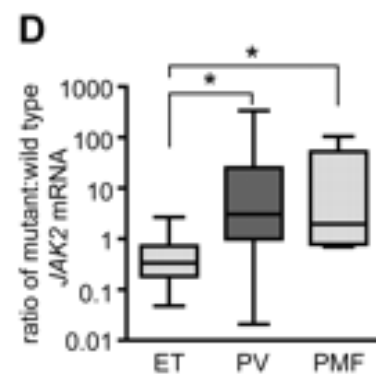
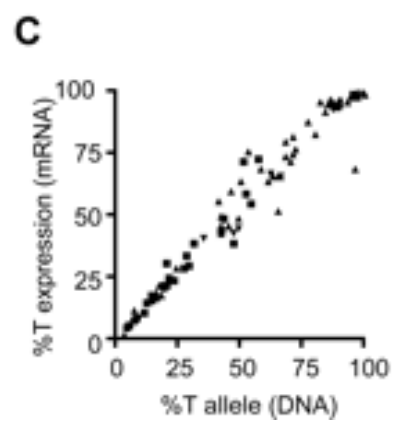
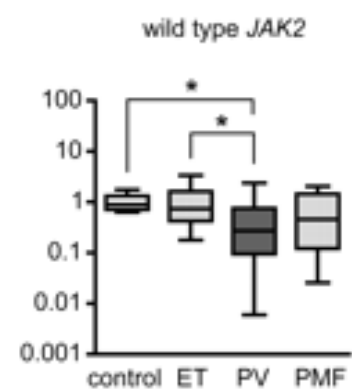
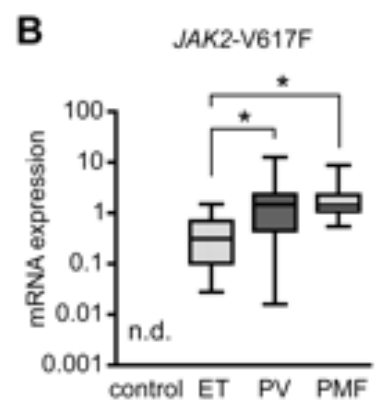
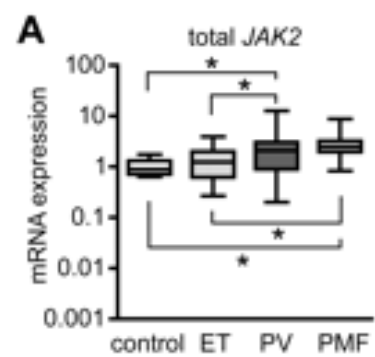
- La présence de la mutation n'a aucune incidence sur le risque de thrombose (**Wolanskyj AP BJH 2005**).
- La présence de la mutation n'a aucune incidence sur le risque de thrombose artérielle, d'hémorragies, mais est associé à une augmentation peu significative de thrombose veineuses au diagnostic (**Campbell P Lancet 2005**)

Incidence de la présence de la mutation sur le risque vasculaire

La présence de la mutation est associée

- à un risque augmenté de thrombose artérielle
(Cheung B BJH 2006).
- à un risque augmenté de thromboses, d'hémorragies
(Kralovics R NEJM 2005)
- à une activation des
granulocytes
(proportionnelle à l'expression de la mutation) (Passamonti Blood 2006)
plaquettes et monocytes
(corrélation possible avec risque de thrombose) (Arrelano-Rodrigo E Hematologica 2006)

Influence de la charge allélique de JAK2^{V617F} sur les aspects cliniques de la TE



La charge allélique de JAK2^{V617F} dans la TE (ASH 2006)

1) Pemmarjaru N, Molitnero A, Spivak JL Abstract#670

N'intervient pas

- dans le phénotype Hb Gb plaquettes
- dans la fréquence des complications vasculaires liées aux plaquettes.

Intervient

- dans conversion phénotypique en PV ou en PMF

2) Passamonti F, Rumi E, Pietra D. Abstract # 2692.

- Pas de conversion de JAK2 non mutées à mutées : 2 entités différentes.
- La courbe de progression n'est significative que dans la polyglobulie
 - Augmentation de la proportion d'allèle muté par mois
 - PV = 0.33%
 - ET = 0.08%.

Signification Clinique
De l'homozygotie pour JAK2V617F
dans la TE

Signification Clinique
De l'homozygotie pour JAK2V617F
dans la TE

- L'homozygotie pour *JAK2 617V>F* est associée à une évolution plus fréquent vers la myélofibrose secondaire dans la TE comme dans la PV ET.
- Les TE homozygotes ont un risque de complications cardiovasculaires significativement plus élevé que les non mutés (Wild type) ou que les patients hétérozygotes

Mais dans la PV aucune association significative du risque thrombotique avec l'homozygotie pour *JAK2 617V>F* n'a été observée

ET: Clinical significance of JAK2V617F homozygosity in the chronic myeloproliferative disorders Study of 1306 patients

Vannucchi A, Barosi G, Rambaldi A for the GIMEMA MPD WP. Oral sessions
Abstract # 664

Incidence of Major thromboses at diagnosis observed in 195 patients.

% thrombosis	MPD Type	WT	He	Ho
18	PV	12%	21%	15%
18	ET	11%	22%	50%
4	IMF	1%	7%	3%

Rôle des globules blancs (PN).

- PV étude ECLAP:
(1638pts; 205 thromboses; médiane 2.7+/- 1.3 ans).
 - Absence de corrélation avec le nombre de plaquettes.
 - Hyperleucocytose $>15 \times 10^9 /L$ comparée à $<10 \times 10^9 /L$ est significativement associée à un risque de thrombose (Infarctus du myocarde en particulier).

Rôle des globules blancs (PN).

TE

- Mayo Clinic Wolanskyj 2006.
 - Hyperleucocytose $> 15 \times 10^9 /L$ est un facteur prédictif du risque de thrombose majeure.
- Carobbio Barbui Blood 2007:
(439pts; 180 thromboses; médiane 6.5)
 - Hyperleucocytose $> 8,7 \times 10^9 /L$ est significativement associée à un risque de thrombose (artérielles ou veineuses).
- Tefferi (Mayo Clinic) Blood 2007. (600 pts;)
 - Hyperleucocytose $> 15 \times 10^9 /L$ est un facteur prédictif du risque de thrombose majeure artérielle ou veineuse au diagnostic.
 - Mais incapable de prédire le risque de thrombose au cours de l'évolution (du fait du traitement)

Activation des plaquettes et des leucocytes

Dans les PV et les TE

- Les paramètres d'activation de PN circulants sont significativement augmentés.
- Ils sont associés à une activation de la coagulation et des cellules endothéliales.
- Une augmentation significative des agrégats entre polynucléaires et plaquettes et monocytes et plaquettes se produit (P- sélectine et ligand).
- Rôle de JAK2?
 - une activation des granulocytes (proportionnelle à l'expression de la mutation) (**Passamonti Blood 2006**)
 - plaquettes et monocytes corrélation possible avec risque de thrombose) (**Arrelano-Rodrigo E Hematologica 2006**)

Activation des plaquettes et des leucocytes

- Pas de corrélation jusqu'ici démontrée entre la présence de ces paramètres d'activation et la fréquence des thromboses cliniquement observées

Traitement des TE

**Faut il traiter tous les patients atteints de
TE ?**

Patients adultes atteints de TE

Age < 60 ans

Age > 60 ans

TRAITEMENT

Asymptomatique

antécédents de thrombose ou
d'hémorragie majeures

TRAITEMENT

PLT < 1500

PLT > 1500

TRAITEMENT

Age < 40 ans

Age 40-60 ans

PLT < 1500

PLT < 1000

PLT 1000-1500

Pathologie
Thrombogène
associée

TRAITEMENT

Absence de
Pathologie
Thrombogène
associée

**PAS DE
TRAITEMENT**

- Facteurs de risque Cardiovasculaire
- thrombophilie familiale

**PAS DE
CONSENSUS**

Absence de
• Facteurs de risque Cardiovasculaire
• thrombophilie familiale

**PAS DE
TRAITEMENT**

- Facteurs de risque Cardiovasculaire
- Thrombophilie familiale

TRAITEMENT

Absence de
Facteurs de risque Cardiovasculaire
et de
Thrombophilie
familiale

**PAS DE
TRAITEMENT**

Traitement des TE

Quels sont les avantages et les inconvénients des traitements utilisés pour réduire l'excès de plaquettes ?

Avantages inconvénients des traitements

[illegible]

Traitement des TE

Quels Critères retenir pour choisir le traitement ?

Avantages inconvénients des traitements chez TE à Ht risque

Produit	HU	Pipobr	IFN	Anagrelide	
Réduction du risque de thromboses	++	+ ?	+ ?	+	
Réduction du risque de thromboses artérielles	+++*			+	
Réduction du risque de thromboses veineuses	+			+++	
Réduction du risque hémorragique	+			aspirine potentialise effet AA ?	
Risque leucémogène	6/404* 29% prétraités HU			4/405* 30% prétraités HU	
Effet de réduction fibrose	5/404* BM initiale?	+?	+?	16/405* BM initiale?	

* Plus net chez les TE JAK2+ recevant HU cet effet n'est pas constaté chez TE JAK2-

Traitement des TE

**Quel objectif fixer à la réduction du nombre
des plaquettes**

Traitement des TE

**Faut il traiter tous les patients atteints de
TE par aspirine à faible dose?**

Traitement des TE

**Peut on envisager une grossesse
lorsqu'on est atteinte de TE ?**

	no. of patients			
Primary end point				
Arterial or venous thrombosis, serious hemorrhage, or death from thrombosis or hemorrhage	36	55	1.57 (1.04–2.37)	0.03
Secondary end point				
Arterial thrombosis	17	37	2.16 (1.27–3.69)	0.004
Myocardial infarction	7	13	1.84 (0.76–4.41)	NS
Unstable angina	2	4	1.94 (0.39–9.63)	NS
Stroke	7	9	1.30 (0.49–3.47)	NS
Transient ischemic attack	1	14	5.72 (2.08–15.73)	<0.001
Other‡	2	0		NE
Venous thromboembolism	14	3	0.27 (0.11–0.71)	0.006
Deep-vein thrombosis	9	1	0.20 (0.06–0.71)	0.009
Pulmonary embolism	5	2	0.43 (0.01–1.87)	NS
Hepatic-vein thrombosis	1	0		NE
Serious hemorrhage	8	22	2.61 (1.27–5.33)	0.008
Gastrointestinal bleeding	3	13	3.54 (1.33–9.44)	0.01
Intracranial bleeding	4	1	0.30 (0.05–1.75)	NS
Nasal bleeding	1	4	3.34 (0.58–19.25)	NS
Other bleedings§	0	4		NE
Death	27	31	1.15 (0.69–1.93)	NS
Thrombotic cause¶	9	11	1.23 (0.51–2.94)	NS
Hemorrhagic cause	4	4	1.01 (0.25–4.02)	NS
Hematologic cause (transformation)	4	3	0.77 (0.18–3.39)	NS
Other cause	12	14	1.17 (0.54–2.53)	NS
Hematologic transformation				
Myelofibrosis	5	16	2.92 (1.24–6.86)	0.01
Mo after trial entry — median (range)	30 (7–54)	28 (10–52)		
Mo after diagnosis — median (range)¶	34 (27–107)	45 (12–182)		
Acute myeloid leukemia or myelodysplasia	6	4	0.67 (0.20–2.33)	NS
Mo after trial entry — median (range)	26 (7–46)	43 (8–55)		

	no. of patients			
Primary end point				
Arterial or venous thrombosis, serious hemorrhage, or death from thrombosis or hemorrhage	36	55	1.57 (1.04–2.37)	0.03
Secondary end point				
Arterial thrombosis	17	37	2.16 (1.27–3.69)	0.004
Myocardial infarction	7	13	1.84 (0.76–4.41)	NS
Unstable angina	2	4	1.94 (0.39–9.63)	NS
Stroke	7	9	1.30 (0.49–3.47)	NS
Transient ischemic attack	1	14	5.72 (2.08–15.73)	<0.001
Other‡	2	0		NE
Venous thromboembolism	14	3	0.27 (0.11–0.71)	0.006
Deep-vein thrombosis	9	1	0.20 (0.06–0.71)	0.009
Pulmonary embolism	5	2	0.43 (0.01–1.87)	NS
Hepatic-vein thrombosis	1	0		NE
Serious hemorrhage	8	22	2.61 (1.27–5.33)	0.008
Gastrointestinal bleeding	3	13	3.54 (1.33–9.44)	0.01
Intracranial bleeding	4	1	0.30 (0.05–1.75)	NS
Nasal bleeding	1	4	3.34 (0.58–19.25)	NS
Other bleedings§	0	4		NE
Death	27	31	1.15 (0.69–1.93)	NS
Thrombotic cause¶	9	11	1.23 (0.51–2.94)	NS
Hemorrhagic cause	4	4	1.01 (0.25–4.02)	NS
Hematologic cause (transformation)	4	3	0.77 (0.18–3.39)	NS
Other cause	12	14	1.17 (0.54–2.53)	NS
Hematologic transformation				
Myelofibrosis	5	16	2.92 (1.24–6.86)	0.01
Mo after trial entry — median (range)	30 (7–54)	28 (10–52)		
Mo after diagnosis — median (range)¶	34 (27–107)	45 (12–182)		
Acute myeloid leukemia or myelodysplasia	6	4	0.67 (0.20–2.33)	NS
Mo after trial entry — median (range)	26 (7–46)	43 (8–55)		

	no. of patients			
Primary end point				
Arterial or venous thrombosis, serious hemorrhage, or death from thrombosis or hemorrhage	36	55	1.57 (1.04–2.37)	0.03
Secondary end point				
Arterial thrombosis	17	37	2.16 (1.27–3.69)	0.004
Myocardial infarction	7	13	1.84 (0.76–4.41)	NS
Unstable angina	2	4	1.94 (0.39–9.63)	NS
Stroke	7	9	1.30 (0.49–3.47)	NS
Transient ischemic attack	1	14	5.72 (2.08–15.73)	<0.001
Other‡	2	0		NE
Venous thromboembolism	14	3	0.27 (0.11–0.71)	0.006
Deep-vein thrombosis	9	1	0.20 (0.06–0.71)	0.009
Pulmonary embolism	5	2	0.43 (0.01–1.87)	NS
Hepatic-vein thrombosis	1	0		NE
Serious hemorrhage	8	22	2.61 (1.27–5.33)	0.008
Gastrointestinal bleeding	3	13	3.54 (1.33–9.44)	0.01
Intracranial bleeding	4	1	0.30 (0.05–1.75)	NS
Nasal bleeding	1	4	3.34 (0.58–19.25)	NS
Other bleedings§	0	4		NE
Death	27	31	1.15 (0.69–1.93)	NS
Thrombotic cause¶	9	11	1.23 (0.51–2.94)	NS
Hemorrhagic cause	4	4	1.01 (0.25–4.02)	NS
Hematologic cause (transformation)	4	3	0.77 (0.18–3.39)	NS
Other cause	12	14	1.17 (0.54–2.53)	NS
Hematologic transformation				
Myelofibrosis	5	16	2.92 (1.24–6.86)	0.01
Mo after trial entry — median (range)	30 (7–54)	28 (10–52)		
Mo after diagnosis — median (range)	34 (27–107)	45 (12–182)		
Acute myeloid leukemia or myelodysplasia	6	4	0.67 (0.20–2.33)	NS
Mo after trial entry — median (range)	26 (7–46)	43 (8–55)		

Peg IFN α -2a in polycythemia vera (PV). Results of a phase 2 study by the French « PV-Nord » group.

Kiladjian JJ. Cassinat B. Turlure P. oral presentation. Abstract # 670.

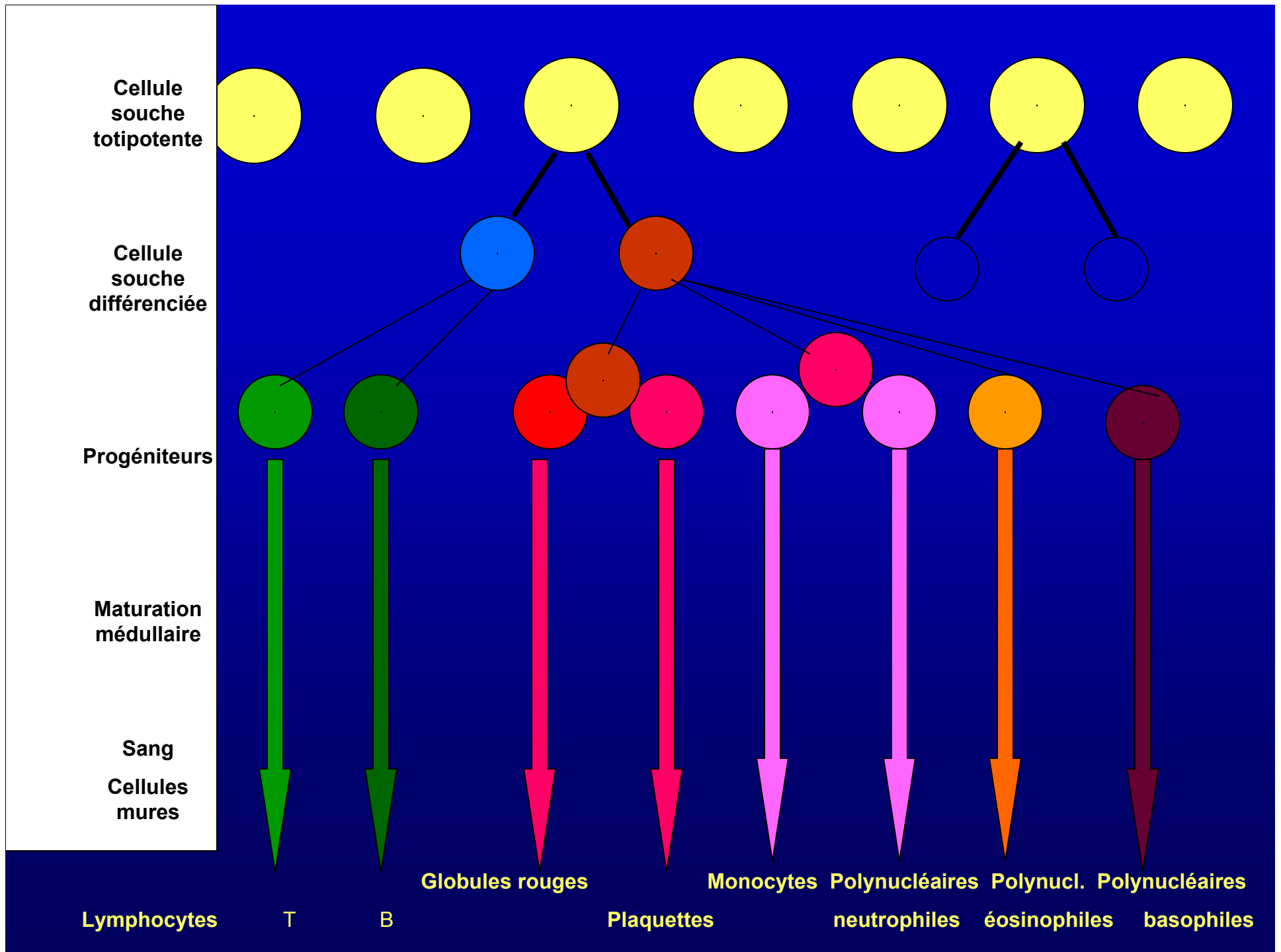
- **40 patients with PV**
- **Median Peg- IFN α -2a dose received during the 1st year 113mcg per week.**
- **Drop out 4 pts at 1 y.**
- **Hematological response 94%.**
- **Molecular response 89% (2pts negative for JAK2V617F after 1 year).**
- **Treatment was stopped due to side effects in only 9% (only grade 1 to 3 toxicities)**

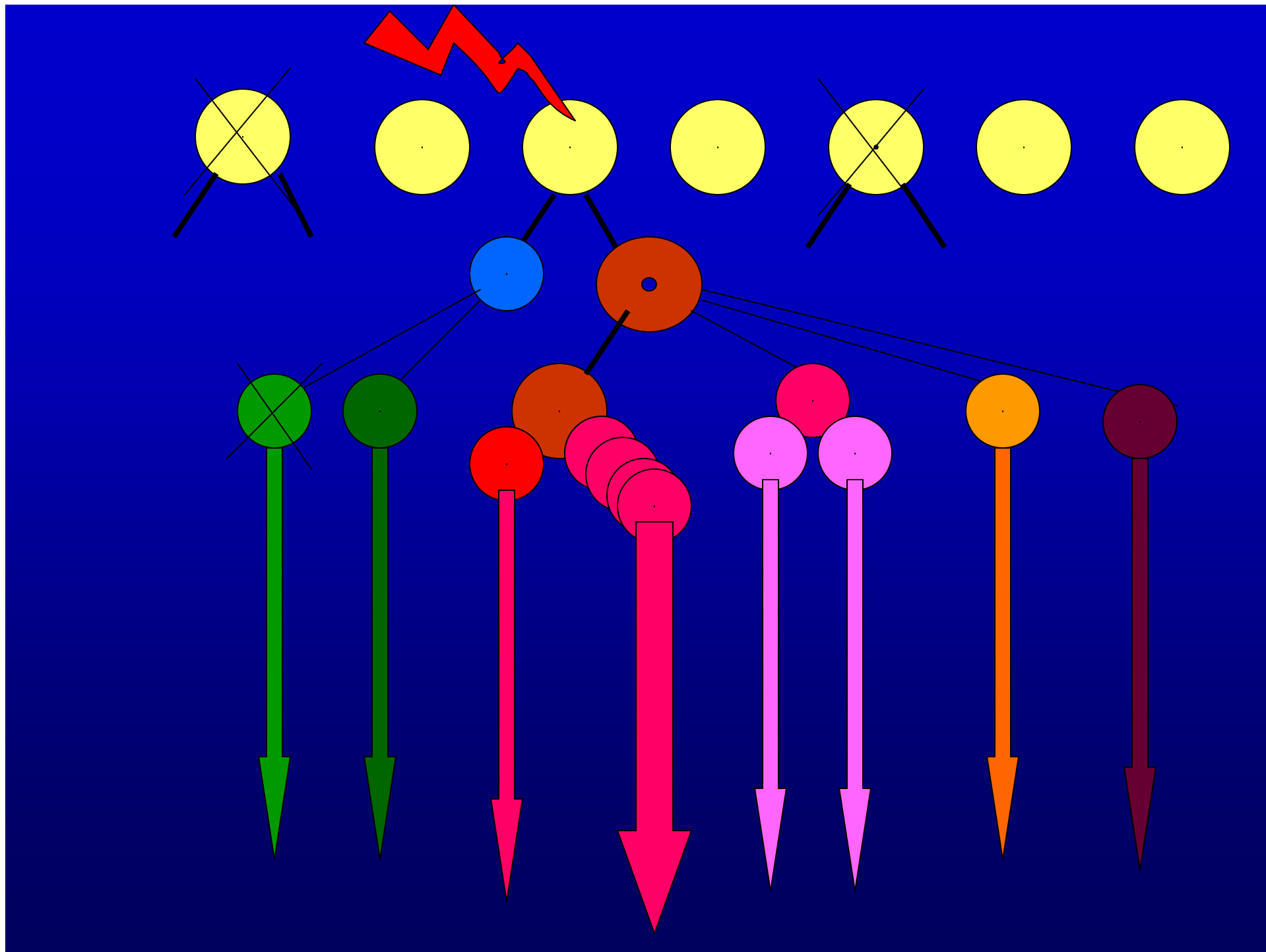
	BCS	PVT	SMP	
	(V617FJAK2+)	(V617FJAK2+)	(BCS)	(PVT)
BrJH 2005	36 (N/A)	88 (N/A)	50%	30%
Kiladjian	104 (45%)	137 (34%)	78%	50%
Smalberg	40 (41%)		33%	
Regina	2 (0%)	42 (18.2%)		18.2%

PV/ET: Thrombotic and hemorrhagic complications after surgery in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera.

Ruggeri M. Rodeghiero F. Barbui T Abstract # 2693

- **Retrospective analysis of 105 PV and 150 ET after surgical procedure.**
- **Active cytoreduction (74%) and antithrombotic prophylaxis (82.7%) in the majority of the cases a high proportion was complicated by**
 - **deep vein thrombosis (DVT) and arterial thrombosis (AT) 7.7%.**
 - **DVT was more frequent in PV ; AT was more frequent in ET.**
 - **Platelet and Haematocrit were not associated with DVT or AT.**
- **More investigation on the optimal prophylaxis in these patients is required.**







Caryotype

- Pas de marqueur spécifique.
- 5% d'anomalies
- Nécessité d'éliminer Ph1
- Formes frontières avec les myélodysplasies.

Absence de délétion du bras long du chromosome 5 del(5q) ;

**de translocation t(3 ;3) (q21;q26) ;
d'inversion du chromosome 3**

inv(3)(q21q26

Ploïdie de mégacaryocytes

- Ploïdie modale dans la TE = 32 N (16N)
- Augmentation des 64 N et 128 N.
- Certaines techniques d'isolement risquent de faire perdre les plus gros mégacaryocytes

Anomalies plaquettaires

- Anomalie facteur Willebrand:
 - $> 1000 \times 10^9$ plaquettes, anomalie qualitative vWF:Rco/ vWF ag
 - indépendante de l'origine de l'hyperplaquettose. ↘
 - facteur déterminant du risque hémorragique.

Plaquettes activées

- Phénomène d'auto agrégation
Agrégats spontanés; agrégats leucocytes-plaquette; PF4 Béta TG; augmentation synthèse thromboxane..
- Cytométrie de flux:
CD 62(p-sélectine) 68%.CD 63 46%.Gp IIbIIIa 68% CD 36 (Gp IV)...

ETUDE DE LA CLONALITE dans la TE

- Environ 30% de formes dont l'hématopoïèse est polyclonale.
- Ces formes se distinguent par un risque plus faible d'évènements thrombotiques

ETUDE DE LA CLONALITE dans la TE

Auteur	année	age limite	nb patients	Mono Clonales Nb %	Poly clonales Nb %	corrélation avec le risque de thrombose
El Kassar	1997	non (T. b.clonality assay 31/42)	42	28(66) (74) *plaquettes	14 (33)	non
Harrison	1999	oui (T.b. clonality assay 21/23)	23	10 (43)	13 (56)	oui <i>P<0.5</i>
Chiuloso	2001	oui	28	15 (54)	13 (46)	Oui <i>P=0.04</i>
Shih	2001	non	69	54 (78)	15 (22)	Oui * <i>P=0.007</i>
Liu	2004	non (T.b. clonality assay)	12	8 (66)	4 (33)	non
Florenza	2004	non	17	6 (40)	9 (60)	
Vannucchi	2004	oui	88	53 (60.2)	35 (39.8)	oui