



Anne MURATI¹, Danielle SAINTY¹

Actualités biologiques dans la thrombocytémie essentielle

RÉSUMÉ

Comment définir et par conséquent diagnostiquer un syndrome myéloprolifératif (SMP) non LMC (leucémie myéloïde chronique) et donc Philadelphie négatif ? C'est la question majeure qui s'est posée pendant près de 40 ans concernant l'étude de la thrombocytémie essentielle (TE) dont le diagnostic reste difficile en raison de l'absence d'anomalie moléculaire spécifique.

Le diagnostic de ce SMP repose sur l'association d'un grand nombre de critères clinico-biologiques développés par le Polycythemia Vera Study Group (PVSG) dans les années 1970. Ces critères ont été révisés en 1997 par Scott Murphy (1) et par l'OMS en 2001 (2). En effet, un certain nombre d'examen doivent être effectués avant d'affirmer le caractère primitif et clonal de cette pathologie. Selon ces critères, le diagnostic de TE est un processus en 2 étapes ; il est d'abord nécessaire d'éliminer une thrombocytose réactionnelle à une carence en fer, un processus inflammatoire, infectieux ou tumoral. La deuxième étape diagnostique est l'exclusion des autres types de SMP et plus rarement de certains syndromes myélodysplasiques.

L'étape médullaire est indispensable au diagnostic des SMP. En effet l'analyse cytologique du myélogramme permet d'apprécier la richesse et la composition médullaire. L'analyse qualitative des mégacaryocytes permet généralement d'éliminer les thrombocytoses secondaires, les rares cas de syndromes myélodysplasiques avec thrombocytose et aussi, le plus souvent, les autres syndromes myéloprolifératifs.

L'étude anatomopathologique de la biopsie ostéomédullaire trouve son utilité maximale dans la mise en évidence de la myélofibrose primitive mais reste un examen invasif.

Affirmer la clonalité permet d'exclure une origine secondaire mais permet difficilement le diagnostic précis du type de SMP.

Quels sont les outils techniques réalisés dans certains laboratoires spécialisés ?

- Très récemment, la mise en évidence de la mutation (Val617Phe) dans le domaine pseudo-kinase de la tyrosine kinase JAK2 dans 50% des patients atteints de TE (et dans 80 à 97% des polyglobulies primitives) a permis de faire une avancée majeure dans la compréhension de la physiopathologie et dans les perspectives thérapeutiques des SMP (3-5).

- La réalisation d'un caryotype et la recherche de pousse spontanée des progéniteurs hématopoïétiques sont des examens très fréquemment réalisés alors que l'analyse du polymorphisme d'expression des gènes liés à l'X sont des méthodes qui tendent à disparaître au profit de la recherche de la mutation JAK2V617F.

MOTS-CLÉS

Syndromes myéloprolifératifs (SMP) bcr/abl-négatifs, thrombocytoses, thrombocytémie essentielle (TE), diagnostic biologique, myélogramme, mutation JAK2V617F

Current biological diagnosis in essential thrombocytemia

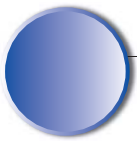
SUMMARY

How to define and therefore diagnose a bcr/abl-negative myeloproliferative disorder (MPD) ? That's the major issue that has been asked for the last 40 years about essential thrombocytemia (ET) whose diagnosis is difficult because of the absence of specific molecular abnormality.

The diagnosis of this MPD is based on the association of a great number of clinical and biological criteria developed by the PVSG in the 1970s. These criteria were reviewed in 1997 by Scott Murphy and by the WHO in 2001. Indeed, a certain number of tests must be carried out in order to confirm the clonality of this pathology. According to these criteria, the diagnosis of ET must be done in 2 stages : we must first eliminate a thrombocytosis linked to an iron deficiency, an inflammatory, infectious or tumoral process. Next, we must exclude the other types of MPD and more rarely some myelodysplastic syndromes (MDS).

A bone marrow aspirate is essential for the diagnosis of MPD. Indeed, it permits a qualitative and quantitative cytological analysis of bone marrow. The detailed analysis of megakaryocyte morphology allows the elimination of

¹ Laboratoire de biopathologie - département d'hématologie cellulaire - Institut Paoli-Calmettes - 232 Boulevard Sainte Marguerite - 13009 MARSEILLE



secondary thrombocytosis, the rare cases of MDS with thrombocytosis and also, more often, the other MPD. Bone marrow biopsy (BOM) finds its maximum utility in the diagnosis of idiopathic myelofibrosis but it is an invasive test. Even if the clonality is confirmed, it is difficult to determine the exact type of MPD.

What are the technical means used in specialised laboratories?

- Recently, an acquired mutation (V617F) in the pseudo-kinases domain of JAK2 tyrosine kinase was shown in 50% of ET (and 80-97% of polycythemia vera). With this discovery, important progress is being made in the understanding of the physiopathology and the perspective therapies of MPD.

- The karyotype and the presence of erythropoietin-independent erythroid colonies are tests that are frequently carried out whereas the studies of X chromosome inactivation patterns are methods which are tending to disappear in favor of JAK2V617F mutation screening.

KEYWORDS

Bcr/abl-negative Myeloproliferative disorders (MPD), thrombocytosis, essential thrombocythemia (ET), biological diagnosis, bone marrow aspirate, JAK2V617F mutation.

I - Introduction

Décrite pour la première fois il y a 70 ans, la TE n'est pas une maladie rare puisqu'elle touche en France chaque année 2,6 habitants sur 100000. Cette fréquence est proche de celle de la polyglobulie primitive (1,5 à 2,4 cas pour 100000 habitants), la LMC et la MFI (myélofibrose idiopathique) étant plus rares (1 cas sur 100000 et 0,7 cas sur 100000 respectivement).

La TE est plus fréquente chez la femme, le début de la maladie étant souvent précoce avec un pic de fréquence vers 30 ans.

C'est une affection chronique pendant près de 10 à 20 ans. Au diagnostic, 47% des patients sont asymptomatiques et leur espérance de vie n'est pas modifiée par cette pathologie sauf en cas d'antécédents thrombotiques ou vasculaires. Le risque de thromboses augmente après 60 ans et une thrombocytose supérieure à 1 500 G/L augmente le risque hémorragique.

À 15 ans du diagnostic, la probabilité de développer une myélofibrose est de 15% (6) et la transformation spontanée en leucémie aiguë est très rare ; toutefois les traitements tels que l'hydroxyurée et les alkylants augmentent le risque d'acutisation (3,5 à 5% et 15% respectivement).

II – Les critères diagnostiques OMS de la thrombocytémie essentielle

1. Les critères positifs

L'élévation durable du chiffre de plaquettes (> 600 G/L) sur deux numérations séparées d'au moins 1 mois ainsi que la réalisation de l'analyse médullaire (myélogramme et biopsie ostéo médullaire (BOM)) montrant une hyperplasie surtout mégacaryocytaire et une dystrophie des mégacaryocytes permettent d'affirmer le diagnostic de TE.

2. Les critères négatifs

Il est indispensable d'éliminer les causes d'hyperplaquetose secondaire (carence martiale, syndrome inflammatoire clinique ou biologique, cancer, hémolyse chronique compensée, régénération médullaire, asplénie).

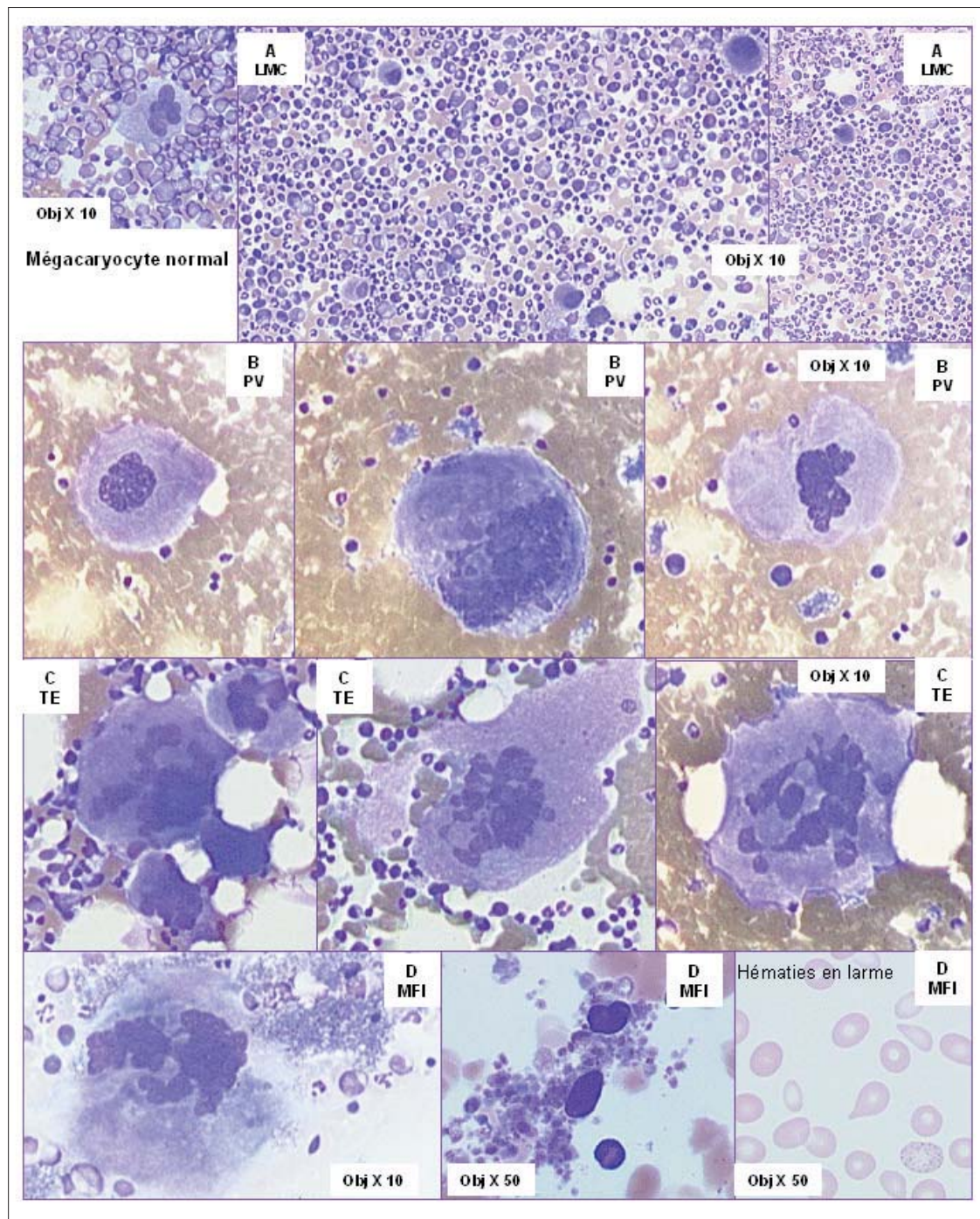
De même, les hyperplaquetoses primitives non liées à la TE doivent être écartées ; ainsi, il faudra éliminer une polyglobulie primitive (Hb < 18,5 g/dL chez l'homme et Hb < 16,5 g/dL chez la femme ou volume globulaire total par méthode isotopique < 125% / à la normale soit < 36 mL/kg chez l'homme et < 32 mL/kg chez la femme ou Hte < 50%). L'absence de chromosome Philadelphie et de transcrite de fusion bcr-abl permet d'écarter le diagnostic de LMC. L'absence de splénomégalie, d'érythromyélocytémie, de fibrose réticulinique même minime ou de fibrose collagène sur BOM élimine une myélofibrose primitive. Enfin, il faut également éliminer un syndrome myélodysplasique associé à une hyperplaquetose (absence 5q-, t(3;3)(q21;q26), inv(3)(q21;q26)).

III – Le diagnostic biologique de thrombocytémie essentielle

1. Rôle majeur de l'analyse cytologique

L'analyse médullaire est indispensable au diagnostic des SMP et permet le diagnostic différentiel entre les différentes formes classiques de SMP. En effet, l'hyperplasie mégacaryocytaire et sa dystrophie permettent d'affirmer l'origine primitive de la prolifération et de conclure à un SMP. De plus, l'analyse qualitative des mégacaryocytes permet généralement d'éliminer les thrombocytoses secondaires ainsi que les autres syndromes myéloprolifératifs et/ou myélodysplasiques.

Dans la TE, on décrit un gigantisme des mégacaryocytes avec des noyaux d'aspect pluri segmenté ou pluri lobulé en « corne de cerf ». Dans la polyglobulie primitive (ou polycythemia vera : PV), les

**Figure 1**

Analyse qualitative des mégacaryocytes au myélogramme dans les SMP.

A/LMC: Petits mégacaryocytes à noyau rond ; B/PV: Mégacaryocytes de grande taille mais polymorphisme ; C/TE: Gigantisme des mégacaryocytes, aspect en « corne de cerf » des noyaux ; D/MFI: Gigantisme des mégacaryocytes associé à la présence de petits noyaux pycnotiques.

mégacaryocytes sont de grande taille avec toutefois un certain polymorphisme. Concernant la LMC, les mégacaryocytes sont de petite taille et présentent un noyau rond. Dans les cas de myélofibrose au stade préfibrotique, l'association de mégacaryocytes géants et de petits noyaux pycnotiques au sein d'amas de plaquettes est caractéristique (figure 1).

L'étude anatomopathologique de la biopsie ostéo-médullaire trouve son utilité maximale dans la mise en évidence de la myélofibrose primitive et retrouve les mêmes particularités morphologiques des mégacaryocytes.

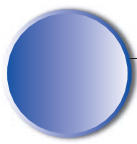
Si l'analyse cytologique du myélogramme est une étape obligatoire et capitale pour le diagnostic de TE, la mise en évidence de la clonalité peut être une aide au diagnostic.

2. Recherche de la mutation JAK2^{V617F}

La présence d'une mutation somatique récurrente impliquant l'exon 12 du gène JAK2 (janus kinase 2) conduisant à la substitution de la valine par la phénylalanine en position 617 (V617F) dans le domaine pseudokinase de la tyrosine kinase JAK2 a été récemment rapportée.

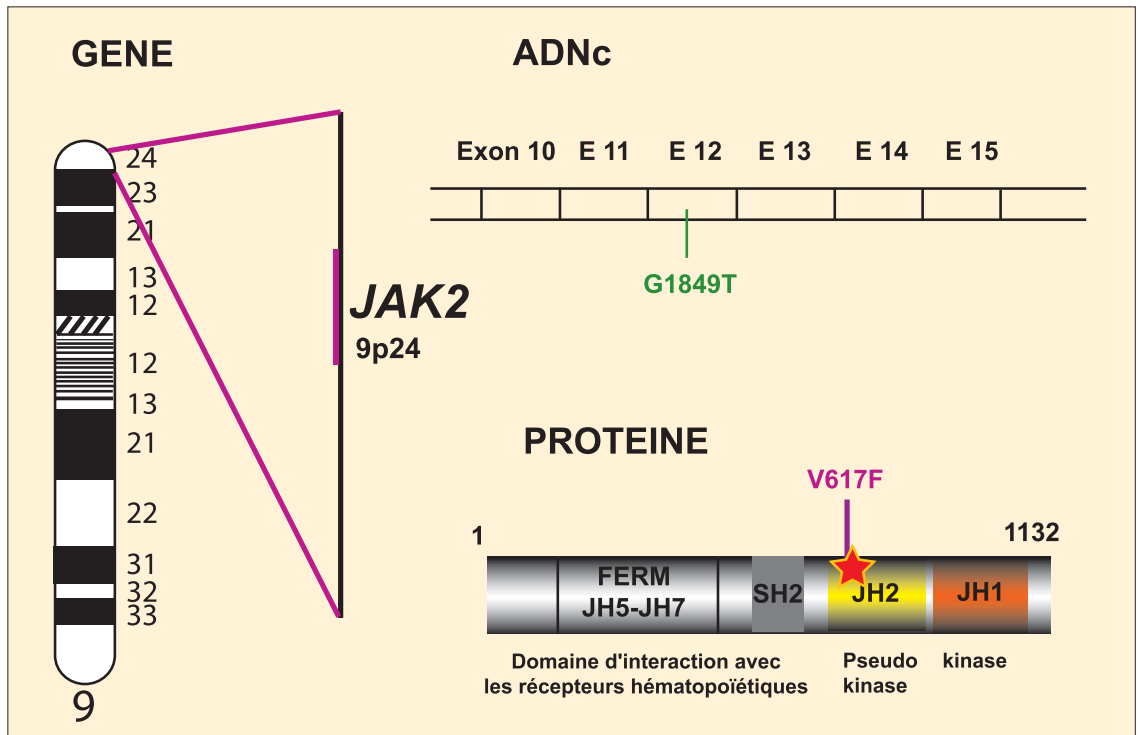
JAK2 est une protéine tyrosine kinase ayant un rôle clé dans la transduction du signal médiée par les récepteurs membranaires des facteurs de croissance hématopoïétiques et des cytokines : erythropoïétine (EPO), thrombopoïétine (TPO), hormone de croissance, prolactine, IL3, IL5, granulocyte macrophage colony stimulating factor (GM-CSF).

Un changement structural du domaine pseudokinase



COLLOQUE DU SNBH 2005

Figure 2
Mutation JAK2V617F.



(JH2) serait responsable de l'activation constitutive de l'activité kinase de JAK2 (figure 2). L'autophosphorylation de JAK2 favoriserait la voie JAK2/STAT5 mais également les voies PI3K et MAPK via les récepteurs membranaires des cytokines tels que les récepteurs de l'EPO, de la TPO et du granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) (7). La conséquence de l'activation constitutive de ces voies de signalisation est une survie et une prolifération cellulaire non-contrôlée.

Une haute fréquence de mutation est décrite chez les patients atteints de PV (65-97%), mais également chez ceux atteints de TE (23-57%), de MFI (35-50%) (3-5,

8-12) de mastocytose systémique (0-25%), de leucémie chronique à neutrophiles (17-33%), de leucémie myéломocyttaire chronique (3-20%), de syndrome d'hyperéosinophilie essentielle (0-2%) et de syndrome myélodysplasique (SMD) (5%) (11, 12). A ce jour, la mutation n'est décrite ni chez les sujets sains ni dans les SMP ayant une autre altération moléculaire telles que BCR-ABL (LMC) ou impliquant PDGFR α et PDGFR β (SMP avec hyperéosinophilie) (9).

Cette mutation peut être présente à l'état homozygote ou hétérozygote. L'homozygotie est plus rare chez les patients atteints de TE (tableau I) et serait

	Thrombocytémie essentielle			Polyglobulie primitive			MEYLOFIBROSE PRIMITIVE		
	Total mutés	HomoZ	HétéroZ	Total mutés	HomoZ	HétéroZ	Total mutés	HomoZ	HétéroZ
James et al., Nature 2005 - (4)	9/21 43 %			40/45 89%			3/7 50%		
Levine et al., Cancer cell 2005 - (7)	37/115 32%	3%	29%	121/164 74%	25%	49%	16/46 38%	9%	26%
Baxter et al., The Lancet 2005 - (3)	29/51 41%			71/73 97%	26%	71%	8/16 50%		
Jones et al., Blood 2005 - (9)	24/59 41%			58/72 81%			14/35 43%		
Zhao et al., J. Biol. Chem. 2005 - (12)	20/24 83%								
Kralovics et al., NEJM 2005 - (22)	21/93 23%			83/128 65%	27%	38%	13/23 57%	22%	35%
Antonioli et al., Leukemia 2005 - (8)	74/130 57%								
Tefferi et al., Br. J. Haematol. 2005 - (16)							80/157 51%	5,7%	45,2%
Wolanskyj et al., Br. J. Haematol. 2005 - (15)	73/150 49%	0%	49%						
MOYENNE	287/643 45%			373/482 77%			134/284 47%		

Tableau I
Prévalence de la mutation JAK2V617F dans les SMP Ph négatifs : analyse par séquençage et/ou PCR [14;108].

Actualités biologiques dans la thrombocytémie essentielle

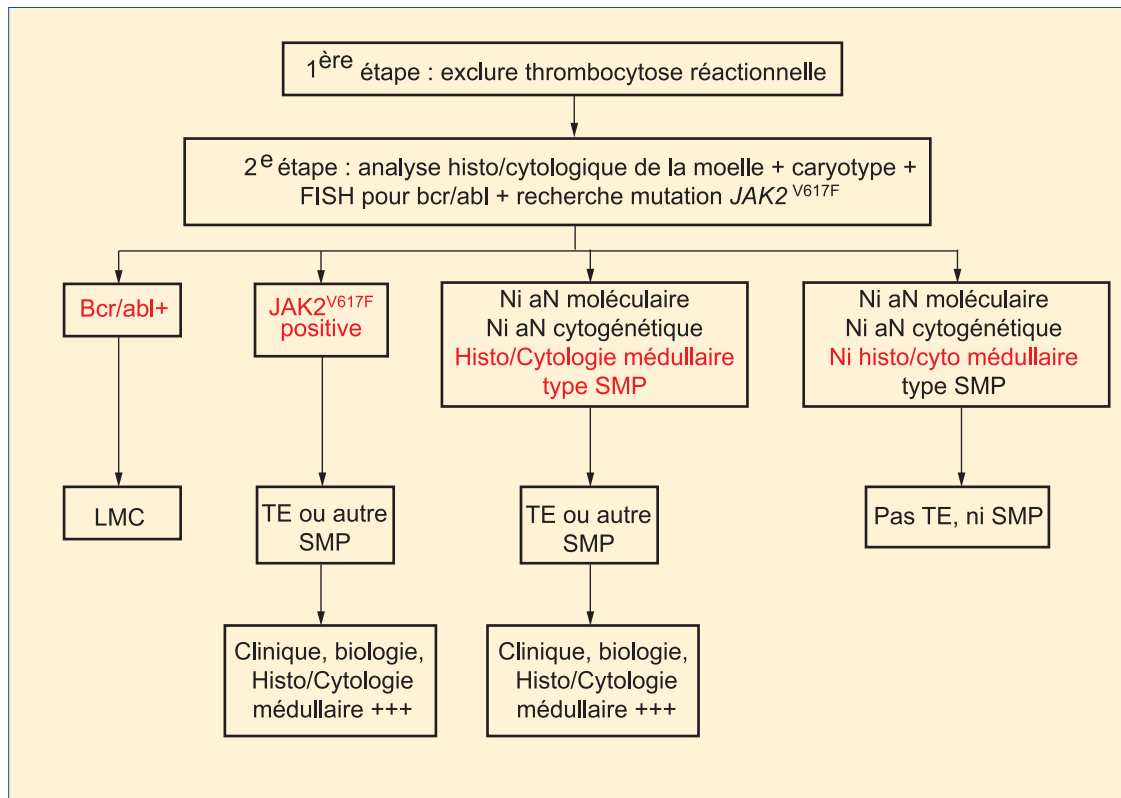


Figure 3
Algorithme diagnostique pour la thrombocytémie essentielle. (adapté d'après (16)).

plus fréquente à distance du diagnostic. L'homozygotie pourrait avoir un rôle dans la progression de la maladie car dans des cellules co-transfectées avec JAK2 sauvage et JAK2 muté à un ratio 1:1, il n'y a plus d'activation constitutive de STAT5.

JAK2 sauvage agit donc comme un dominant négatif et sa perte confère un fort avantage prolifératif (4).

En pratique la recherche de mutation s'effectue par séquençage à partir de l'ADN des polynucléaires neutrophiles (après récupération du culot obtenu par réalisation d'un ficoll) ; toutefois, la sensibilité de la méthode est de 5 à 10% alors que la mise en évidence par des techniques de PCR allèle spécifique, comme par exemple l'ARMS-PCR (Amplification Refractory Mutation System-PCR), abaisse le seuil de sensibilité entre 1 et 2% (3, 9).

La recherche de la mutation par la technique de Reverse Transcriptase-PCR (RT-PCR) est également pratiquée par certains laboratoires en France. Dans les cas de TE négatives, la recherche devrait se faire sur l'ARN des plaquettes.

La mutation JAK2^{V617F} n'aurait pas de signification pronostique (5, 8, 13) mais serait un événement spécifique à la lignée érythroïde. En effet, au diagnostic, les patients atteints de TE porteurs de la mutation, ont des taux d'Hb et de leucocytes plus élevés et une hyperplaquettose moins marquée que les patients atteints de TE sans la mutation (8, 14, 15). Ces patients ont un phénotype proche de la PV et constituent une entité distincte de ceux atteints de TE non mutés. De plus, les patients atteints de TE avec mutation évoluent plus fréquemment vers une PV (9,6% versus 1,3% ; p=0,02) (3, 15). Confirmant cette hypothèse, une étude chez

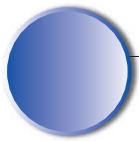
157 patients ayant une myélofibrose idiopathique *de novo* (117 cas), post-polyglobulie (22 cas) et post-thrombocytémie (18 cas) montre que la mutation est plus fréquente dans les cas de myélofibrose post-polyglobulie (91%) comparée aux cas de myélofibrose idiopathique *de novo* (45,3%) et post-thrombocytémie (38,9%) (16).

De plus, les patients atteints de TE porteurs de la mutation ont une meilleure réponse au traitement en terme de contrôle du taux de plaquettes (14, 15). Selon une étude portant sur 806 cas de TE, le taux de thromboses veineuses est plus élevé dans le groupe de patients mutés. Dans ce cas la présence de la mutation est corrélée à une meilleure réponse au traitement par hydroxyurée en terme de diminution du nombre de plaquettes, du nombre de globules blancs et du taux d'hémoglobine (17). Un tel effet n'a pas été décrit chez les patients traités par l'anagrélide (17).

A ce jour, il est difficile de savoir si cette mutation est à l'origine de la pathologie ou si elle représente un événement secondaire ; toutefois la transplantation chez la souris de cellules médullaires portant la mutation de JAK2^{V617F} est suffisante pour augmenter l'érythropoïèse.

Il semble que physiopathologie soit différente en fonction de la présence ou non de cette mutation. Les TE mutées sont à distinguer des TE non mutées et à rapprocher des PV ; les TE et PV mutées formeraient donc un continuum les rapprochant au sein d'une classification moléculaire.

Il est donc important de rechercher la mutation JAK2^{V617F} dans les SMP Ph1 négatif dans un but diagnostique : éliminer une origine secondaire,



réaliser une stratification des SMP et surtout dans un but thérapeutique : ciblage moléculaire (*figure 3*, voir page précédente).

3. Le caryotype

La mise en évidence d'une population clonale peut être approchée par l'étude du caryotype. La fréquence des anomalies caryotypiques augmente avec l'âge ; elles sont présentes chez 5 à 10% des TE au diagnostic et chez 30% des patients en cours d'évolution. A ce jour, il n'a pas été décrit d'anomalie chromosomique spécifique de la TE (18) (*tableau II*).

Anomalies chromosomiques	PV	MFI	TE
Délétion 20q	8,4	7,1	0,2
Délétion 13q	3,0	6,3	0,7
Trisomie 8	6,9	5,0	0,9
Trisomie 9	6,6	1,0	0,2
Trisomie 1q	3,6	3,5	0
Délétion 7q ou -7	0,9	3,8	0
Délétion 5q ou -5	3,2	1,5	0
% patients avec une ou plusieurs anomalies	33,7	39,5	5
Nombre total de patients	534	397	456

Tableau II

Fréquence des anomalies cytogénétiques dans les SMP Ph1 négatifs au diagnostic et en cours d'évolution. (adapté d'après (18))

4. Etude de la pousse spontanée des progéniteurs hématopoïétiques

Il est possible de réaliser une culture des progéniteurs hématopoïétiques médullaires ou circulants afin de mettre en évidence une pousse spontanée (en l'absence de facteurs de croissance spécifiques) des progéniteurs érythroïdes et mégacaryocytaires.

Lorsque les progéniteurs érythroïdes (BFU-E = Burst Forming Unit Erythroid) sont capables de se développer en l'absence de facteur de croissance, on parle de colonies érythroïdes endogènes (EEC). L'existence d'EEC fait partie des critères diagnostiques de la PV. La pousse spontanée des précurseurs érythroïdes est décrite dans la majorité des PV et dans 50% des TE, ce qui les distingue des polyglobulies secondaires et héréditaires ainsi que des thrombocytoses secondaires (19).

La pousse spontanée des précurseurs mégacaryocytaires (CFU-MK) a été mise en évidence dans la TE mais est peu utilisée en pratique car la technique est délicate et manque de reproductibilité (18,

20). De plus, la pousse de ces progéniteurs dans les thrombocytoses réactionnelles n'a pratiquement pas été étudiée (21).

5. Etude de l'inactivation des gènes portés par le chromosome X

Cette technique a longtemps été utilisée pour montrer le caractère clonal. Elle est basée sur le fait que toutes les cellules ont un seul chromosome X actif. Une population monoclonale est composée de cellules ayant soit l'X actif de la mère, soit l'X actif du père alors qu'une population polyclonale est composée d'un mélange de cellules avec l'X du père et de cellules avec l'X de la mère.

La monoclonalité est prouvée chez 70% des patients ayant un SMP non Ph1 par analyse du polymorphisme d'expression des granuleux et des plaquettes en comparaison avec les lymphocytes T (considérés comme étant polyclonaux) (18).

Cette technique présente des limites car elle est utilisable uniquement chez la femme de moins de 60 ans (un âge arbitraire). En effet 25 à 50% des femmes âgées ayant une hématopoïèse normale ont une population granuleuse monoclonale (18). De plus, il est difficile de mettre en évidence une clonalité dans un bruit de fond polyclonal.

Cependant, la mise en évidence de la clonalité aurait un intérêt pronostique car dans les TE monoclonales le risque de thrombose serait plus élevé (20).

IV - A la recherche d'anomalies protéiques

Au cours de ces dernières années un certain nombre de marqueurs moléculaires a été proposé pour améliorer le diagnostic des SMP et plus particulièrement celui de la TE.

Quelles sont les techniques employées pour l'étude de ces marqueurs et ces derniers ont-ils à ce jour, un intérêt diagnostique et/ou pronostique?

Bon nombre de ces marqueurs se sont avérés positifs dans la TE mais aussi dans les SMP tels que la polyglobulie primitive et la myélofibrose idiopathique.

La recherche d'anomalies protéiques en lien avec les lignées érythrocytaires et mégacaryocytaires, des anomalies des récepteurs pour l'EPO et la TPO (MPL ou "myeloproliferative leukemia virus oncogene") a été effectuée. Aucune mutation concernant ces récepteurs n'a été décrite dans les SMP sporadiques alors que de rares cas de thrombocytoses familiales ont des mutations du gène de la TPO et de rares cas de polyglobulies héréditaires ont des mutations dans le gène codant pour le récepteur de l'EPO.

a) Il a été rapporté que l'expression de la protéine MPL est diminuée à la surface des plaquettes et des mégacaryocytes dans 30% des PV (7 cas/23),

Actualités biologiques dans la thrombocytémie essentielle

	Thrombocytémie essentielle	Polyglobulie primitive	MEYLOFIBROSE PRIMITIVE	CELLULES
Antonoli et al., Leukemia 2005 - (8)	37% (44 cas/119)			Polyneuro (PNN)
Tefferi et al., Neoplasia 2005	21% (3 cas/14) Traitement ???	83% (25 cas /30)	42% (5 cas/12) ATCD histoire PV	PNN
Vannucchi et al., Br. J. Haematol. 2004 - (30)	32% (28 cas/87) Pas de CT 6 mois avant			PNN
Greisshammer et al., Ann Hematol 2004 - (24)	50% (15 cas/30)			PNN
Florensa et al., Blood 2004 - (24)	59% (10 cas/17)	91% (10 cas/11)		PNN
Liu et al., Blood 2003 - (27)	17 % (2 cas/12) 58% traités par HU	69% (9 cas/13)		PNN
Kralovics et al., Neoplasia 2003	67% (10 cas/15)	91% (21 cas/23)	67 % (4 cas/6)	PNN
Johansson et al., Br. J. Haematol. 2003 - (26)	24% (17 cas/70)			Cellules mononuclées
Teofili et al., J. Clin. Oncol. 2002 - (29)	100% (21 cas)	94% (35cas/37)	0% (0 cas/5)	PNN

Tableau III
Surexpression du
transcrit PRV1 dans
les SMP Ph1 négatifs.

40% des TE (6 cas/15) et 67% des MFI (4 cas/6) (22) et une étude plus récente montre que l'expression de la protéine est diminuée dans 73% des TE (50 cas / 68) (8).

La diminution de MPL serait la conséquence du taux élevé de TPO observé chez ces patients (à la différence des taux de granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) et d'EPO qui sont abaissés dans la LMC et la PV). Il y aurait diminution de la transcription et/ou instabilité de l'ARN.

L'étude de l'expression de la protéine MPL se fait par des techniques de cytométrie en flux ou d'immunohistochimie.

b) La surexpression de PRV1 (Polycythemia rubra vera 1) a été mise en évidence dans certains SMP. Ce gène code pour un récepteur de surface du polynucléaire, membre de la famille Ly-6, et cible d'auto-anticorps dirigés contre les polynucléaires (23). Cette protéine est désormais appelée CD177.

La surexpression du gène PRV1 a été rapportée suivant les études (8, 22, 24-30), dans 70 à 95% des PV et dans 40 à 100% des TE (tableau III) au moyen des techniques de RT-PCR quantitative en temps réel (RQ-PCR). Les différences entre les études peuvent s'expliquer par **i)** la différence du type de cellules étudiées (polynucléaires, cellules mononuclées totales, sang total), mais aussi **ii)** comme pour toute technique de RQ-PCR par le choix des amorces, sondes et gènes de référence et enfin **iii)** par la détermination d'un cut-off puisqu'en pratique de routine il est nécessaire de définir une zone de normalité avec un seuil au-delà duquel la valeur

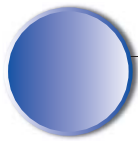
sera considérée comme normale ou élevée. Afin de comparer les études, une standardisation est donc indispensable.

Les sujets sains et les patients présentant une thrombocytose ou une polyglobulie secondaire ne surexpriment pas PRV1. Cependant PRV1 est augmenté dans les leucocytoses post-chirurgicales ou post-traumatiques et chez les patients sous G-CSF laissant suggérer que la surexpression de PRV1 est la conséquence d'une stimulation en amont dont le ou les acteurs ne sont pas connus à ce jour.

Ces deux marqueurs (MPL et PRV1) ont un intérêt pronostique (25, 31). En terme de diagnostic, ils permettent uniquement d'écartier une thrombocytose d'origine secondaire.

V – Conclusion

La découverte récente de la mutation de JAK2 est un atout majeur dans le diagnostic et la stratification des SMP. Concernant les TE, nous constatons une hétérogénéité des patients au sein de cette pathologie. La présence de cette mutation dans les TE (50 à 75% des cas selon les études) ouvre des perspectives en terme de suivi de la maladie résiduelle. En effet, des études en cours semblent montrer que l'interféron pégylé utilisé dans les PV permet l'obtention d'une rémission moléculaire par diminution de moitié du taux de JAK2^{V617F}. Malgré l'absence de consensus thérapeutique, les traitements actuels de la TE peuvent être schéma-



tiquement divisés en trois catégories ; tout d'abord les traitements anti-agrégants plaquettaires, c'est à dire l'aspirine à faible dose. Son rôle favorable est suspecté mais il n'existe aucune preuve de son intérêt dans le traitement de la TE. Ensuite, les traitements cytoréducteurs « classiques », hydroxyurée (HU) et pipobroman. Pour les patients ayant une indication thérapeutique claire, l'HU est le médicament de référence actuel. Enfin, les agents

les plus récents et dont l'intérêt majeur réside dans une probable absence d'effet leucémogène au long cours, sont l'interféron alpha et l'anagrélide. Concernant l'anagrélide, les premiers résultats rapportés par Green et al., sont peu favorables (32). Enfin tous les espoirs sont permis en ce qui concerne la mise à disposition d'un inhibiteur spécifique de JAK2 (AG490, siRNA), à l'image de l'imatinib utilisé dans le traitement de la LMC.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) MURPHY S., PETERSON P., ILAND H., LASZLO J. Experience of the Polycythemia Vera Study Group with essential thrombocythemia: a final report on diagnostic criteria, survival, and leukemic transition by treatment. *Semin. Hematol.*, 1997, 34, 29-39.
- (2) THIELE J., KVASNICKA HM. Chronic myeloproliferative disorders. The new WHO classification]. *Pathologie*, 2001, 22, 429-443.
- (3) BAXTER EJ, SCOTT LM, CAMPBELL PJ, et al. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. *Lancet*, 2005, 365, 1054-1061.
- (4) JAMES C., UGO V., LE COUEDIC JP, et al. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera. *Nature*, 2005, 434, 1144-1148.
- (5) LEVINE RL, WADLEIGH M., COOLS J., et al. Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis. *Cancer Cell*, 2005, 7, 387-397.
- (6) CERVANTES F., ALVAREZ-LARRAN A., TALARN C., GOMEZ M., MONTSERAT E. Myelofibrosis with myeloid metaplasia following essential thrombocythemia: actuarial probability, presenting characteristics and evolution in a series of 195 patients. *Br. J. Haematol.*, 2002, 118, 786-790.
- (7) LU X., LEVINE R., TONG W., et al. Expression of a homodimeric type I cytokine receptor is required for JAK2V617F-mediated transformation. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2005, 102, 18962-18967.
- (8) ANTONIOLI E., GUGLIELMELLI P., PANCRACCI A., et al. Clinical implications of the JAK2 V617F mutation in essential thrombocythemia. *Leukemia*, 2005, 19, 1847-1849.
- (9) JONES AV, KREIL S., ZOI K., et al. Widespread occurrence of the JAK2 V617F mutation in chronic myeloproliferative disorders. *Blood*, 2005, 106, 2162-2168.
- (10) KRALOVICS R., PASSAMONTI F., BUSER AS, et al. A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. *N. Engl. J. Med.*, 2005, 352, 1779-1790.
- (11) STEENSMA DP, DEWALD GW, LASHO TL, et al. The JAK2 V617F activating tyrosine kinase mutation is an infrequent event in both "atypical" myeloproliferative disorders and myelodysplastic syndromes. *Blood*, 2005, 106, 1207-1209.
- (12) ZHAO R., XING S., LI Z., et al. Identification of an acquired JAK2 mutation in polycythemia vera. *J. Biol. Chem.*, 2005, 280, 22788-22792.
- (13) LEVINE RL, LORLAUX M., HUNTLY BJ, et al. The JAK2V617F activating mutation occurs in chronic myelomonocytic leukemia and acute myeloid leukemia, but not in acute lymphoblastic leukemia or chronic lymphocytic leukemia. *Blood*, 2005, 106, 3377-3379.
- (14) SCOTT LM, CAMPBELL PJ, BAXTER EJ, et al. The V617F JAK2 mutation is uncommon in cancers and in myeloid malignancies other than the classic myeloproliferative disorders. *Blood*, 2005, 106, 2920-2921.
- (15) WOLANSKYJ AP, LASHO TL, SCHWAGER SM, et al. JAK2 mutation in essential thrombocythemia: clinical associations and long-term prognostic relevance. *Br. J. Haematol.*, 2005, 131, 208-213.
- (16) TEFFERI A., LASHO TL, SCHWAGER SM, et al. The JAK2 tyrosine kinase mutation in myelofibrosis with myeloid metaplasia: lineage specificity and clinical correlates. *Br. J. Haematol.*, 2005, 131, 320-328.
- (17) CAMPBELL PJ, SCOTT LM, BUCK G., et al. Definition of subtypes of essential thrombocythemia and relation to polycythaemia vera based on JAK2 V617F mutation status: a prospective study. *Lancet*, 2005, 366, 1945-1953.
- (18) BENCH AJ, CROSS NC, HUNTLY BJ, NACHEVA EP, GREEN AR. Myeloproliferative disorders. *Best Pract. Res. Clin. Haematol.*, 2001, 14, 531-551.
- (19) SKODA RC. Chronic myeloproliferative disorders: molecular markers and pathogenesis. *Hematol. J.*, 2004, 5 Suppl 3, S122-S125.
- (20) GALE RE. Basic sciences of the myeloproliferative diseases: pathogenic mechanisms of ET and PV. *Int. J. Hematol.*, 2002, 76, Suppl 2, 305-310.
- (21) BRIERE J., GUILMIN F. Management of patients with essential thrombocythemia: current concepts and perspectives. *Pathol. Biol. (Paris)*, 2001, 49, 178-183.
- (22) KRALOVICS R., BUSER AS, TEO SS, et al. Comparison of molecular markers in a cohort of patients with chronic myeloproliferative disorders. *Blood*, 2003, 102, 1869-1871.
- (23) TEMERINAC S., KLIPPEL S., STRUNCK E., et al. Cloning of PRV-1, a novel member of the uPAR receptor superfamily, which is overexpressed in polycythemia rubra vera. *Blood*, 2000 95, 2569-2576.
- (24) FLORENSA L., BESSES C., ZAMORA L., et al. Endogenous erythroid and megakaryocytic circulating progenitors, HUMARA clonality assay, and PRV-1 expression are useful tools for diagnosis of polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Blood*, 2004, 103, 2427-2428.
- (25) GRIESSHAMMER M., KLIPPEL S., STRUNCK E., et al. PRV-1 mRNA expression discriminates two types of essential thrombocythemia. *Ann. Hematol.*, 2004, 83, 364-370.
- (26) JOHANSSON P., RICKSTEN A., WENNSTROM L., PALMQVIST L., KUTTI J., ANDREASSON B. Increased risk for vascular complications in PRV-1 positive patients with essential thrombocythemia. *Br. J. Haematol.*, 2003, 123, 513-516.
- (27) LIU E., JELINEK J., PASTORE YD, GUAN Y., PRCHAL JF, PRCHAL JT. Discrimination of polycythemia and thrombocytoses by novel, simple, accurate clonality assays and comparison with PRV-1 expression and BFU-E response to erythropoietin. *Blood*, 2003, 101, 3294-3301.
- (28) TEFFERI A., LASHO TL, WOLANSKYJ AP, MESA RA. Neutrophil PRV-1 expression across the chronic myeloproliferative disorders and in secondary or spurious polycythemia. *Blood*, 2004, 103, 3547-3548.
- (29) TEOFILI L., MARTINI M., LUONGO M., et al. Overexpression of the polycythemia rubra vera-1 gene in essential thrombocythemia. *J. Clin. Oncol.*, 2002, 20, 4249-4254.
- (30) VANNUCCHI AM, GROSSI A., PANCRACCI A., et al. PRV-1, erythroid colonies and platelet Mpl are unrelated to thrombosis in essential thrombocythemia. *Br. J. Haematol.*, 2004, 127, 214-219.
- (31) BOCK O., SCHLUE J., MENGEL M., BUSCHE G., SERINSOZ E., KREIPE H. Thrombopoietin receptor (Mpl) expression by megakaryocytes in myeloproliferative disorders. *J. Pathol.*, 2004, 203, 609-615.
- (32) GREEN AR, VASSILIOU GS, CURTIN N., CAMPBELL PJ. Management of the myeloproliferative disorders : distinguishing data from dogma. *Hematol. J.*, 2004, 5, Suppl 3:S126-S132.