

**THESE  
POUR LE DIPLOME D'ETAT  
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**Soutenu publiquement le 4 Avril 2016  
Par M. Fouad HOUAMRIA**

**Directeur de thèse : Dr Madjid TAGZIRT**

---

**MALADIE DE VAQUEZ, DECOUVERTE D'UN CAS A L'OFFICINE, ETAT  
DES LIEUX, THERAPEUTIQUES ET PERSPECTIVES**

---

**Membres du jury :**

**Président :** Madame le Pr Annabelle DUPONT, Professeur des Universités,  
Laboratoire d'Hématologie, Faculté de Pharmacie de Lille

**Assesseur :** Monsieur le Dr Madjid TAGZIRT, Maître de Conférences, Laboratoire  
d'Hématologie, Faculté de Pharmacie de Lille

**Membre(s) extérieur(s) :** Monsieur Oussama AZROU, pharmacien d'officine



## Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE  
CEDEX

☎ 03.20.96.40.40 - 📠 : 03.20.96.43.64



### Université Lille 2 – Droit et Santé

Président :  
Vice- présidents :

Professeur Xavier VANDENDRIESSCHE  
Professeur Alain DUROCHER  
Professeur Régis BORDET  
Professeur Eric KERCKHOVE  
Professeur Eric BOULANGER  
Professeur Frédéric LOBEZ  
Professeur Damien CUNY  
Professeur Benoit DEPRez  
Professeur Murielle GARCIN  
Monsieur Pierre RAVAUX  
Monsieur Larbi AIT-HENNANI  
Monsieur Antoine HENRY

Directeur Général des Services :

Monsieur Pierre-Marie ROBERT

### Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Doyen :  
Vice-Doyen, 1<sup>er</sup> assesseur :  
Assesseur en charge de la pédagogie  
Assesseur en charge de la recherche  
Assesseur délégué à la scolarité  
Assesseur délégué en charge des  
relations internationales  
Assesseur délégué en charge de la vie étudiante

Professeur Damien CUNY  
Professeur Bertrand DECAUDIN  
Dr. Annie Standaert  
Pr. Patricia Melnyk  
Dr. Christophe Bochu  
  
Pr. Philippe Chavatte  
M. Thomas Morgenroth

Chef des services administratifs :

Monsieur Cyrille PORTA

### Liste des Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie
Mme	CAPRON	Monique	Immunologie
M.	DECAUDIN	Bertrand	Pharmacie Galénique
M.	DINE	Thierry	Pharmacie clinique
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie
M.	DUTHILLEUL	Patrick	Hématologie
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie
M.	LUYCKX	Michel	Pharmacie clinique
M.	ODOU	Pascal	Pharmacie Galénique
M.	DEPREUX	Patrick	Chimie Organique (ICPAL)

## Liste des Professeurs des Universités

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Physique
M.	BERTHELOT	Pascal	Chimie Thérapeutique 1
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie – Pharmacie clinique
M.	CHAVATTE	Philippe	Chimie Thérapeutique 2
M.	COURTECUISSÉ	Régis	Sciences végétales et fongiques
M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Physique
M.	DEPREZ	Benoît	Chimie Générale
Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie Générale
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences végétales et fongiques
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie
Mme	GAYÔT	Anne	Pharmacotechnie Industrielle
M.	GOOSSENS	Jean François	Chimie Analytique
Mme	GRAS	Hélène	Chimie Thérapeutique 3
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie Cellulaire
M.	LUC	Gerald	Physiologie
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie thérapeutique 2
Mme	MUHR – TAILLEUX	Anne	Biochimie
Mme	PAUMELLE-LESTRELIN	Réjane	Biologie Cellulaire
Mme	PERROY – MAILLOLS	Anne Catherine	Droit et déontologie pharmaceutique
Mme	ROMOND	Marie Bénédicte	Bactériologie
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie
M.	SERGHERAERT	Eric	Droit et déontologie pharmaceutique
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie Industrielle
M.	STAELS	Bart	Biologie Cellulaire
M	TARTAR	André	Chimie Organique
M.	VACCHER	Claude	Chimie Analytique
M.	WILLAND	Nicolas	Chimie organique
M.	MILLET	Régis	Chimie Thérapeutique (ICPAL)

## Liste des Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	BALDUYCK	Malika	Biochimie
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie
M.	LANNOY	Damien	Pharmacie Galénique
Mme	ODOU	Marie Françoise	Bactériologie
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacie Galénique

## Liste des Maîtres de Conférences

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	AGOURIDAS	Laurence	Chimie thérapeutique 2
Mme	ALIOUAT	Cécile Marie	Parasitologie (90%)
M.	ANTHERIEU	Sébastien	Toxicologie
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie
Mme	BANTUBUNGI	Kadiombo	Biologie cellulaire
Mme	BARTHELEMY	Christine	Pharmacie Galénique

Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie
M	BELARBI	Karim	Pharmacologie
M.	BERTHET	Jérôme	Physique
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle
M.	BOCHU	Christophe	Physique
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie
Mme	CACHERA	Claude	Biochimie
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie
Mme	CARON	Sandrine	Biologie cellulaire (80%)
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie (80%)
Mme	CHARTON	Julie	Chimie Organique (80%)
M	CHEVALIER	Dany	Toxicologie
M.	COCHELARD	Dominique	Biomathématiques
Mme	DANEL	Cécile	Chimie Analytique
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie (80%)
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire
M.	FARCE	Amaury	Chimie Thérapeutique 2
Mme	FLIPO	Marion	Chimie Organique
Mme	FOULON	Catherine	Chimie Analytique
M.	GELEZ	Philippe	Biomathématiques
Mme	GENAY	Stéphanie	Pharmacologie Galénique
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie
Mme	HAMOUDI	Chérifa Mounira	Pharmacotechnie industrielle
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie
M.	KAMBIA	Kpakpaga Nicolas	Pharmacologie
M.	KARROUT	Youness	Pharmacotechnie Industrielle
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique 1
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie Analytique
Mme	LEHMANN	Hélène	Droit et Economie Pharmaceutique
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie Analytique
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie
M.	MOREAU	Pierre Arthur	Sciences végétales et fongiques
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle
Mme	NEUT	Christel	Bactériologie
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques
M.	PIVA	Frank	Biochimie
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques
Mme	RIVIERE	Céline	Pharmacognosie
Mme	ROGER	Nadine	Immunologie
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie Industrielle
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie
M.	WELTI	Stéphane	Sciences végétales et fongiques
M.	YOUS	Saïd	Chimie Thérapeutique 1
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques

M.	FURMAN	Christophe	Pharmacobiochimie (ICPAL)
Mme	GOOSSENS	Laurence	Chimie Organique (ICPAL)
Mme	LELEU-CHAVAIN	Natascha	ICPAL

### Professeurs Agrégés

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	MAYES	Martine	Anglais
M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et déontologie pharmaceutique

### Professeurs Certifiés

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	HUGES	Dominique	Anglais
Mlle	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

### Professeur Associé - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	DHANANI	Alban	Droit et Déontologie Pharmaceutique

### Maîtres de Conférences ASSOCIES - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	BERTOUX	Elisabeth	Pharmacie Clinique - Biomathématiques
M.	BRICOTEAU	Didier	Biomathématiques
M.	CUCCHI	Malgorzata	Information Médicale
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacie Clinique
M.	GILLOT	François	Droit et Economie Pharmaceutique
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacie Clinique
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques

### AHU

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	DEKYNDT	Bérangère	Pharmacie Galénique
Mme	PEREZ	Maxime	Pharmacie Galénique

## ***Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille***

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX  
Tel. : 03.20.96.40.40 - Télécopie : 03.20.96.43.64  
<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

**L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs.**

# Remerciements

*Je souhaite remercier en premier lieu mes proches pour leur soutien inconditionnel tout au long de ce travail. Je tiens aussi à remercier ceux que l'on oublie bien souvent et à qui reviennent de droit une grande partie des mérites de l'étudiant en cours ou en fin d'études. Il s'agit de l'ensemble du personnel de la faculté de pharmacie de Lille qu'ils soient enseignants, personnel administratif, ou œuvrant dans d'autres services pour leur travail de tous les jours. Si on honore la science, on se doit d'honorer les nobles transmetteurs du savoir.*

*De la même manière, je remercie le corps professoral de l'Université de Valencia en Espagne au sein de laquelle j'ai eu la chance d'étudier une année de mon cursus universitaire.*

*Je remercie Madame le Professeur Dupont qui a accepté de présider mon jury aujourd'hui.*

*Je remercie le Docteur Tagzirt pour son implication concernée, la pertinence de ses recommandations et orientation ainsi que son perfectionnisme tout au long de ce travail de thèse.*

*Je remercie Monsieur Azrou, pharmacien d'officine qui a pris sur son temps de congés pour m'honorer par sa présence dans mon jury.*

*Le tableau ne serait pas complet si j'omettais de remercier ma famille, ma mère, mon père, ma belle-famille, mes beaux-frères dont Sofiane, mon beau père el hadj Tahar, mes amis Ibrahim, Amine, Djilali, Rachid, Sébastien, Amer, Mohamed, Redouane, mes frères Fidin et Farouk ainsi que bien d'autres encore pour leur soutien amical et fraternel.*

*Je remercie mon épouse Ikrame pour son soutien indéfectible tout au long de mes études ainsi que pour la rédaction de ma thèse. Ça n'a pas dû être tous les jours facile de me permettre de me consacrer entièrement à ma thèse.*

*Je ne vais pas oublier de remercier ma petite fille Noor-Imane qui a su me divertir l'esprit par ses rires rayonnants, sa joie de vivre, ses tourbillons d'espièglerie. Tu as su me donner la force morale de parachever ce long travail de thèse. Tu n'as pas encore l'âge de lire ces mots mais c'est un témoignage que je souhaite te dédier ici. Enfin, « at last but not least », je remercie Celui par qui les choses sont rendues possibles.*

# Table des matières

Glossaire .....	11
Liste des figures .....	13
Introduction.....	14
1 Rappels d'hématologie.....	16
1.1 L'hématopoïèse et ses compartiments.....	16
1.1.1 Les cellules souches hématopoïétiques (CSH) .....	16
1.1.2 Les progéniteurs.....	17
1.1.3 Les précurseurs.....	17
1.1.4 Les cellules matures.....	17
1.2 L'érythropoïèse.....	18
1.3 Régulation de l'érythropoïèse, normoxie, hypoxie, et acteurs de l'érythropoïèse .....	21
1.3.1 HIF1 et HIF2 (Hypoxia Inducible Factor) .....	22
1.3.2 L'érythropoïétine (EPO) et le récepteur à l'EPO (EPOR).....	24
1.3.3 SCF (Stem Cell Factor) et son récepteur c-Kit .....	27
1.3.4 Synergie d'action du SCF et de l'EPO pendant l'érythropoïèse.....	28
2 Physiopathologie et place de la PV au sein des néoplasies myéloprolifératives .....	29
2.1 Les néoplasies myéloprolifératives chroniques (NMP).....	29
2.2 Etiopathogénie et bases moléculaires des néoplasies myéloprolifératives Ph(-) 30	
2.2.1 Historique de la découverte des NMP .....	30
2.2.2 Les NMP Ph(-), JAK2 et la voie JAK/STAT .....	31
2.2.3 La voie de signalisation MAPK .....	40
2.2.4 Description de la voie de signalisation PI3K/AKT .....	42
2.2.5 Relation génotype-phénotype: une mutation pour trois phénotypes ..	43
3 Clinique de la PV et des néoplasies myéloprolifératives .....	47
3.1 Les complications cardiovasculaires .....	47
3.1.1 Thrombose .....	47
3.1.2 Hémorragies .....	52
3.2 Etiopathogénie de la thrombose dans la PV et les autres NMP .....	53
3.2.1 Rôle des plaquettes dans la pathogénie des thromboses chez le sujet atteint de NMP .....	53
3.2.2 Rôle des leucocytes dans la pathogénie des thromboses chez le sujet atteint de NMP .....	57

3.2.3	Rôle de l'hématocrite dans la pathogénie des thromboses chez le sujet atteint de NMP .....	59
3.3	Implications de la charge allélique de JAK2V617F dans le profil clinique des NMP .....	60
3.3.1	Homozygotes Vs hétérozygotes pour la mutation JAK2V617F .....	60
3.3.2	Quantification de l'allèle muté JAK2V617F et implications cliniques .....	61
3.4	Evolution d'une TE en PV .....	62
3.5	Progression de la PV en myélofibrose .....	62
3.6	Transformation en leucémique myéloïde aiguë (LMA) .....	65
3.7	Diagnostic de PV selon les critères 2008 de l'OMS .....	65
3.8	Diagnostic différentiel de PV .....	66
3.8.1	Les fausses polyglobulies .....	66
3.8.2	Les polyglobulies secondaires .....	67
3.8.3	Orientation du diagnostic de polyglobulie en fonction du taux sérique d'érythropoïétine .....	68
3.9	PV et TE, caractéristiques communes et divergences .....	69
4	Traitements actuels et futurs de la PV .....	71
4.1	Hygiène de vie .....	71
4.2	Traitements médicamenteux .....	71
4.2.1	Traitement pour les patients présentant un faible risque de thrombose : saignée et aspirine à faible dose .....	73
4.2.2	Traitement pour les patients présentant un risque important de thrombose ou pour les patients à faible risque mais dont les symptômes ne semblent pas contrôlés .....	75
4.2.3	Cas particuliers de la myélofibrose : traitement par greffe allogénique de cellules souches hématopoïétiques (CSH).....	81
4.2.4	Résumé des traitements actuels de la PV .....	81
4.2.5	PV et traitement de la femme enceinte .....	83
4.2.6	Cas des patients dont la PV est insuffisamment contrôlée .....	83
4.2.7	Les molécules actuellement en phase de recherche clinique pour le traitement de la PV.....	84
4.2.8	Reprogrammation épigénétique hématopoïétique, greffe de CSH cellule et PV .....	87
5	C as clinique de Monsieur N. ....	90
5.1	Histoire de la découverte de la maladie .....	90
5.2	Prise en charge médicale de Monsieur N. et diagnostic de la maladie posé 90	
5.2.1	Hématologie.....	91
5.2.2	Biochimie .....	91
5.2.3	Anomalies de l'hémogramme .....	91
5.2.4	L'hémogramme conforte-t-il le diagnostic de PV ? .....	92
5.2.5	Traitement mis en place .....	94

5.3	Résultats du test de recherche de la mutation et établissement du traitement de Monsieur N.....	95
5.4	Premiers suivis de la maladie.....	95
6	Etude prospective à l'officine.....	95
6.1	Résultats de l'étude.....	96
6.1.1	Profil des pharmaciens interrogés .....	96
6.1.2	Nombre de dispensations par mois de traitements chimiothérapeutiques oraux, connaissance de la pathologie des patients et nombre de patients atteints de PV.....	98
6.1.3	Définition de la PV, ses traitements et délivrance du médicament ..	101
6.2	Discussion et propositions pour améliorer la dispensation.....	106
6.2.1	Discussion .....	106
6.2.2	Propositions pour améliorer la dispensation tirées de l'étude et de l'expérience acquise en pratique officinale.....	107
	Conclusion.....	109
	Bibliographie.....	110
	Annexe 1 : enquête sur la maladie de Vaquez à l'officine .....	123

# Glossaire

ADN : acide désoxyribonucléique  
ANC : absolute neutrophil count

BFU-E : burst forming unit érythroïde

CFU-E : colony forming unit érythroïde  
CFU-GEMM colony forming Unit granulocytaire, erythroblastique, monocytaire, et mégacaryocytaire  
CFU-L colony forming unit lymphocytaire  
CSH : cellule souche hématopoïétique

ECLAP ( european collaboration on low-dose aspirin for polycythemia vera)  
EPO : érythropoïétine  
EPOR : récepteur à l'érythropoïétine

FIH-1 : factor inhibiting HIF1  
FT : facteur tissulaire

GAS : interferon gamma activated sequence  
G6PD : glucose 6 phosphate déshydrogénase

HIF : hypoxia inducible factor  
HIF-PHD : HIF-prolyl-hydroxylases  
HLA : human leukocyte antigen  
HRE : hypoxia response element  
HTA : hypertension artérielle  
HU : hydroxyurée

ICAM : InterCellular Adhesion Molecule  
ISRE : interferon stimulated response element

JAK : just another kinase, janus kinase

LDH : lactate déshydrogénase  
LMA : leucémie myéloïde aiguë  
LMC : leucémie myéloïde chronique  
LOH : loss of heterozygosity

MAPK : mitogen activated protein kinase  
MEP : megacaryocyte erythroid progenitor cell  
MCP : monocyte chemoattractant protein  
MP : myélofibrose primitive

NMP : néoplasie myéloproliférative

OMS : organisation mondiale de la santé

PCR : polymerase chain reaction  
PIAS : protein inhibitor of activated STAT

PI3K : phosphatidyl-inositol 3-OH kinase  
PIP2 : phosphatidylinositol 4,5 biphosphate  
PKB : protéine kinase B  
pVHL : protéine von Hippel-Lindau  
progéniteur E : progéniteur érythroblastique  
progéniteur MK : progéniteur mégacaryocytaire  
PV : polycythemia vera  
PTP : protein tyrosine phosphatase

RTK : récepteur à activité tyrosine kinase

SCF : stem cell factor  
SHP : small heterodimer partner  
SMP : syndrome myéloprolifératif  
SOCS : suppressors of cytokine signaling  
STAT : signal transducers and activators of transcription

TE : thrombocytémie essentielle  
TNF : facteur de nécrose tumorale  
TPO : thrombopoïétine

# Liste des figures

Figure 1 : schéma de l'hématopoïèse

Figure 2 : lignées érythrocytaires à partir du précurseur commun aux deux lignées érythrocytaire et mégacaryocytaire

Figure 3 : les cellules de la lignée érythrocytaire

Figure 4 : régulation de HIF à l'hypoxie, et activation en conséquence de gènes cibles dont le gène de l'EPO.

Figure 5 : structure tridimensionnelle de l'EPO

Figure 6 : variation de l'expression de l'EPO et de son récepteur EPOR selon les conditions du milieu

Figure 7 : la dépendance à l'EPO au cours de l'érythropoïèse

Figure 8 : synergie entre EPO et SCF pour la survie cellulaire

Figure 9 : la protéine JAK2

Figure 10 : structure tertiaire de JAK 2

Figure 11 : schéma du mécanisme physiologique de la voie JAK2/STAT5

Figure 12 : représentation schématique des mutations de JAK2

Figure 13: les protéines des voies MAPK

Figure 14: signalisation cellulaire par la protéine AKT

Figure 15 : mécanisme de perte d'hétérozygotie du chromosome 9 pour le gène de JAK2

Figure 16: l'haplotype 46/1

Figure 17 : schéma de principe de PFA-100

Figure 18: mécanisme d'interaction des plaquettes, neutrophiles et monocytes, et production de substances prothrombotiques

Figure 19 : l'IPSS-R (Revised International Prognostic Scoring System for Myelodysplastic Syndromes)

Figure 20 : critères révisés proposés par l'OMS pour le diagnostic de PV en 2008

Figure 21 : Illustration des cas de fausses polyglobulies

Figure 22 : Orientation diagnostique des polyglobulies vraies en fonction de la concentration sérique d'érythropoïétine

Figure 23: Critères révisés proposés par l'OMS pour le diagnostic de TE en 2008

Figure 24 : algorithme actuel de traitement de la PV

Figure 25 : définition de la résistance et de l'intolérance à l'hydroxyurée

Figure 26: résultats de l'étude de phase 3 de comparaison du traitement par le ruxolitinib avec la thérapie standard à l'HU chez des patients atteints de PV

Figure 27 : Critères de réponse au traitement pour la PV

Figure 28 : recommandations pour le traitement de la PV en cas de grossesse

Figure 29 : Signes cliniques permettant de mettre en évidence une intolérance ou une résistance à un traitement de la PV (adapté d'après Reiter Andreas et al. 2016)

Figure 30 : Développement théorique des CSH

# Introduction

Monsieur N., 62 ans, ancien employé à la retraite d'une entreprise de confection de fauteuils et de matelas, se présente à l'officine. Il souhaite la délivrance d'un antalgique pour les céphalées dont il se plaint depuis quelques semaines déjà accompagnées parfois de vertiges. Outre ces éléments, il est sujet aussi à de fortes démangeaisons au contact de l'eau. Monsieur N. est non-fumeur. Ce jour-ci, il semble présenter une érythrose cutanée au niveau de la face. Il a comme antécédent une hypertension artérielle (HTA) et une hypercholestérolémie toutes deux traitées depuis 4 ans. Consultant régulièrement son médecin généraliste, sa tension artérielle est bien équilibrée. Il déclare effectuer régulièrement de manière autonome la mesure de sa tension par un tensiomètre électronique au bras agréé par l'ANSM (Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé). Avant sa venue à l'officine, sa tension était au réveil dans la normale. L'ensemble de ce tableau évoquant une possible maladie de Vaquez ou polycythemia vera (PV), nous décidons de contacter le médecin de Monsieur N. qu'il n'a pas revu depuis le renouvellement de sa prescription il y a deux mois. Un rendez-vous avec son médecin est pris dans la journée, suite à quoi les examens recommandés permettront d'argumenter en faveur d'un diagnostic probable de PV. La PV fait partie des syndromes myéloprolifératifs (SMP). Les SMP sont des hémopathies malignes se caractérisant par la prolifération clonale de cellules myéloïdes. Parmi les SMP, on distingue quatre pathologies principales : la leucémie myéloïde chronique (LMC) d'un côté, et de l'autre la myélofibrose primitive (MP), la thrombocytémie essentielle (TE) et la polyglobulie de Vaquez (PV).

La LMC s'est depuis très longtemps distinguée des trois autres pathologies par la mise en évidence d'un marqueur biologique, le chromosome de Philadelphie issu de la translocation  $t(9;22)(q34;q11)$ . Le gène chimérique issu de ce remaniement code pour une protéine tyrosine kinase, la Bcr-Abl dont la fonction enzymatique devient constitutivement activée, perturbant alors de nombreuses voies de signalisation, à l'origine de la maladie.

Pour les trois autres pathologies, la science était dépourvue de tout marqueur biologique, jusqu'à la découverte en 2005 de la mutation JAK2 V617F.

Dans ce mémoire intitulé « Maladie de Vaquez, découverte d'un cas en officine, état

des lieux, thérapeutiques, et perspectives », après avoir effectué un rappel de l'hématopoïèse normale ainsi que les acteurs impliqués, nous tenterons de définir la maladie de Vaquez sur un plan physiopathologique, biologique et hématologique et la situer par rapport aux autres pathologies du même groupe. Nous recenserons ensuite les différentes approches thérapeutiques actuelles, pour ensuite établir les perspectives de traitements futurs possibles en nous basant sur les derniers éléments découverts et mis en exergue par la communauté scientifique.

Une fois la caractérisation de la maladie effectuée, nous évoquerons plus encore le cas de Monsieur N. ce qui nous permettra de mettre en relief les éléments ayant permis de confirmer son diagnostic et de comprendre la thérapeutique mise en place pour traiter sa PV.

Enfin, nous situerons la maladie de Vaquez dans la pratique officinale à l'aide d'une étude prospective réalisée auprès de 30 pharmaciens de la région Lilloise.

# **1 Rappels d'hématologie**

## **1.1 L'hématopoïèse et ses compartiments**

L'hématopoïèse est définie par l'ensemble des phénomènes qui concourent à la fabrication et au remplacement continu et régulé des cellules sanguines. Ces cellules vitales circulent dans le sang pour y assurer des fonctions de respiration (hématies), de fluidité plasmatique (plaquettes), de défense anti infectieuse et de maintenance des tissus (leucocytes). Le système hématopoïétique est probablement aujourd'hui le tissu de structure hiérarchique le plus étudié et le mieux compris. La production de cellules matures spécialisées se poursuit toute la vie afin de remplacer la perte de cellules qui sont éliminées en permanence. La synthèse cellulaire est de l'ordre de  $4 \times 10^{11}$  cellules par jour chez l'adulte normal. Cette quantité peut être amenée à augmenter selon les besoins suite à une pathologie (anémies hémolytiques), ou par nécessité fonctionnelle par exemple en cas de besoin accru en leucocytes lors d'infections, ou encore en cas d'hypoxie où le besoin accru en érythrocytes va se traduire par une augmentation de leur nombre. L'augmentation de la production cellulaire se fait de manière rapide, adéquate et peut se maintenir pendant une longue période de temps, voire toute la vie comme dans le cas des anémies hémolytiques chroniques.

L'hématopoïèse débute d'abord dans le sac vitellin. Alors que l'embryon se développe, la rate et le foie deviennent les principaux sites d'hématopoïèse pour ensuite migrer vers les os en développement. La moelle osseuse deviendra pendant la vie adulte le site principal de déroulement de l'hématopoïèse (Dexter, 1993).

Dans la moelle osseuse cohabitent des cellules précurseurs des différentes lignées de cellules sanguines ainsi que des cellules engagées dans leur différenciation à des stades de développement différents.

### **1.1.1 Les cellules souches hématopoïétiques (CSH)**

Les CSH sont des cellules non identifiables morphologiquement, elles représentent un faible pourcentage des cellules médullaires (0,01 à 0,05%). Elles sont dites multipotentes et ont un haut pouvoir de prolifération leur permettant d'assurer le renouvellement de toutes les lignées sanguines par différenciation. La CSH va donner naissance à deux lignées, une lignée lymphoïde et une lignée myéloïde.

### **1.1.2 Les progéniteurs**

Les progéniteurs sont des cellules qui vont se différencier sans se renouveler. Ils sont engagés dans une seule lignée cellulaire. La cellule souche hématopoïétique va donner naissance à une lignée lymphoïde et une lignée myéloïde. A ce deuxième niveau de différenciation, on obtient les progéniteurs CFU-GEMM (Colony Forming Unit Granulocytaire, Erythroblastique, Monocytaire, et Mégacaryocytaire), progéniteurs myéloïdes et les CFU-L (Colony Forming Unit Lymphocytaire), progéniteurs lymphoïdes.

La cellule lymphoïde va se différencier et donner les lymphocytes B et L. La cellule myéloïde CFU-GEMM va se différencier pour donner les cellules de la lignée granuleuse, érythroïde, mégacaryocytaire, et les macrophages.

### **1.1.3 Les précurseurs**

Au dernier stade de différenciation, les précurseurs sont des cellules morphologiquement identifiables. Ce sont des cellules en cours de maturation, avant leur passage dans le pool sanguin. De chaque précurseur sera issue une lignée sanguine distincte des autres. Les précurseurs ont perdu toute capacité d'autorenouvellement. On distingue parmi les précurseurs les plus immatures les myéloblastes à l'origine des polynucléaires, les proérythoblastes à l'origine des hématies, les mégacaryoblastes à l'origine des plaquettes, les lymphoblastes à l'origine des lymphocytes et les monoblastes à l'origine des monocytes.

### **1.1.4 Les cellules matures**

Elles sont issues de la différenciation des précurseurs que nous venons de mentionner.

Ces cellules ont atteint leur stade de différenciation terminal et peuvent jouer leur rôle au sein de l'organisme.

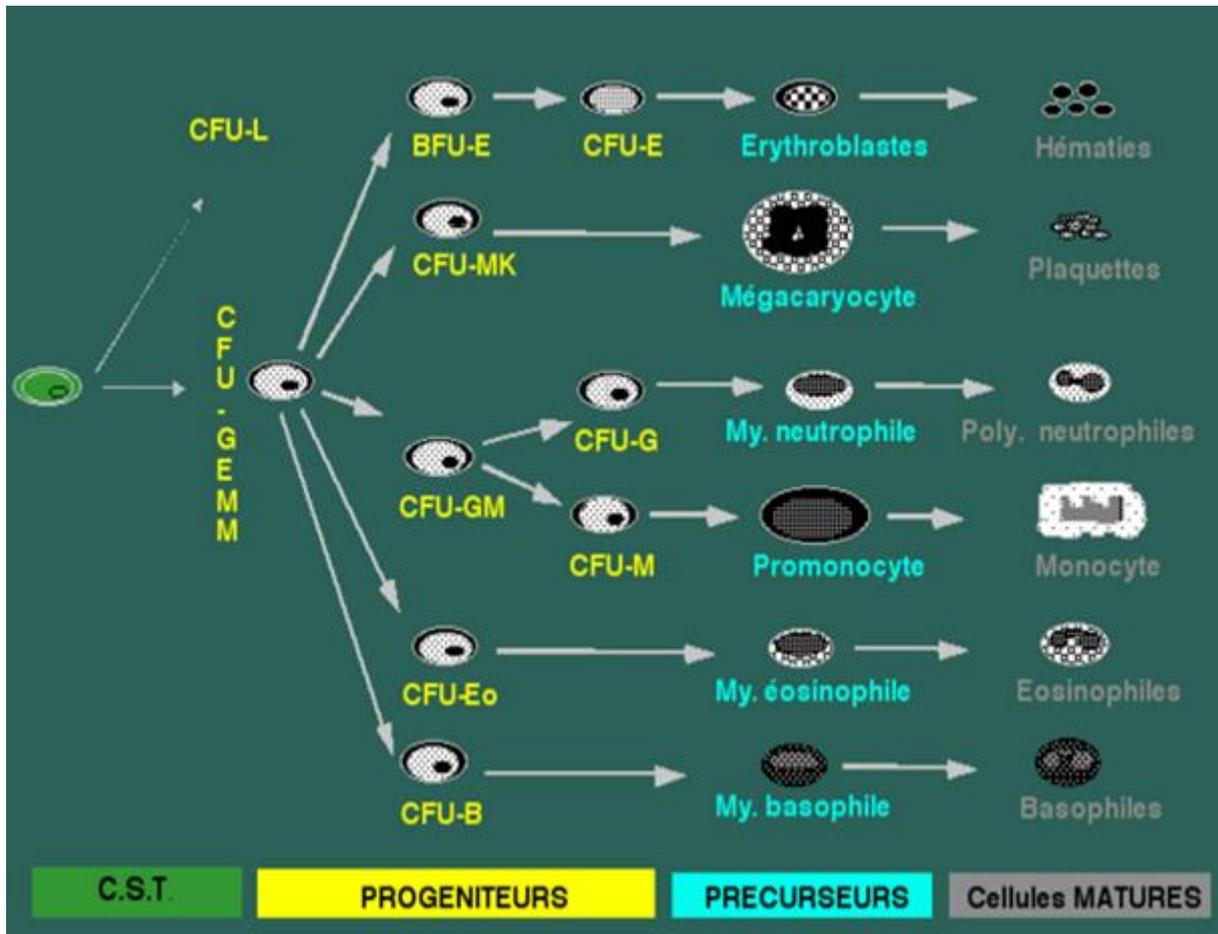


Figure 1 : schéma de l'hématopoïèse (d'après <http://fmc.med.univ-tours.fr/>)

## 1.2 L'érythropoïèse

Dans la moelle osseuse, un pool de cellules souches hématopoïétiques va donner naissance à une cellule souche myéloïde appelée CFU-GEMM (Colony Forming Unit Granulocytaire, Erythroblastique, Monocytaire, et Mégacaryocytaire).

La CFU-GEMM va se différencier ensuite en MEP (Megacaryocyte Erythroid Progenitor Cell) qui est un progéniteur commun érythroblastique et mégaryocytaire. Les progéniteurs issus du MEP sont le progéniteur E, progéniteur érythroblastique et le progéniteur MK, mégacaryocytaire (Klimchenko et al.2009).

Considérons la lignée érythroblastique. Dans un premier temps, on verra apparaître les BFU-E (Burst Forming Unit Erythroïde) puis les CFU-E (Colony Forming Unit Erythroïde).

Les précurseurs ne sont capables que de divisions avec différenciation tandis que les BFU-E et CFU-E sont capables d'expansion.

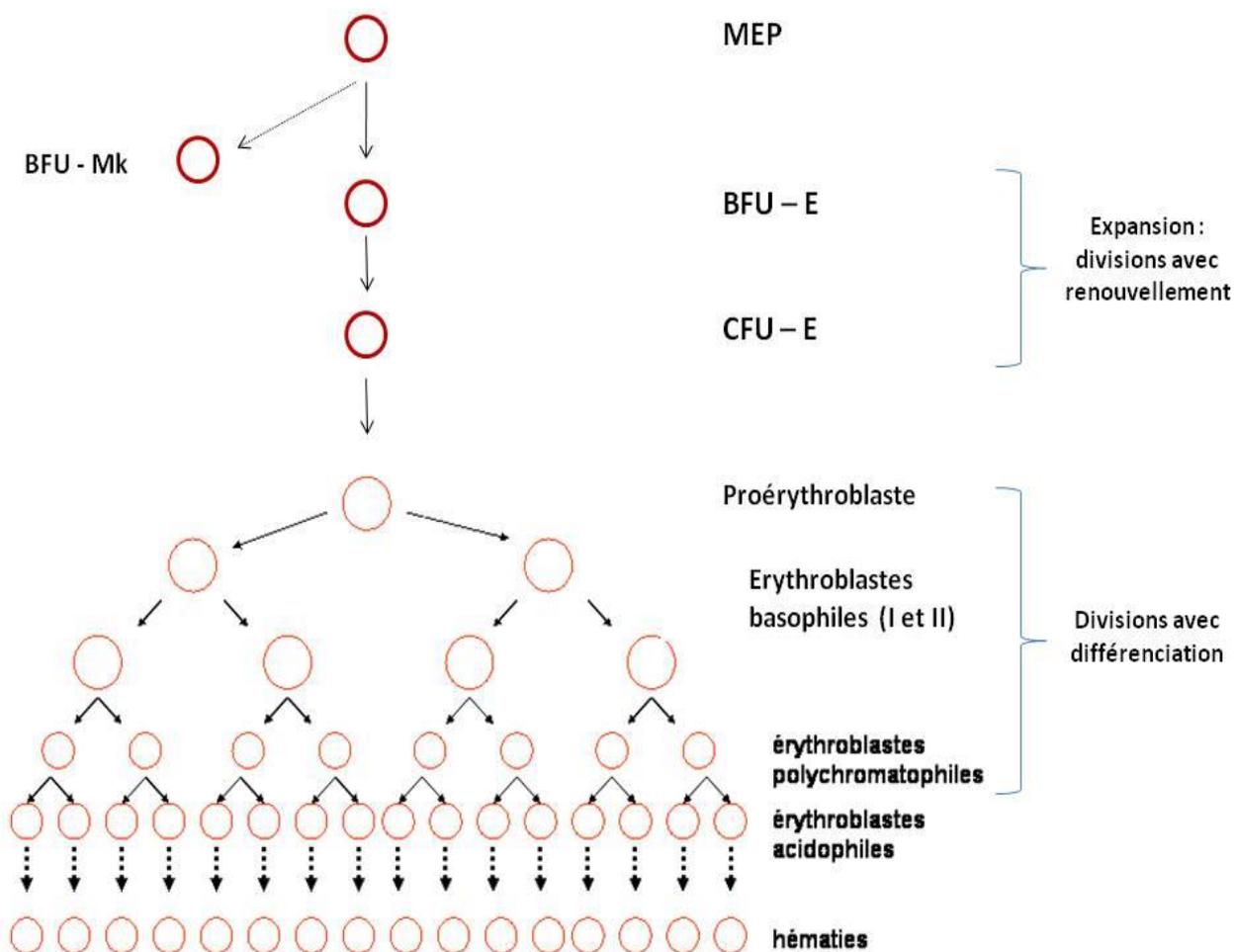


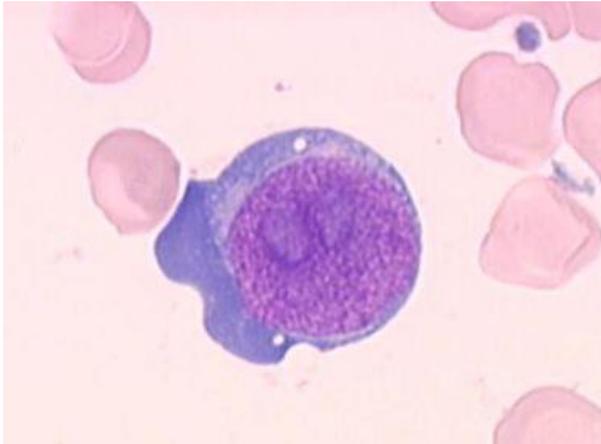
Figure 2 : Lignées érythrocytaires à partir du précurseur commun aux deux lignées érythrocytaire et mégacaryocytaire (d'après le laboratoire d'hématologie du CHU d'Angers)

Lors de la différenciation, on observe progressivement une réduction à la fois de la taille cellulaire et de la taille du noyau. Le noyau va rester de forme circulaire tout au long de la différenciation. Au sein de celui-ci, la chromatine va se condenser. L'hémoglobinisation progressive du cytoplasme va acidifier et masquer progressivement la basophilie cytoplasmique liée à l'ARN.

Les proérythroblastes sont les premiers précurseurs issus de la différenciation des CFU-E. Ils sont par leur morphologie identifiables.

Après 4 mitoses successives, ils donnent naissance en 5 à 7 jours aux réticulocytes qui évoluent en GR matures en 1-2 jours. Nous obtiendrons tout au long de la différenciation les proérythroblastes, les érythroblastes basophiles, les

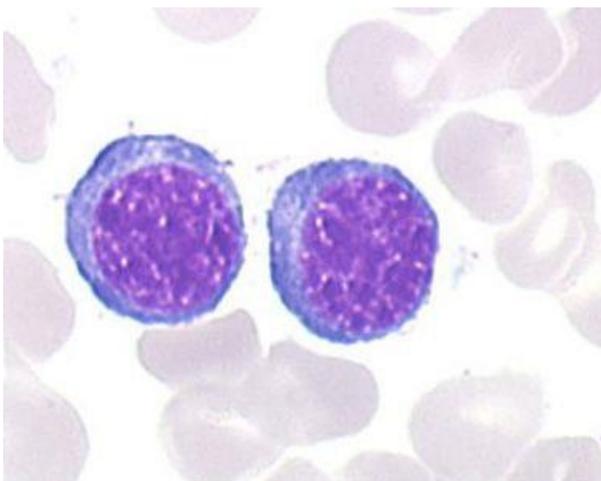
érythroblastes polychromatophiles, les érythroblastes acidophiles, et les réticulocytes.



**Proérythroblaste**

C'est une cellule arrondie qui mesure 20 à 30  $\mu\text{m}$  de diamètre

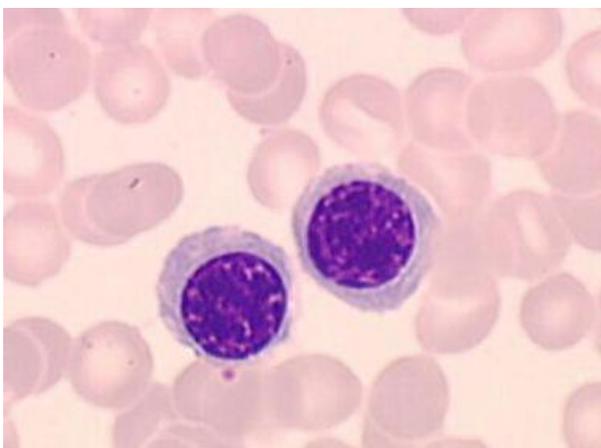
Le rapport nucléo cytoplasmique est élevé, le noyau est rond, la chromatine fine, et les nucléoles sont nettement perceptibles. Le cytoplasme bleu foncé atteste de la richesse en ARN.



**Erythroblaste basophile :**

Il mesure 15 à 18  $\mu\text{m}$ , il a un noyau rond la chromatine commence à se condenser à ce stade.

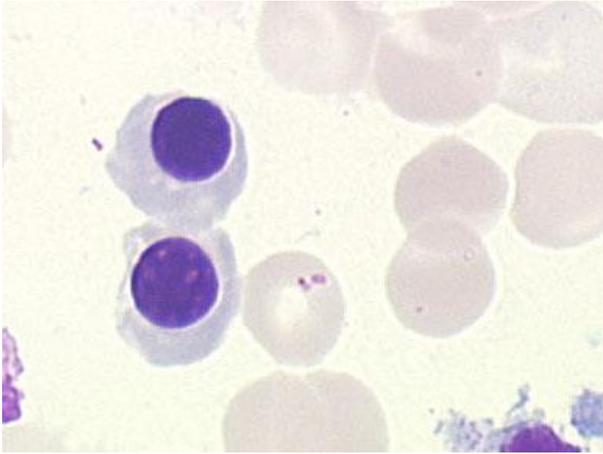
Le cytoplasme est à ce stade toujours basophile.



**Erythroblaste polychromatophile :**

Il mesure 15  $\mu\text{m}$ , son noyau est rond à la chromatine condensée.

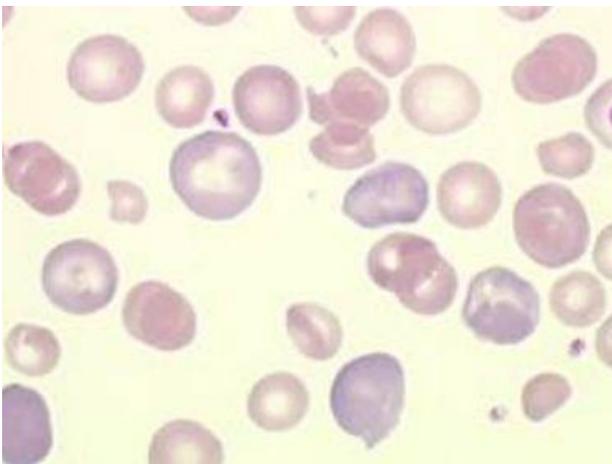
Le cytoplasme semble gris, ceci étant dû à la superposition du bleu de l'ARN et de l'orangé de l'hémoglobine.



### **Erythroblaste acidophile :**

Il s'agit d'une cellule de 10  $\mu\text{m}$  au noyau rond et dense. Le cytoplasme a quasiment la couleur d'une hématie.

Suite à la perte de son noyau, il devient un réticulocyte.



**Réticulocyte:** Une fois que l'érythroblaste acidophile expulse son noyau, on obtient le réticulocyte. (aspect de gros GR un peu bleuté).

Il reste dans la moelle 2 à 5 jours.

Il mesure 8  $\mu\text{m}$  de diamètre et un volume de 110 à 125 fL. Il est toujours muni de ribosomes et de mitochondries.

Une fois dans le sang, le réticulocyte évolue en globule rouge en diminuant de taille et en perdant l'ADN résiduel, ceci en 1 à 2 jours.

Figure 3 : les cellules de la lignée érythrocytaire observé sur un frottis médullaire (grossissement x1000) coloré au May-Grünwald Giemsa (MGG) (photographies d'après le laboratoire d'hématologie du CHU d'Angers)

## **1.3 Régulation de l'érythropoïèse, normoxie, hypoxie, et acteurs de l'érythropoïèse**

L'érythropoïèse joue un rôle majeur dans le transport de l'oxygène aux tissus périphériques. L'oxygène intervient dans sa régulation. Ce sont les états de normoxie et d'hypoxie qui influencent directement la production d'érythrocytes par l'intervention de divers acteurs parmi lesquels des cytokines, des récepteurs et des facteurs de transcription.

## 1.3.1 HIF1 et HIF2 (Hypoxia Inducible Factor)

### 1.3.1.1 Structure de HIF

Deux facteurs HIF-1 et HIF-2 (Hypoxia Inducible Factor) jouent un rôle prépondérant dans l'adaptation physiologique à l'hypoxie. Ce sont des hétérodimères composés de deux sous unités: une sous unité  $\alpha$  et une sous unité  $\beta$ . Les sous unités HIF1 $\alpha$  et HIF2 $\alpha$  sont réparties différemment dans le rein. La sélectivité et la complémentarité de la répartition de ces sous unités entraîne une distribution de HIF-1 $\alpha$  au sein des cellules tubulaires et HIF-2 $\alpha$  dans les cellules endothéliales et interstitielles périrubulaires du rein ainsi que dans les cellules glomérulaires.

### 1.3.1.2 Régulation de HIF

Ce sont les sous-unités  $\alpha$  HIF-1 $\alpha$  et HIF-2 $\alpha$  qui sont régulées par l'oxygène. Leur processus de régulation est similaire. En présence d'oxygène, deux résidus proline situés dans le domaine de dégradation de HIF $\alpha$  vont être hydroxylés grâce à l'intervention d'HIF- PHD (HIF prolyl-hydroxylase) dont trois isoformes ont été identifiées (V. N. Lafleur.2014). HIF $\alpha$  hydroxylée va se lier tout d'abord à la protéine von Hippel-Lindau suppresseur de tumeur (pVHL) permettant la reconnaissance de l'ensemble par le complexe E3-ubiquitine-ligase. Ce complexe va ensuite prendre la voie des protéasomes au sein desquels on assistera à la dégradation de HIF $\alpha$ . Lorsque la quantité d'oxygène disponible diminue et devient insuffisante pour hydroxyler HIF $\alpha$ , HIF $\alpha$  ne peut donc plus se lier au complexe ubiquitine-ligase. Evitant la voie de destruction protéasomale, elle va alors s'accumuler dans le cytoplasme, être transloquée dans le noyau cellulaire et se lier avec la sous-unité HIF $\beta$  aussi appelée ARNT (aryl hydrocarbon nuclear translocator) et des cofacteurs pour former un complexe fonctionnel, tel que le cofacteur CBP/p300 dont l'interaction avec HIF $\alpha$  est aussi régulée par la quantité d'oxygène ambiante et inhibée par la normoxie. L'hétérodimère HIF va ensuite se lier à ses gènes cibles et plus particulièrement à leur partie HRE, élément de réponse à l'hypoxie de ces gènes. La transcription de ces gènes peut donc débuter. Parmi ces derniers, on retrouve le gène de l'érythropoïétine (EPO) (E. Gothié et al. 2002).

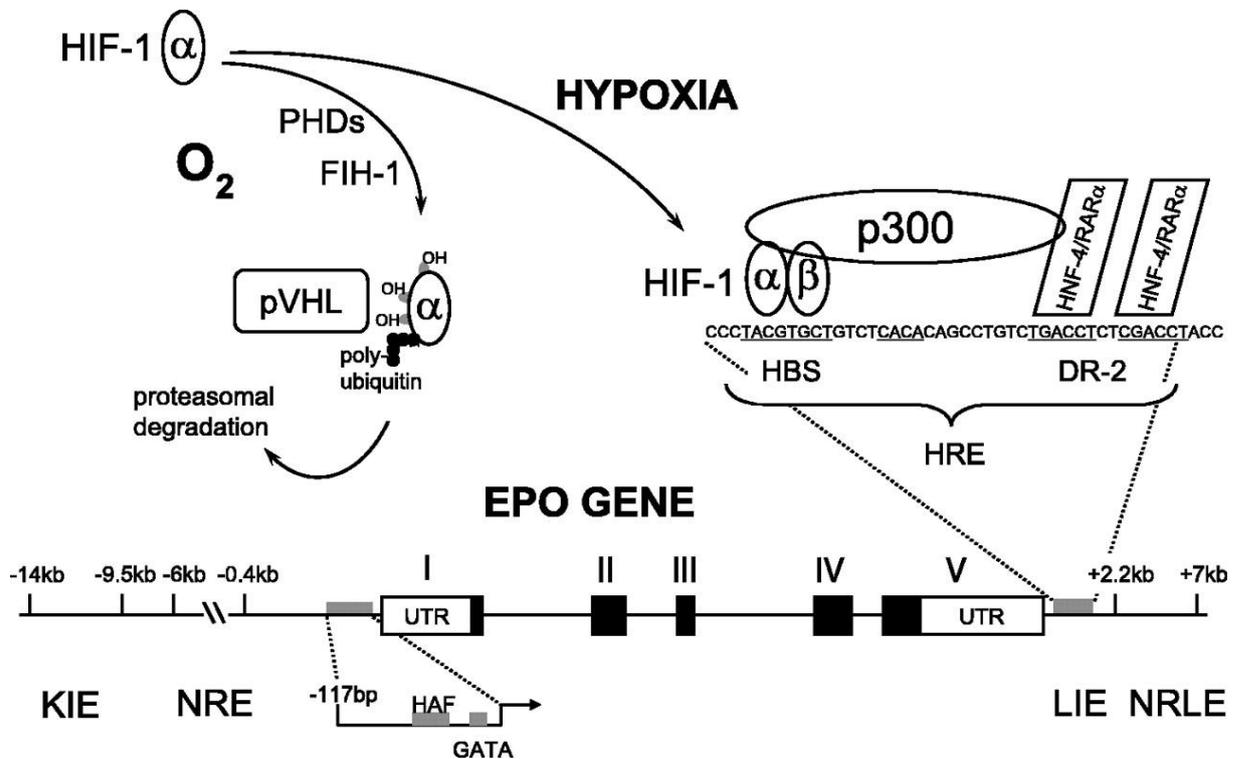


Figure 4 : régulation de HIF à l'hypoxie et activation en conséquence de gènes cibles dont le gène de l'EPO. Dans des conditions normoxiques en présence d'oxygène, HIF1 est hydroxylé au niveau de deux résidus de proline spécifiques ainsi qu'au niveau d'un résidu d'asparagine Asn803 par respectivement l'HIF prolyl-hydroxylases (HIF- PHD) et par le facteur d'inhibition de HIF1 (FIH-1). Une fois les hydroxyprolines hydroxylées reconnues par pVHL, ceci va permettre leur ubiquitinylation par le complexe E3-ubiquitine-ligase permettant la dégradation protéasomique. L'hydroxylation d'Asn 803 quant à elle empêche la liaison du cofacteur CBP/p300 à la partie COOH terminale de HIF-1 $\alpha$  et empêche de cette manière sa transcription.

Il est à noter que l'action de HIF- PHD tout comme de FIH-1 ne peut être possible qu'en présence d'oxygène.

En cas d'hypoxie, l'ensemble du processus précité ne peut se produire, permettant la transcription de gènes cibles dont celui de l'EPO (d'après Fandrey Joachim American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology Published 1 June 2004 Vol. 286 no. 6, R977-R988 DOI: 10.1152/ajpregu.00577.2003)

### 1.3.2 L'érythropoïétine (EPO) et le récepteur à l'EPO (EPOR)

Chez l'adulte, l'EPO est synthétisée dans les reins en réponse à l'hypoxie dans les fibroblastes interstitiels péri-tubulaires. Il s'agit d'une glycoprotéine de 165 acides aminés et d'une masse moléculaire d'environ 30 kDa. Sa principale action est de favoriser la survie, la prolifération et la différenciation des CFU-E dépendants de l'EPO et des érythroblastes n'ayant pas encore entamé la synthèse d'hémoglobine (E.Klein et al. 2009). C'est pourquoi l'EPO est aussi considéré comme facteur de survie des érythroblastes. Des souris knock out pour les gènes de l'EPO et du récepteur à l'EPO (EPOR) ne survivent pas in utero après le 13<sup>ème</sup> jour embryonnaire car l'érythropoïèse présentant d'importants dysfonctionnements ne peut arriver à terme (Kuhrt et al.2015).

Bien que les embryons aient normalement produit les BFU-E et CFU-E, ces progéniteurs érythroïdes ne parviennent pas à poursuivre la voie de différenciation qui doit les mener au stade finale d'érythrocytes. A ce stade, ce sont des signaux de mort cellulaire accrus qui sont en cause (Koury et al. 1990).

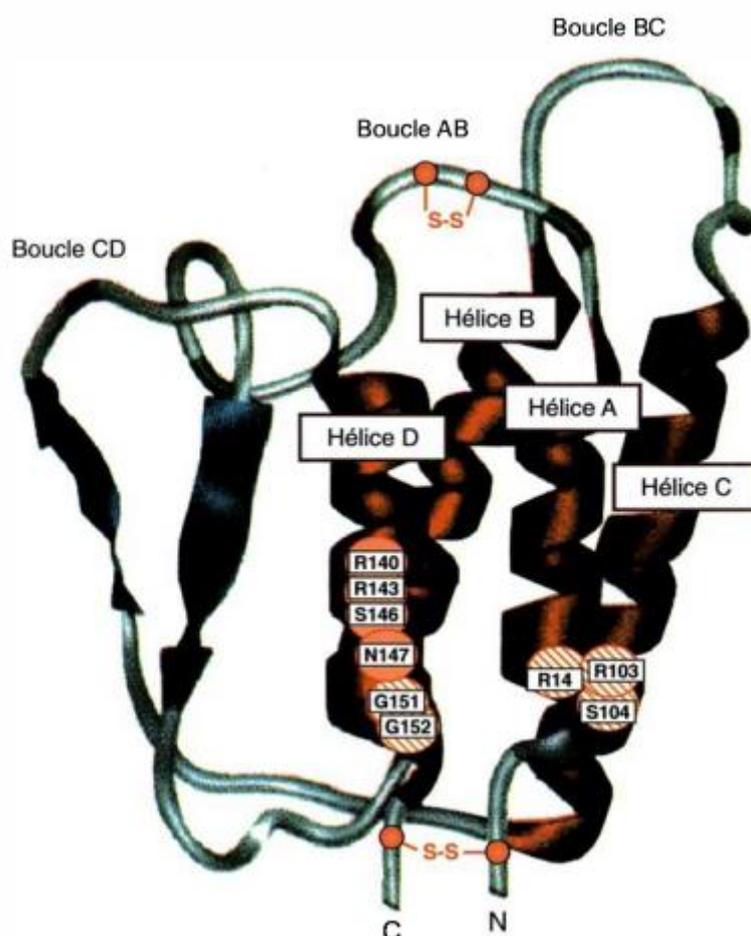


Figure 5 : Structure tridimensionnelle de l'EPO constituée de deux feuillets et quatre hélices reliées par boucles de raccordement. Les domaines fonctionnels importants pour l'interaction avec le récepteur sont représentés par les zones hachurées (Zuang et al.1994).

L'EPO dont les concentrations sériques sont de 10 à 25 mU/mL va exercer ses effets physiologiques dans les tissus hématopoïétiques principalement au niveau de l'érythropoïèse par la voie de signalisation JAK2/STAT5 que nous décrivons par la suite. L'EPO exerce aussi son activité dans les tissus non hématopoïétiques (Figure 6).

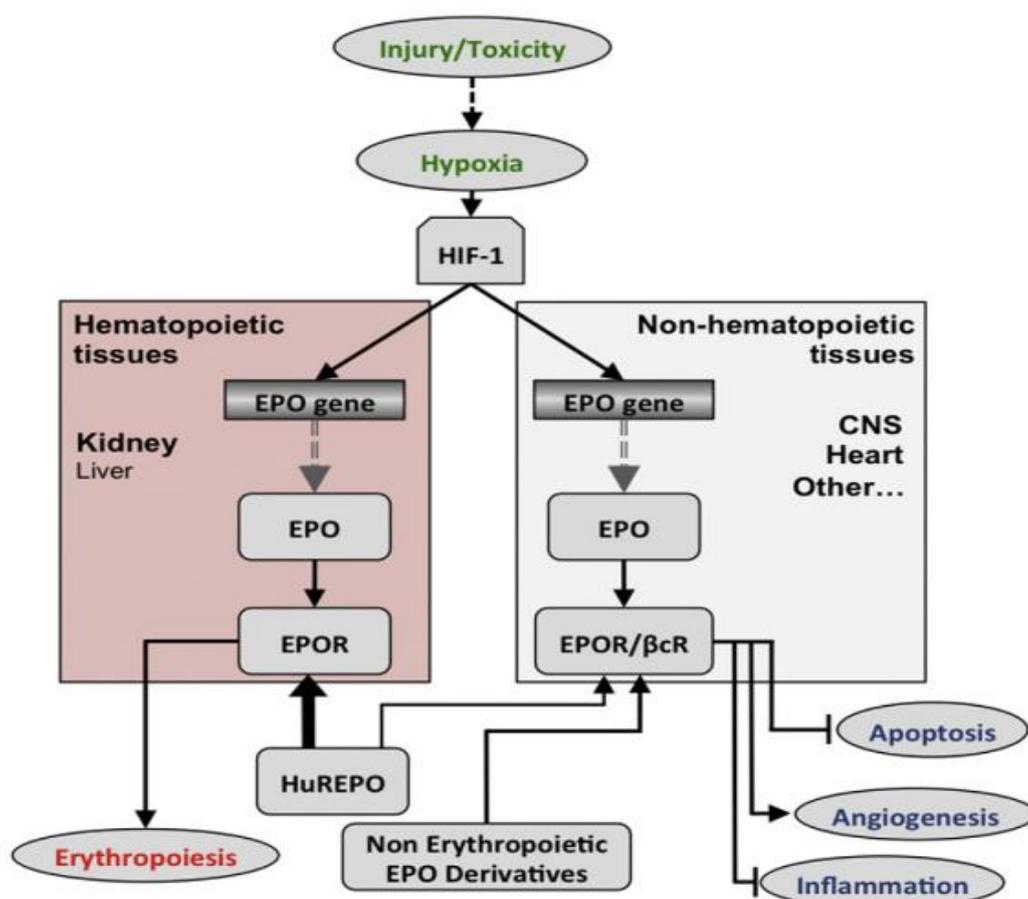


Figure 6 : L'hypoxie, une blessure, ou la toxicité d'un milieu peuvent augmenter l'expression de l'EPO et de son récepteur EPOR à la fois dans les tissus hématopoïétiques et non hématopoïétique. Ceci a pour conséquence dans les tissus hématopoïétiques la synthèse d'érythrocytes (érythropoïèse) tandis que cette augmentation de l'expression de ces deux éléments va permettre d'induire l'angiogénèse, d'inhiber l'apoptose et l'inflammation au sein des tissus non hématopoïétiques (Xiong et al. 2010).

EPOR est exprimé par les progéniteurs érythroïdes dès le stade CFU-E. EPOR est aussi exprimé au niveau des cellules endothéliales. A ce niveau, l'EPO va avoir un effet proangiogénique suite à une hypoxie (Zwezdaryk, et al. 2007).

EPOR est aussi exprimé à l'état physiologique dans les cardiomyocytes et dans le cerveau. L'EPO à ce niveau agit comme facteur de réponse au stress, qu'il soit dû à l'hypoxie ou à la présence de glutamate en concentration importante dans le milieu, composé neurotoxique. L'action antiapoptotique de l'EPO va pouvoir s'effectuer par l'activation de BCL-xL (Jelkmann et al. 2008). Une étude utilisant des radioligands a montré que le stade des progéniteurs érythroïdes au cours duquel le récepteur EPO est le plus exprimé à leur surface cellulaire est le stade CFU-E (Fukamachi et al.1987).

Les CFU-E chez l'Homme expriment environ 1000 EPOR à leur surface. Le nombre d'EPOR à la surface cellulaire de progéniteurs sous-tendrait leur niveau de réactivité à l'EPO. L'expression des EPOR à la surface des BFU-E primitifs est très faible. Par conséquent, l'EPO n'est pas nécessaire à leur survie. Quand les progéniteurs avancent dans le stade de différenciation, la capacité à lier l'EPO augmente jusqu'à atteindre un maximum avec les CFU-E, hautement réactifs à l'action de l'EPO. Le nombre d'EPOR membranaires diminue ensuite au fur et à mesure que les CFU-E se différencient (Sawada et al.1990).

Finalement, l'EPO n'est plus nécessaire pour la maturation des stades de différenciation les plus tardifs de l'érythropoïèse (érythroblaste basophile tardif et au delà) (Koury et al.1988) (Figure 7).

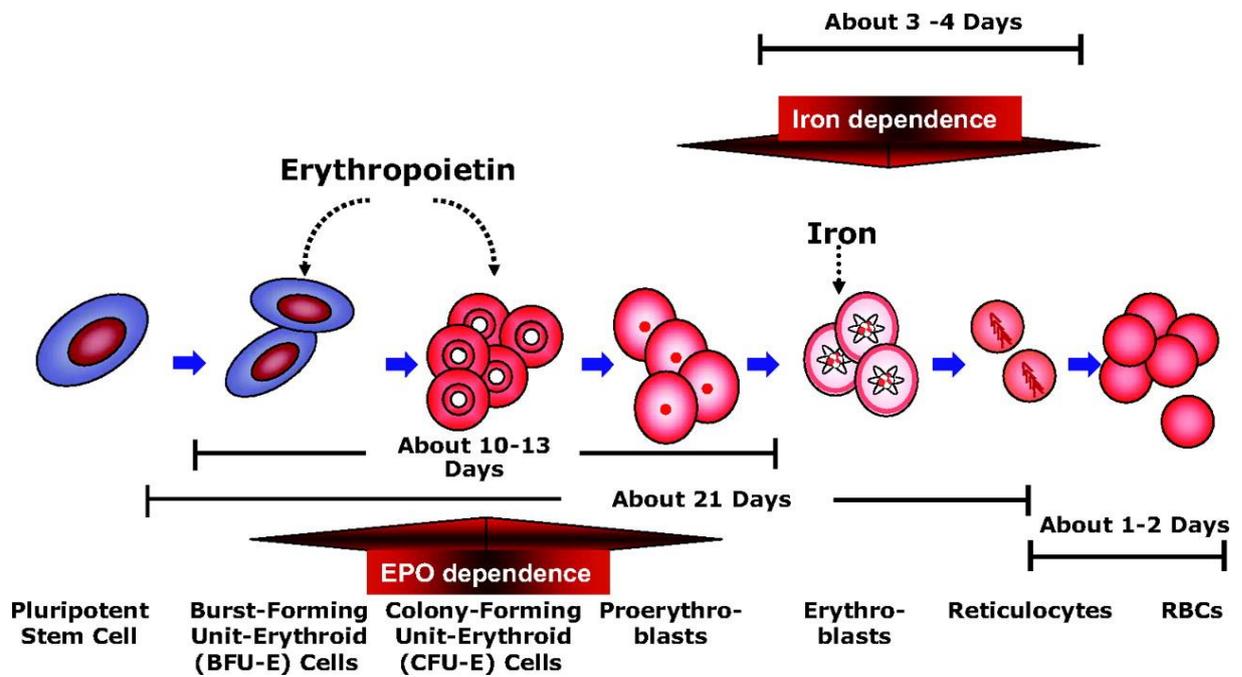


Figure 7 : La dépendance à l'EPO au cours de l'érythropoïèse (d'après Besarab et al.2009)

### 1.3.3 SCF (Stem Cell Factor) et son récepteur c-Kit

#### 1.3.3.1 SCF

Le SCF ou Kit-Ligand est une cytokine hématopoïétique fabriquée dans les cellules stromales de la moelle osseuse. Il est exprimé dans les progéniteurs hématopoïétiques mais son expression diminue tout au long de la maturation, exception faite des mastocytes (Broudy et al.1997). Sa concentration chez l'homme est comprise entre 3,3 ng/ml et 66 ng/ml. L'expression de SCF semble constitutive car il n'y a aucun argument en faveur d'une fluctuation de sa production en fonction de l'hypoxie ou en fonction de l'érythropoïèse. Le taux de SCF disponible pourrait directement dépendre de sa consommation par son récepteur c-Kit, en d'autres termes dépendre donc de l'expression de c-Kit à la surface des précurseurs érythroïdes. Le SCF existe sous une forme soluble et transmembranaire. La forme transmembranaire est prédominante pour la régulation de l'érythropoïèse car il a été montré que des souris sans forme transmembranaire sont anémiées (Russell et al. 1979).

### **1.3.3.2 Le récepteur c-Kit**

c-Kit est un récepteur à activité tyrosine kinase (RTK) de type III. L'érythropoïèse et d'autres processus biologiques sont intimement liés à c-Kit. En effet, la lymphopoïèse, la mégacaryopoïèse, la gamétogenèse, la mélanogénèse ainsi que le développement et la fonction des mastocytes dépendent aussi de voies de signalisation dans lesquelles intervient c-Kit (Ronnstrand et al. 2004).

### **1.3.3.3 Activation de c-Kit par le SCF**

Suite à la liaison du SCF à son récepteur c-Kit, il va y avoir dimérisation des récepteurs c-Kit et activation de l'activité tyrosine kinase. Les récepteurs c-Kit vont s'autophosphoryler sur des résidus tyrosine cytoplasmiques. Ces résidus tyrosine sont ainsi convertis en sites de liaison opérationnels pour des protéines de signalisation intermédiaires contenant des domaines SH2, telles que PI3K, la phospholipase C $\gamma$ , les kinases Src (Ronnstrand et al. 2004).

### **1.3.4 Synergie d'action du SCF et de l'EPO pendant l'érythropoïèse**

La synergie d'action des cytokines est fondamentale à la régulation du développement hématopoïétique. Certaines associations combinatoires de cytokines ont démontré leur capacité à stimuler certains processus physiologiques de manière plus importante que la somme des effets physiologiques des cytokines agissant séparément. On parle alors de synergie d'action. De telles combinaisons cytokiniques impliquent souvent une cytokine activant un récepteur à activité tyrosine kinase (SCF) et une autre cytokine spécifique à une lignée stimulant quant à elle un récepteur à cytokine sans activité tyrosine kinase intrinsèque (EPO) (Drayer et al.2005).

Une interaction synergique entre SCF et l'EPO dans la production de cellules érythroïdes a été observée in vivo et in vitro (de Haan et al.1995a ;Case et al.2001) (Figure 8).

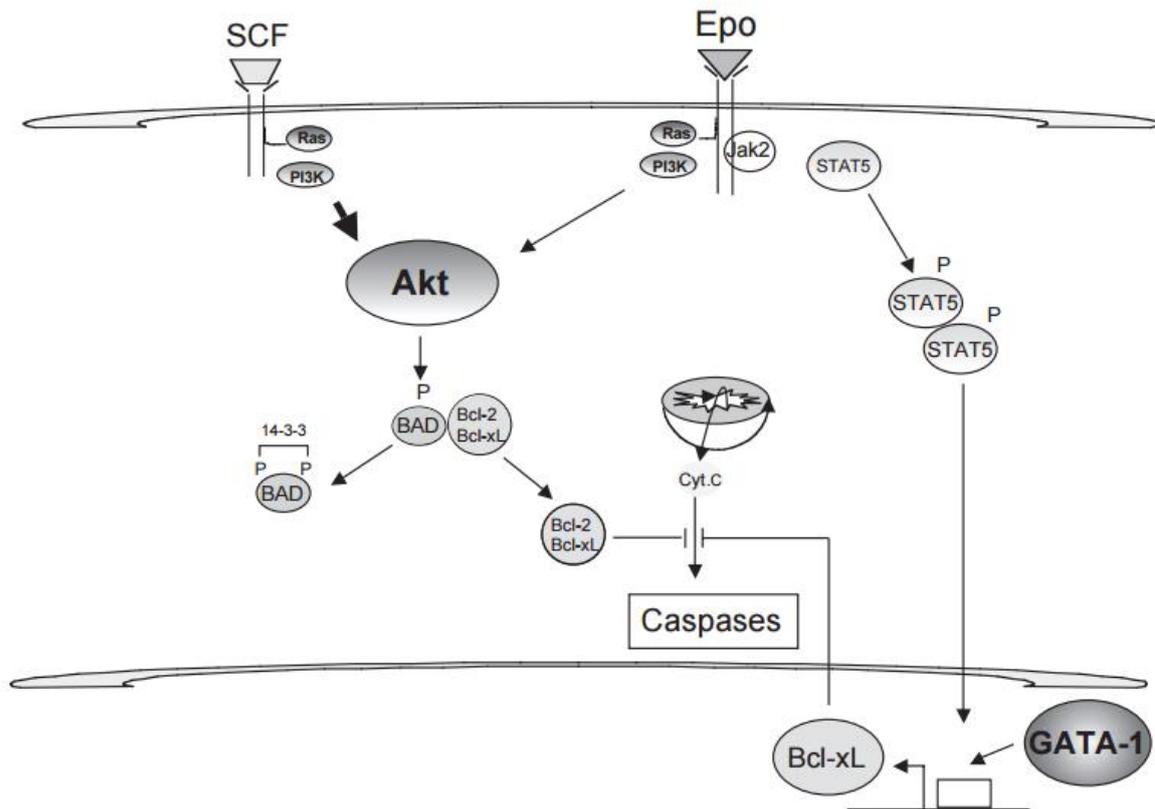


Figure 8 : Synergie entre EPO et SCF pour la survie cellulaire (Zermati et al.2003)

## **2 Physiopathologie et place de la PV au sein des néoplasies myéloprolifératives**

### **2.1 Les néoplasies myéloprolifératives chroniques (NMP)**

On distingue parmi les syndromes myéloïdes les syndromes myéloprolifératifs. Suite à la révision des critères diagnostiques de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) en 2008, il serait plus correct de les nommer néoplasies myéloprolifératives (NMP) (James W. et al. 2009). Parmi ces dernières, on recense quatre pathologies principales : la leucémie myéloïde chronique (LMC) d'un côté et de l'autre la myélofibrose primitive (MP), la thrombocythémie essentielle (TE) et la polyglobulie de Vaquez (PV). Ces maladies partagent des caractéristiques cliniques ainsi qu'une évolution similaires. Les néoplasies myéloprolifératives se caractérisent par l'expansion clonale de la cellule souche pluripotente. On obtient suite à cette

expansion clonale une hypercellularité médullaire, avec prédominance d'une lignée spécifique. Les néoplasies myéloprolifératives sont des maladies d'évolution lente. On classe aujourd'hui les néoplasies myéloprolifératives en deux groupes. Dans le premier groupe, on retrouve la LMC au cours de laquelle les cellules touchées par l'hyperprolifération détiennent dans leur patrimoine génétique sous forme inchangée un réarrangement du chromosome de Philadelphie au niveau de son gène BCR/ABL. Il s'agit d'une translocation réciproque 9 et 22, la translocation t(9;22) (q34;q11). (Levine et al. 2008). Cette translocation va entraîner la synthèse de la protéine p210. Les trois autres pathologies n'impliquant pas la translocation du chromosome de Philadelphie sont définies par rapport à la LMC et sont dites Philadelphie négatives Ph(-). Dans les néoplasies myéloprolifératives Ph(-), on compte la maladie de Vaquez ou polycythemia vera (PV), la thrombocytémie essentielle (TE) et la myélofibrose primitive (MP).

## **2.2 Etiopathogénie et bases moléculaires des néoplasies myéloprolifératives Ph(-)**

### **2.2.1 Historique de la découverte des NMP**

La PV a été la première néoplasie myéloproliférative à être découverte. On attribue à Hippocrate la première description de patients présentant un excès de sang. C'est en 1892 que Louis Henri Vaquez publie pour la première fois une description détaillée d'un patient atteint de PV. Il parle alors de cyanose avec hyperglobulie persistante (Vaquez H. 1892). En 1903, 4 nouveaux cas sont décrits par William Osler. Ces cas constituent pour lui une même et nouvelle maladie (Osler W.1903). Quant à la MP, elle fut décrite en 1879 par Heuck (Heuck G. 1879). La TE pour sa part a été décrite en 1934 par Epstein et Goedel. Ils la nommèrent alors thrombocytémie hémorragique (Epstein E. 1934).

Il faut attendre 1951 pour voir se profiler une grande avancée dans ce domaine. Cette année, Dameshek introduit dans la nomenclature hématologique le concept de « syndrome myéloprolifératif ». Il soutient que les maladies évoquées précédemment peuvent être englobées sous le vocable de syndromes myéloprolifératifs car bien qu'étant des pathologies distinctes, ces maladies ont des caractéristiques communes tant au niveau de la clinique que de l'évolution du tableau médical dans le temps. Suite à ce postulat et en conséquence même de celui-ci, il pense que ces similitudes poseront problème pour établir un diagnostic

différentiel. Selon Dameshek, l'agent responsable de ces pathologies, inconnu jusqu'à présent, pourrait s'agir d'une hormone (Dameshek 1951).

C'est en 1974 qu'une avancée majeure se produit. On démontra alors que chez des patients chez qui le diagnostic de PV a été posé, si on compare les échantillons de moelle osseuse avec des échantillons issus de patients sains, il y a formation in vitro de colonies érythroïdes endogènes BFU-E et CFU-E dans l'échantillon des patients atteints de PV de manière indépendante à toute stimulation par cytokines (Prchal et al. 1974).

La prolifération de colonies érythroïdes endogènes n'est pas le seul fait de la PV. En effet, dans la moitié des cas de TE et de MP, on observe la formation de telles colonies érythroïdes endogènes (Lutton et al. 1979). Ceci conforte l'idée postulée par Dameshek précédemment selon laquelle ces pathologies appartiennent à un même groupe pathologique. La nature clonale des néoplasies myéloprolifératives chroniques a quant à elle été démontrée en 1976 en mettant en évidence dans des échantillons de patients atteints de PV la même isoforme de l'enzyme glucose 6 phosphate déshydrogénase (G6PD) à la fois au sein de la machinerie enzymatique des érythrocytes, des granulocytes et des plaquettes. La prolifération d'une cellule progénitrice hématopoïétique multipotente et sa nature clonale est ainsi pleinement établie en 1976 (Adamson et al. 1976).

L'incidence de la PV est de l'ordre de 0.5 à 2 cas/100000 habitants/an. Il y a une prédominance de cas chez les hommes avec un sex-ratio de 2 :1. La maladie est souvent découverte entre 40 et 75 ans avec un âge médian de 60 ans. La majorité des manifestations cliniques sont les conséquences directes de la prolifération excessive des différentes lignées cellulaires hématopoïétiques participant au processus néoplasique. Différentes manifestations peuvent apparaître comme l'asthénie, survenue de céphalées, gênes épigastriques et goutte. Le prurit généralisé se manifeste dans la moitié des cas et peut être déclenché ou être exacerbé par la douche ou le bain.

## **2.2.2 Les NMP Ph(-), JAK2 et la voie JAK/STAT**

### **2.2.2.1 JAK2: structure et interaction avec les récepteurs de cytokines**

La phosphorylation de protéines kinases dans le domaine du vivant est indispensable à la transmission de signaux permettant la croissance de nombreux agents mitogènes cellulaires.

Suite au clonage de GM-CSF, de la thrombopoïétine (TPO) et de nombreux récepteurs à interleukine est née une famille de récepteurs que l'on appelle désormais les récepteurs à cytokine de type I. Le mécanisme de signalisation cellulaire a ensuite été étudié. On a découvert que ces récepteurs utilisaient un système de transmission des signaux que l'on a appelé la voie de signalisation JAK/STAT (JAK, « Just Another Kinase » et « STAT » signal transducers and activators of transcription) (Ihle 1995).

JAK représente une des dix familles de protéines tyrosine kinases non récepteurs. Parmi les JAK, on compte 4 membres : JAK1, JAK2, JAK3, et TYK2. Le gène de JAK2 est localisé sur le chromosome 9p24. Il s'agit d'une protéine massive d'environ 128 kDA.

JAK1, JAK2 et TYK2 sont exprimées de manière ubiquitaires alors que JAK3 se cantonne aux tissus hématopoïétiques. Les protéines de la famille JAK sont localisées au niveau des endosomes dans le cytoplasme des cellules accolées à la membrane plasmique à proximité immédiate de leur récepteur respectif. Les protéines JAK se composent de 7 domaines JH1 à JH7.

Nous allons nous intéresser plus particulièrement à JAK2 pour son rôle important dans les néoplasies myéloprolifératives Ph(-). Le domaine JH1 en C-Terminal possède toutes les caractéristiques d'une tyrosine kinase, comprenant les résidus tyrosine dans la boucle d'activation, le motif consensus GXGXXG situé dans la boucle nucléotidique de fixation de l'ADP et un résidu d'acide aspartique dans la boucle d'activation impliqué dans la réaction de transfert du groupement phosphate. Le domaine JH1 est activé après phosphorylation du résidu tyrosine 1007 (Y1007) situé dans la boucle d'activation de JAK2 (Feng et al. 1997).

A côté de JH1, on retrouve le domaine JH2, homologue au domaine JH1, inactif catalytiquement en raison de l'absence en son sein des résidus nécessaires à l'activité tyrosine kinase. Ce domaine est appelé en conséquence pseudokinase. L'étude des interactions entre JH1 et JH2 a mis en évidence que JH2 avait pour rôle d'inhiber l'activité tyrosine kinase de JH1 (Lindauer et al. 2001). Cependant, il a été récemment découvert que JH2 possède une activité kinase qui lui permet de phosphoryler deux sites de régulation négative de JAK2, Ser523 et Tyr570. Les mutations affectant l'activité JH2, telles que la mutation JAK2V617F réduisent la phosphorylation de Tyr570 chez les patients atteints de NMP. Ceci suggère que JH2 et la perte de son activité pourrait jouer un rôle dans la pathogénicité des NMP

(Ungureanu et al. 2011). Cette observation pourrait faire de JH2 une cible thérapeutique dans le traitement des NMP (Bandaranayake et al.2012).

JH3 et JH4 forment ensemble un domaine SH2 (domaine Src-homology-2).

Quant à JH5, JH6, et JH7 situés dans la partie N-Terminal, ils constituent un domaine FERM impliqué dans les interactions avec les récepteurs de cytokines ainsi que dans la localisation à la surface cellulaire d'EPOR, récepteur de l'érythropoïétine (Huang et al.2001).

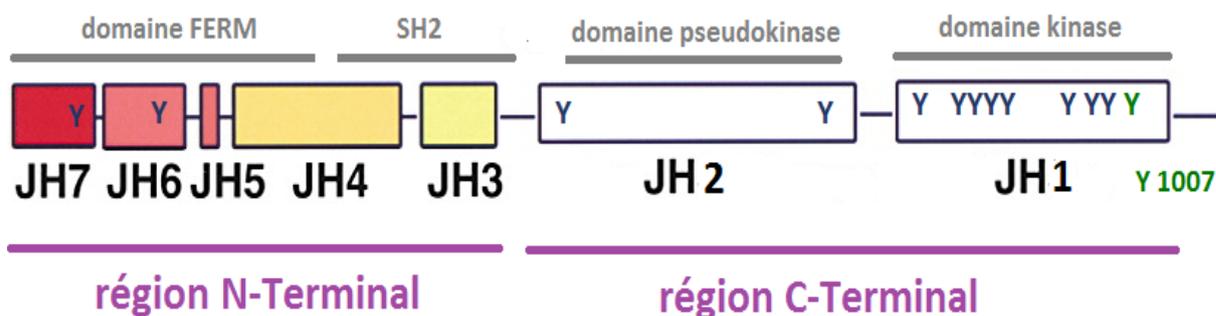


Figure 9 : La protéine JAK2 est composée de 7 domaines JH (Janus homology) numérotés de JH1 à JH7. JH1 est le domaine kinase nécessaire à la phosphorylation des protéines cible, JH2 est le domaine pseudokinase permettant l'autoinhibition de la tyrosine kinase. Les Y représentent des résidus Tyrosine. Le domaine kinase de JH1 est activé après phosphorylation du résidu Y 1007. La mutation V617F au niveau du domaine JH2 entraîne l'activation de la kinase de JH1, car l'inhibition qu'exerce JH2 sur JH1 n'est plus possible (adapté d'après Lily Junshen Huang et al. 2001)

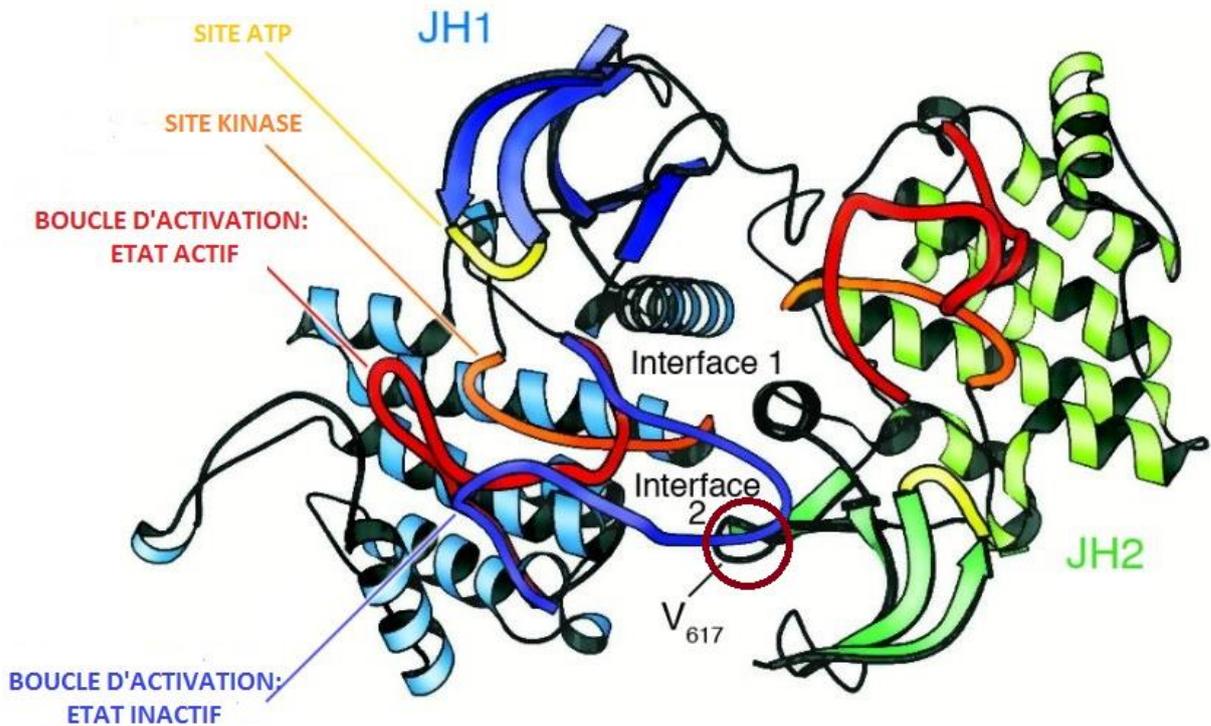


Figure 10 : Structure de JAK 2 : On peut discerner les domaines JH1, JH2, ainsi que la boucle d'activation de JH1 dans deux conformations possibles : active, et inactive. Le cercle dans la partie basse de la figure indique le site d'interaction de JH2 avec le domaine d'activation de JH1, à proximité de Val617, la valine située en position 617. (Adapté d'après Kenneth K. 2005)

La superfamille des récepteurs de cytokines comprend deux types de récepteurs membranaires de type I et II démunis d'activité enzymatique dans leur domaine cytosolique.

Les récepteurs de type I ont en commun dans leur composition un résidu cystéine conservé et un motif Try-Ser-X-Try-Ser dans leur domaine extracellulaire et peuvent être divisés en quatre sous-groupes selon la nature de leur complexe activé : des homodimères (EPOR, et MPL), des hétérodimères ayant en commun une chaîne bêta (GMCSFR, IL3R, IL5R), des récepteurs multimériques (IL6R, IL11R) et des hétérodimères ayant en commun une chaîne gamma (IL2R, IL11R).

Les récepteurs de type II sont activés sous forme d'hétérodimères (IFNR).

Une protéine JAK ou plusieurs peuvent interagir avec chacun des récepteurs grâce à leur domaine Box1 (riche en proline) ou leur domaine Box2 (hydrophobe et chargé) présents dans le domaine cytosolique du récepteur.

### **2.2.2.2 STAT**

Toutes les protéines de la famille STAT (Signal Transducers and Activators of transcription) ont leur structure en trois domaines conservés. Le premier domaine est un domaine SH2 dont le rôle est d'assurer la liaison aux résidus phosphorylés des tyrosine kinases ainsi que la dimérisation de deux STAT. Le deuxième domaine est un domaine de liaison à l'ADN. Quant au troisième domaine, il assure l'activation de la transcription. Sept protéines STAT ont été décrites. Au sein de cette famille, STAT5 et dans une mesure moindre STAT3 jouent le rôle le plus important dans le processus hématopoïétique.

Dans les faits, les STAT peuvent se dimériser de manière hétérologue. On a par exemple observé des dimères STAT2/STAT3 ou encore STAT1/STAT5. Ceci amplifie fortement la plasticité des signaux médiés par ces molécules (Schwaller et al.2000).

### **2.2.2.3 La voie JAK/STAT physiologique**

La voie JAK/STAT est une voie de signalisation intracellulaire qui utilise comme mécanisme de transmission du signal la phosphorylation séquentielle de résidus tyrosine de deux groupes de protéines, JAK et STAT.

Les protéines JAK ont été clonées par PCR (Polymerase Chain Reaction). Ce groupe de kinases n'appartenant à aucun groupe déjà décrit, on les nomma JAK pour « Just Another Kinase » (Wilks et al.1991).

Par la suite, on mit en évidence leur association avec les récepteurs de cytokines et leur rôle dans la transmission du signal de ces dernières à la protéine STAT (Muller et al.1993).

Les protéines STAT sont des protéines intracellulaires retrouvées à l'état quiescent et activables par phosphorylation par les protéines JAK. Une fois activées, les protéines STAT vont pouvoir migrer vers le noyau cellulaire où elles s'unissent à l'ADN et activent la transcription génique. Ainsi, STAT sont à la fois des protéines transductrices de signaux et activatrices de la transcription (Darnell et al.1994).

La voie JAK/STAT (récepteur/JAK/STAT/ADN) est la plus importante voie de transmission de signaux. De plus son activation constitutive est associée à la transformation cellulaire et à l'oncogenèse de néoplasies hématologiques et épithéliales (Muhammad Furqan et al.2013).

La voie JAK/STAT se caractérise par sa rapidité. Le mécanisme de cette transmission rapide de signaux repose sur la phosphorylation de résidus spécifiques de tyrosine suivie d'une interaction physique entre la protéine phosphorylée et d'autres protéines qui possèdent des domaines SH2. Les domaines SH2 sont des séquences d'acides aminés qui reconnaissent de manière spécifique des résidus de tyrosine phosphorylés (Schlessinger 1994). L'association tyrosine phosphorylée/domaine SH2 rend possible l'interaction entre de nombreuses protéines transductrices de signaux ainsi que la transmission d'informations entre elles (Belka et al.1995).

La majorité des récepteurs de cytokines ne sont pas dotés d'activité kinase intrinsèque et sont incapables d'initier directement les phosphorylations en chaîne de la voie concernée (Ihle 1996). Ces récepteurs s'associent à des kinases structurellement uniques, les JAK. Les protéines JAK sont des CPTK, des protéines tyrosine kinases cytosoliques (cytosolic protein tyrosin kinase), qui s'associent de manière rapprochée aux domaines cytoplasmiques des récepteurs de cytokines. L'interaction des cytokines avec leurs récepteurs entraîne leur dimérisation ou leur oligomérisation, ce qui a pour conséquence un rapprochement des protéines JAK de récepteurs voisins. (Duarte et al. 2000). Ce rapprochement des protéines JAK entraîne leur phosphorylation réciproque ce qui augmente leur activité enzymatique (Ihle et al.2007). D'autre part, les protéines JAK phosphorylent les résidus de tyrosine situés dans la partie intracellulaire des récepteurs, créant ainsi des points d'ancrage pour les protéines STAT, qui possèdent un domaine SH2. La tyrosine phosphorylée du récepteur va se lier au domaine SH2 de STAT. Accolée au récepteur membranaire, les protéines STAT sont accessibles aux protéines JAK et à leur activité tyrosine kinase. STAT vont alors être phosphorylés par JAK (Shuai et al.1993). Les protéines STAT une fois phosphorylés, il se produit une interaction réciproque entre les domaines SH2 de deux protéines STAT voisines l'une de l'autre. Cette double interaction STAT/STAT prédomine sur l'union simple récepteur/STAT, et libère les protéines STAT du récepteur et les associe en homodimères ou hétérodimères. Cette dimérisation des protéines STAT les rend capable de passer du cytoplasme au noyau cellulaire. Une fois dans le noyau, les dimères STAT/STAT s'unissent directement à des séquences spécifiques d'ADN appelées GAS (interferon Gamma Activated Sequence) et ISRE (Interferon Stimulated Response Element) à partir desquelles ils activent la transcription des gènes cibles, par

exemple de la prolifération et de la survie cellulaire concernant JAK2 (Darnell et al.1994) (Figure 11).

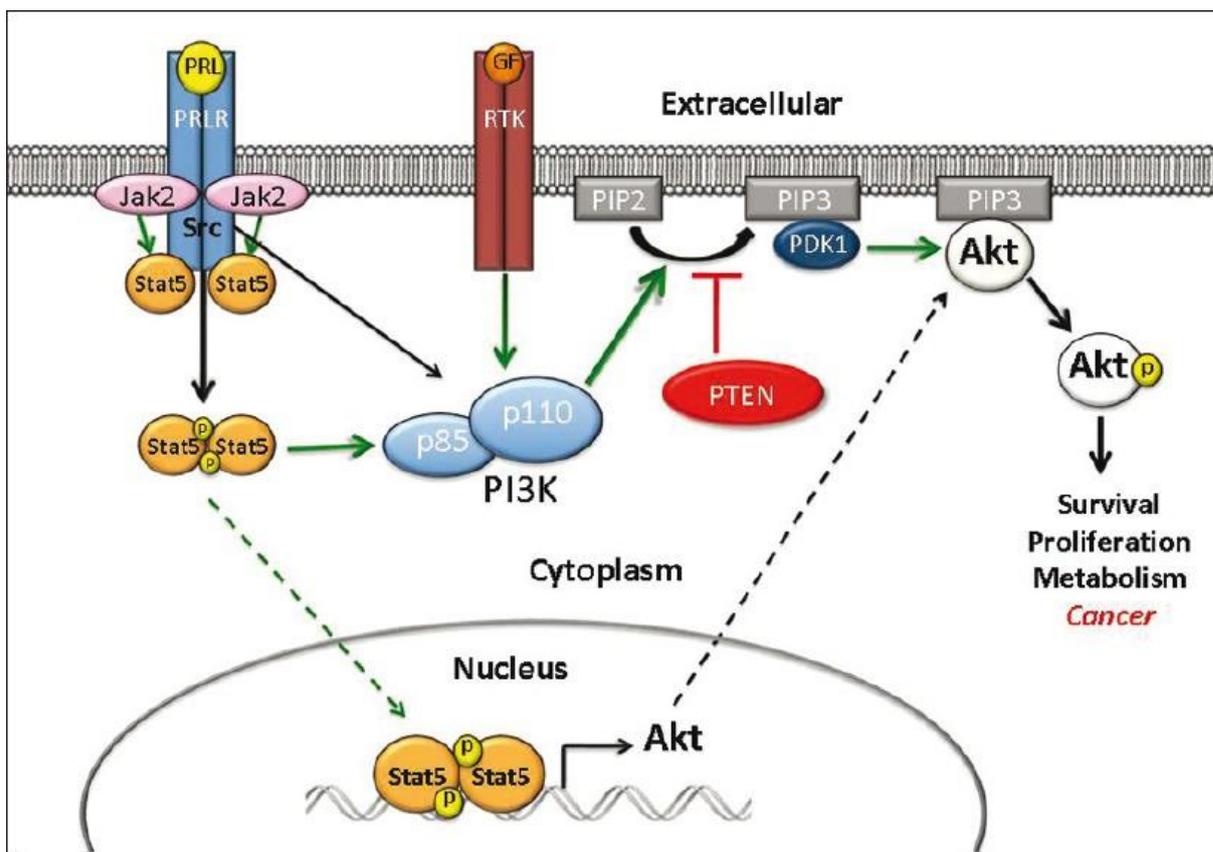


Figure 11 : schéma du mécanisme physiologique de la voie JAK2/STAT5 : l'interaction entre la voie de signalisation JAK2/STAT5 et la voie PI3K/AKT1 est illustrée ci-dessus. La protéine STAT5 activée modifie la signalisation médiée par la kinase PI3 et AKT1 par au moins deux mécanismes distincts. STAT5 peut influencer sur la voie PI3K/AKT1 en se fixant à la sous-unité régulatrice de la kinase PI3. STAT5 activée peut dans un deuxième cas de figure aller activer directement au niveau nucléaire la transcription du gène de AKT1 au niveau de son promoteur (Wagner et al.2011)

#### 2.2.2.4 Régulation négative de la voie JAK/STAT

La voie JAK-STAT joue un rôle important dans de multiples processus cellulaires dont la prolifération, la différenciation cellulaire, le fonctionnement normal du tissu hématopoïétique, immunologique et cardiaque. Son activation est rapide mais de courte durée. Elle exerce un contrôle sur la survie cellulaire et l'apoptose avec un effet contraire selon les systèmes. Pour toutes ces raisons, une altération, un

dérèglement des processus de régulation de la voie JAK-STAT peut conduire à une carcinogenèse et son activation constitutive peut être associée à la transformation maligne d'un tel évènement.

La voie JAK-STAT est régulée à de multiples niveaux par de nombreux mécanismes. L'un des mécanismes les mieux décrits concerne les SOCS, suppresseurs de la signalisation par cytokines (Suppressors of Cytokine Signaling), protéines de petite taille possédant un domaine SH2 leur permettant d'entrer en compétition avec les STAT pour l'union à JAK2 phosphorylé (K. Saeidi.2016).

De plus, ces agents suppresseurs de tumeur peuvent inhiber directement JAK2 en se liant à son domaine catalytique. Enfin, les protéines de la famille SOCS ont la capacité de marquer différentes enzymes impliquées dans la signalisation, entraînant leur ubiquitinylation permettant leur dégradation ultérieure par les protéasomes (Rakesh et al.2005).

La régulation négative de la voie JAK/STAT implique d'autres protéines telles que les PIAS (Protein Inhibitor of Activated STAT) ou protéines inhibitrices des STAT activées. Il existe cinq PIAS. Toutes ont un domaine en doigt de zinc dans leur structure qui leur permet de bloquer de manière compétitive les sites d'union des différentes STAT à l'ADN (Oka et al.2002).

La dernière famille de protéines permettant d'inhiber la voie JAK/STAT est la famille des tyrosine phosphatases PTP (Protein Tyrosine Phosphatase). Certaines d'entre elles, comme les SHP (Small Heterodimer Partner), ont dans leur structure un domaine SH2 associé à un domaine phosphatase, qui rend possible leur union aux résidus tyrosine phosphorylés des transducteurs de signaux. (Oka et al.2002). Il va ainsi y avoir déphosphorylation directe de JAK2 par la PTP. On peut citer SHP-1 qui joue un rôle au niveau de l'hématopoïèse. La non expression des SHP a été mise en cause dans diverses maladies hématologiques (Chim et al.2004).

#### **2.2.2.5 La mutation JAK2 V617F**

En mars 2005, a été découverte une mutation clonale acquise de la protéine JAK2 siégeant au sein de l'exon 14 et qui touche le nucléotide 1849. Cette mutation provoque le remplacement d'une guanine par une thymidine. La conséquence de cette mutation pour la protéine traduite est la substitution d'une valine par une phénylalanine de la portion 617 de la protéine, cette mutation est donc communément nommée aujourd'hui V617F (Baxter et al. 2005).

Cette mutation touche le domaine JH2 de JAK2 qui est doté d'une activité pseudokinase, dont la fonction est l'inhibition de JH1 par interaction avec sa boucle d'activation. La survenue de la mutation V617F ne permet plus l'inhibition du domaine kinase JH1. JAK2 se voit ainsi doté d'une activité kinase constitutive. Ceci affecte directement le mode de stimulation de JAK2, qui devient dès lors hypersensible aux cytokines et indépendant aux facteurs de croissance hématopoïétiques qui stimulent la prolifération cellulaire des différentes lignées sanguines. JAK2 V617F concerne plus de 95% des cas de PV, et autour de 50 à 60% des cas de TE et MP (Baxter et al. 2005). JAK2 V617F a permis une avancée dans la connaissance de la pathogénie de la maladie ainsi que son diagnostic.

### **2.2.2.6 Une autre mutation de JAK 2 propre à la PV : la mutation de l'exon 12**

Une autre mutation de JAK2 a été décrite en 2007 chez des patients atteints de PV, négatifs pour la mutation JAK2 V617F. Cette mutation se situe au niveau de l'exon 12. Contrairement à la mutation JAK2 V617F commune aux autres NMP, la mutation de l'exon 12 est spécifique à la PV. Elle n'a pas été observée pour les autres NMP. Les mutations de l'exon 12 peuvent toucher plusieurs nucléotides et peuvent donc concerner différents acides aminés (les acides aminés 538 à 543) (Scott et al. 2007).

Les patients diagnostiqués de PV avec mutation de l'exon 12 ont des taux d'hémoglobine plus élevés et des valeurs de plaquettes et leucocytes normales par rapport aux patients atteints de PV avec la mutation V617F. Ainsi, en cas de suspicion de PV, avec négativité de la mutation V617F, la recherche de la mutation de l'exon 12 devrait être effectuée (Percy et al. 2007).

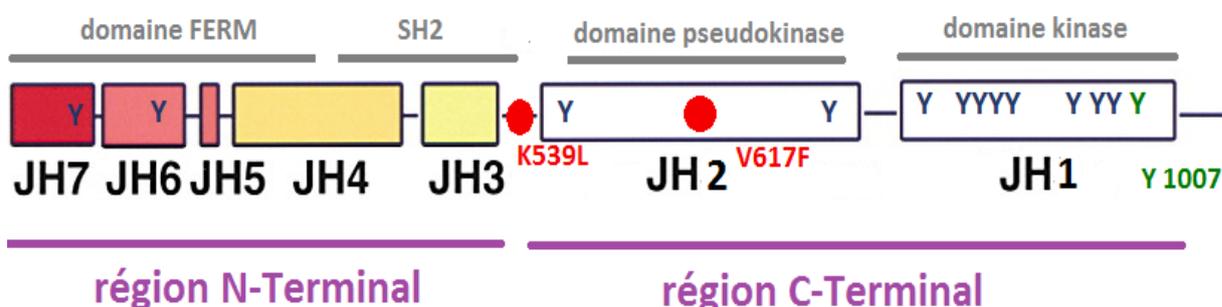


Figure 12 : Représentation schématique des mutations de JAK2 : la mutation JAK2V617F est présente dans le domaine pseudokinase JH2. Les mutations de l'exon 12 comme la mutation K539L, sont présentes dans la partie qui lie les

domaines JH2 et JH3. Le résultat de ces mutations est l'activation constitutive de JAK2 (adapté d'après Lily Jun-shen Huang et al. 2001)

### **2.2.2.7 La voie de signalisation JAK/STAT pathologique en cas de mutation JAK2V617F**

La mutation JAK2 V617F touchant le domaine JH2 va l'empêcher d'exercer son action d'autoinhibition de JAK2. JAK2 peut dès lors s'affranchir de la présence de facteurs de croissance. Phosphorylée de façon constitutive, JAK 2 peut activer ensuite les voies de signalisation cellulaire comme le montre la figure 11 (JAK2-STAT5, et PI3K/AKT).

### **2.2.3 La voie de signalisation MAPK**

JAK2 intervient dans la voie de signalisation JAK/STAT mais aussi dans d'autres voies de signalisation MAPK et PI3K/AKT que nous décrivons par la suite (figure 11).

Les MAPK (Mitogen Activated Protein Kinases) sont des tyrosine kinases cytosoliques qui interviennent dans les processus de prolifération, migration et survie cellulaire (Lenormand et al.1998). Ces protéines sont impliquées dans trois voies parallèles. Elles peuvent se connecter entre elles et forment un réseau de signalisation qui bien qu'il soit redondant est parfaitement modulable. Ces trois voies sont la voie MAPK classique (RAF/RAS/MEK/ERK), la voie alternative (P38) et la voie JNK. (Figure 13)

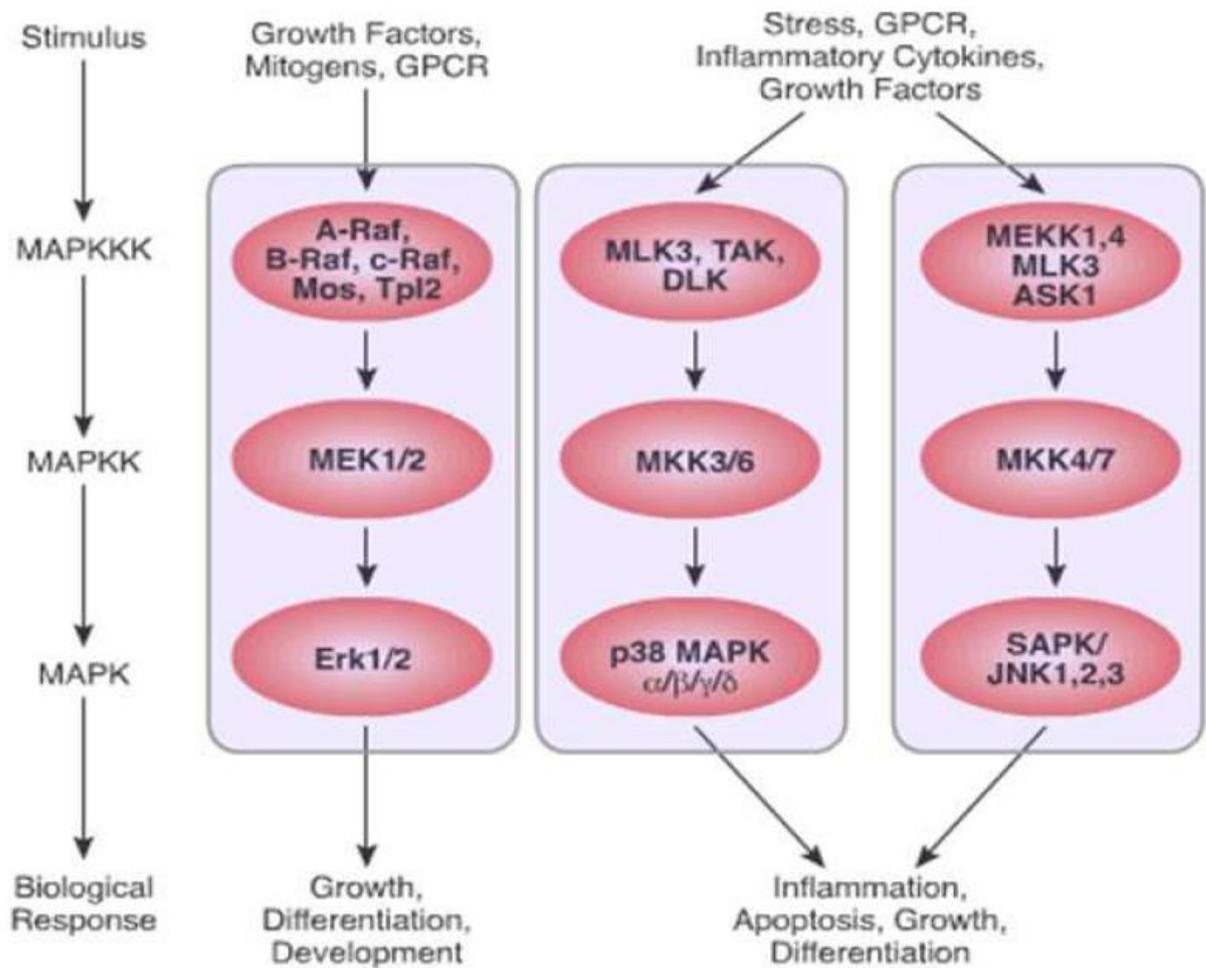


Figure 13: les protéines des voies MAPK (d'après [www.cellsignal.com](http://www.cellsignal.com))

Selon leur position dans la cascade de phosphorylation, les MAP sont nommées MAPKKK, MAPKK, ou MAPK. MAPKKK est une kinase qui est directement activée par les transducteurs de signaux proches des récepteurs, MAPKKK va ensuite pouvoir activer une MAPKK, kinase intermédiaire. MAPKK va finalement activer la dernière kinase de la cascade, la MAPK qui une fois activée a la capacité de migrer dans le noyau et de moduler la transcription de gènes (Adachi et al.2000).

Chaque MAPKK peut être activée par plus d'une seule MAPKK kinase (MAPKKK) selon le stimulus reçu, ainsi que par des kinases appartenant à d'autres voies ce qui augmente la complexité et la diversité de la signalisation à travers ces voies.

La phosphorylation de résidus tyrosine et thréonine conservés par les MAPKK active les MAPK. C'est la phosphorylation des MAPK qui provoque la migration nucléaire de ces dernières où elles peuvent alors activer la transcription de gènes cibles. Pour bien comprendre la subtilité des mécanismes d'activation de ces

réseaux de signalisation, on peut évoquer l'exemple de la MAPKKK RAF1. Cette protéine possède au moins trois sites de régulation par phosphorylation. Pour être active, elle doit être phosphorylée en S338, Y340 et Y341 (sérine 338 et tyrosines 340 et 341). A son tour, RAF1 va pouvoir se lier à MEK1/2 et l'activer spécifiquement. Elle peut aussi agir sur de nombreuses autres cibles comme des facteurs de transcription nucléaires, des protéines cytoplasmiques, ou d'autres kinases comme AKT (Yoon et al.2006).

L'activation et la surexpression des protéines appartenant à cette famille, comme par exemple p38, RAF1 ou MEK, semble d'après certaines études jouer un rôle dans la pathogénicité des néoplasies myéloprolifératives (Blume-Jensen et al.2001).

#### **2.2.4 Description de la voie de signalisation PI3K/AKT**

La voie de signalisation PI3K/AKT est une autre voie de signalisation clef dans la signalisation cellulaire. Les phosphatidyl-inositol 3-OH kinase (PI3K) représentent un groupe de protéines capables de phosphoryler le groupement OH en 3' du cycle inositol des phospholipides membranaires (Shaw et al.2006).

Le substrat principal de ces protéines est le PIP2 (phosphatidylinositol 4,5 biphosphate). L'activation des PI3K s'effectue grâce aux récepteurs de cytokines via une protéine adaptatrice.

Une fois la cytokine liée à son récepteur, une protéine adaptatrice, dans le cas qui nous intéresse par exemple JAK2, va être activée, et va recruter grâce aux domaines SH2 la protéine PI3K. Suite à l'activation de PI3K, il se produit une cascade réactionnelle au niveau des phospholipides membranaires qui se termine par l'activation d'AKT (Figure 14). La protéine AKT aussi connue comme PKB (Protein Kinase B) est l'homologue cellulaire de l'oncogène viral v-Akt. AKT va pouvoir à son tour agir sur différents substrats intervenant dans des processus cellulaires divers comme la prolifération cellulaire, l'inhibition de l'apoptose, la migration cellulaire, l'angiogenèse ou encore le métabolisme du glucose (Shayesteh et al.1999).

L'activation ou la surexpression de la voie PI3K/AKT joue un rôle dans diverses néoplasies. Concernant les myéoplasies myéloprolifératives, on a mis en évidence l'implication de la suractivation et surexpression de cette voie dans l'émergence de la pathologie. (C.James et al.2005)

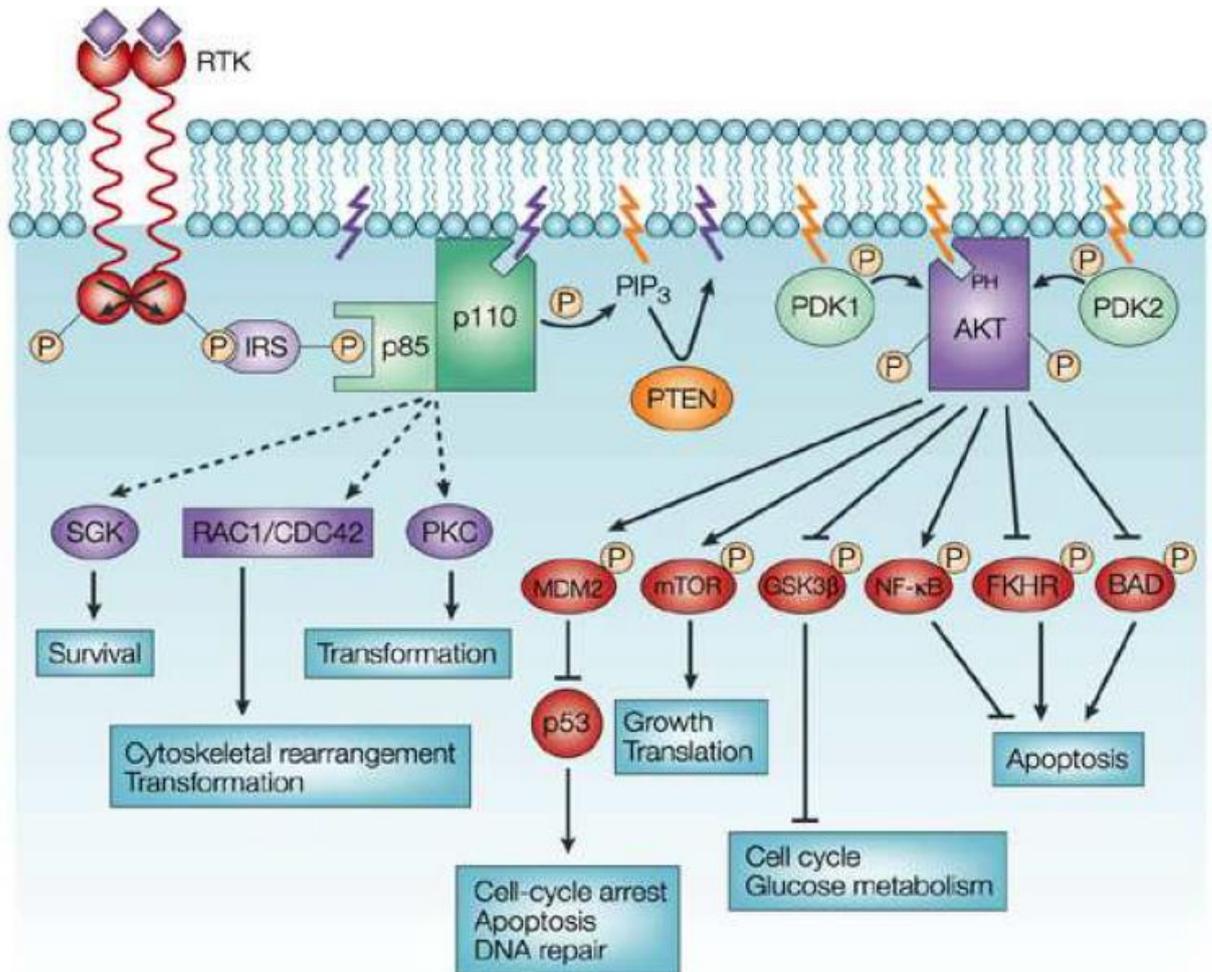


Figure 14: Signalisation cellulaire par la protéine AKT. On voit bien l'implication des protéines PI3K (P85/P110) et d'AKT dans les différentes fonctions cellulaires. (d'après Nature Reviews Cancer 2, 489-501 Juillet 2010)

## 2.2.5 Relation génotype-phénotype: une mutation pour trois phénotypes

Bien que la découverte de la mutation JAK2V677F a permis de mieux discerner les mécanismes moléculaires mis en jeu dans les néoplasies myéloprolifératives Ph(-), le fait qu'une même mutation entraîne trois pathologies certes corrélées entre elles mais distinctes sur le plan phénotypique (ET, PV et MP), reste un mystère. Plusieurs théories ont été établies afin d'expliquer la pléiotropie de JAK2V617F. Il n'est pas aisé de comprendre comment une même mutation peut aboutir à l'émergence de trois phénotypes différents. JAK2V617F pourrait être l'évènement initial dans la survenue des néoplasies myéloprolifératives ou en être l'évènement secondaire. S'il s'agissait de l'évènement initial, alors la cellule hématopoïétique initialement mutée déterminerait le phénotype. Cette hypothèse n'a pas pu être retenue car force est

de constater que la mutation JAK2V617F est retrouvée dans les cellules souches hématopoïétiques des trois néoplasies myéloprolifératives (Delhommeau et al.2007).

Plusieurs hypothèses ont ensuite été évoquées.

La première hypothèse établit qu'il existerait une possible corrélation entre le phénotype et la charge allélique de l'allèle JAK2. La charge allélique correspond au pourcentage d'allèle muté par rapport au nombre total d'allèles. Il s'agit d'un ratio entre le nombre d'allèles mutés rapportés au nombre total d'allèles (mutés plus sauvages). Les différences de phénotypes s'expliqueraient par un gradient d'activité kinase.

Un haut niveau d'expression de JAK2V617F chez des modèles murins a entraîné au niveau phénotypique une néoplasie myéloproliférative de type PV, alors qu'un bas niveau d'expression de JAK2V617F a entraîné l'apparition d'une TE (Tiedt et al.2008). Il a été aussi montré que le pourcentage de JAK2 muté des colonies érythroïdes joue un rôle dans le phénotype de la maladie. Les clones homozygotes pour la mutation JAK2V617F ont presque toujours été retrouvés chez des patients atteints de PV et de MP alors que les patients atteints de TE présentent des clones hétérozygotes pour la mutation. Les clones homozygotes apparaissent lorsque se produit un évènement que l'on nomme perte d'hétérozygotie que l'on retrouve dans la littérature sous son acronyme anglais 9pLOH (chromosome 9, bras p (court) Loss of Heterozygosity) suite à une recombinaison du bras court du chromosome 9 (O'Keefe et al.2010).

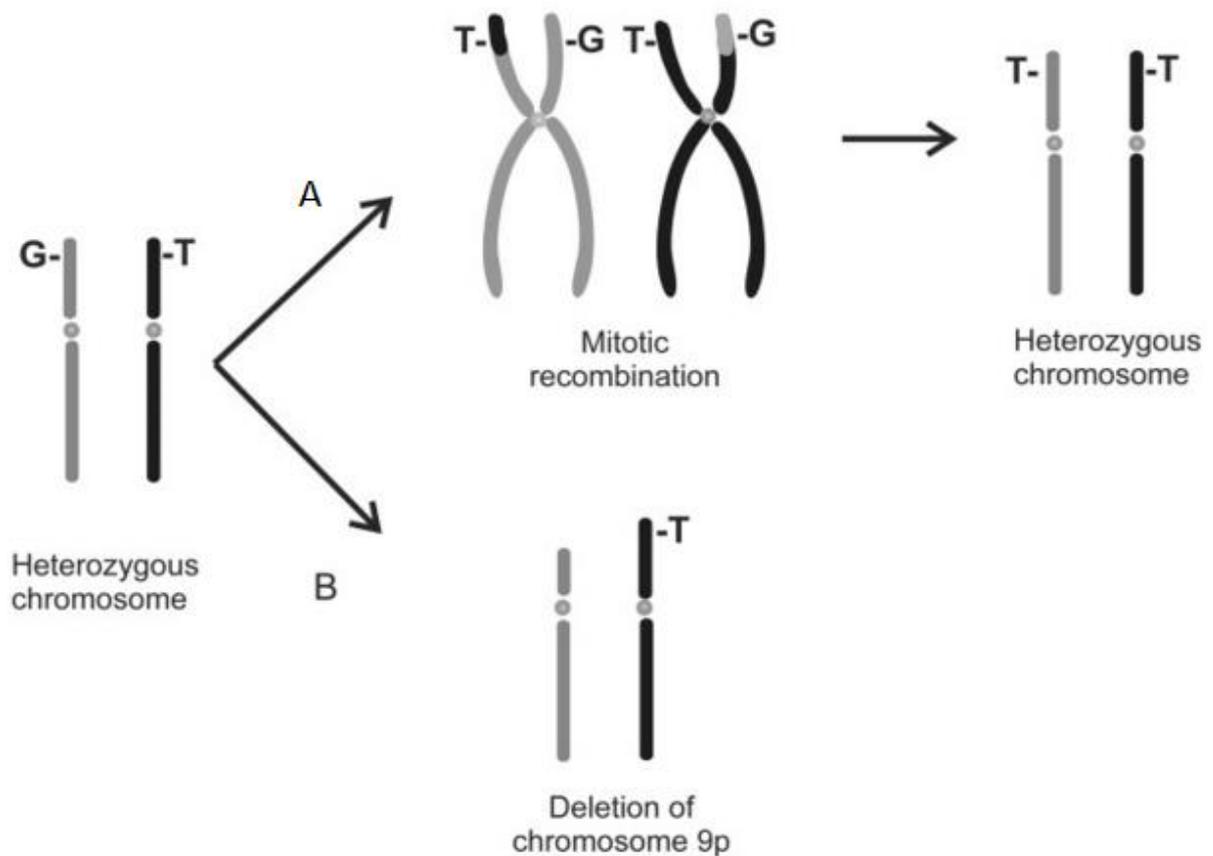


Figure 15 : mécanisme de perte d'hétérozygotie du chromosome 9 pour le gène de JAK2. Deux mécanismes peuvent expliquer cette perte d'hétérozygotie. En A, une recombinaison mitotique est à l'origine de cette perte d'hétérozygotie. En B, le mécanisme résulte de la délétion de la partie télomérique du chromosome 9 de type sauvage sur son bras court (M. Maccarini Barcelos et al.2011).

Une autre éventualité est envisagée avec la seconde théorie proposée. JAK2V617F serait un évènement secondaire mais la mutation seule ne serait pas suffisante pour déclencher une néoplasie myéloproliférative. Plusieurs éléments permettent d'argumenter cette théorie. Environ 50% des leucémies aiguës secondaires à des néoplasies myéloprolifératives sont négatives pour la mutation JAK2V617F. De plus on retrouve au sein de mêmes familles dans le cadre de néoplasies myéloprolifératives familiales des individus présentant la mutation JAK2V617F et d'autres individus n'ayant que l'allèle sauvage (Bellanne-Chantelot et al.2006).

La troisième hypothèse tient compte de facteurs génétiques additionnels contribuant à la diversité phénotypique de la néoplasie myéloproliférative. On a identifié un haplotype constitutionnel, l'haplotype 46/1 ou haplotype GGCC, qui est

très souvent associé à la mutation JAK2V617F.

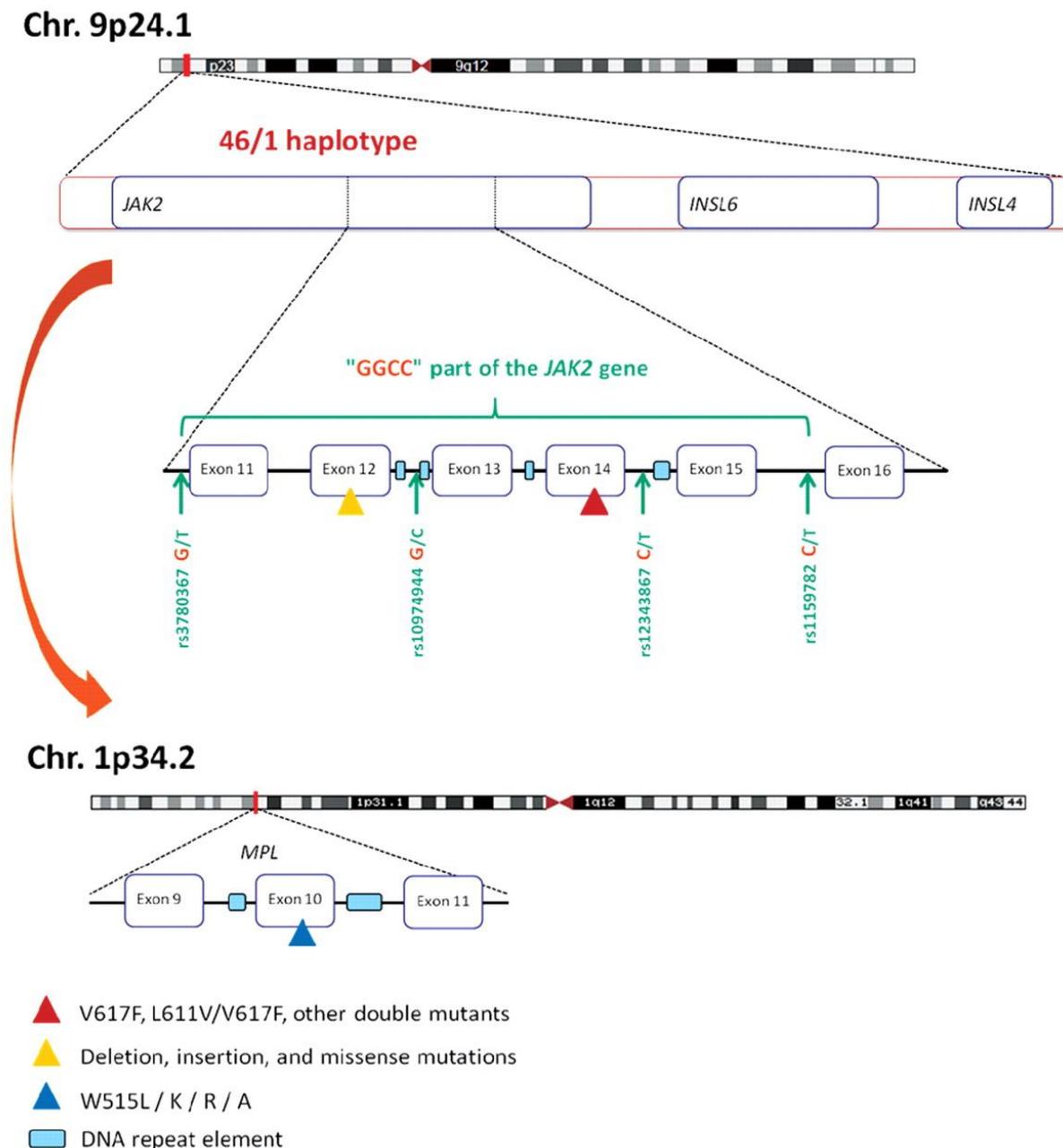


Figure 16: L'haplotype 46/1 (d'après Hermouet et al.2011)

L'haplotype est la contraction anglaise de deux mots « haploïde » et « genotype ». Il s'agit d'un groupe d'allèles proches, présents sur un même chromosome, et liés génétiquement, non séparables facilement par recombinaison, et transmis ensemble à la descendance. L'haplotype 46/1 que l'on peut observer sur la figure a une longueur de 280Kb sur le chromosome 9. Cet haplotype contient trois gènes; JAK2, INSL6 (Insulin Like 6) et INSL4. Seul JAK2 est exprimé dans les cellules hématopoïétiques. La suite nucléotidique « GGCC » faisant partie de

l'haplotype, le caractérise et les quatre nucléotides concernés se situent aux introns 10, 12, 14 et 15. La forte liaison mise en évidence entre l'haplotype 46/1 et la mutation JAK2V617F peut s'expliquer de deux manières différentes. L'haplotype 46/1 générerait une instabilité génétique propice à une hypermutabilité et donc à un risque accru d'apparition de la mutation JAK2V617F. Dans un second cas de figure, la mutation serait indépendante de l'haplotype, mais une interaction positive existerait entre l'haplotype et la mutation JAK2V617F déjà constituée, faisant de l'haplotype 46/1 un terrain favorable à l'apparition d'une néoplasie myéloproliférative (Olcaydu et al.2009).

Le rôle de l'haplotype 46/1 nécessite de plus amples investigations car aujourd'hui encore, aucune corrélation entre l'haplotype et la clinique n'a pu être prouvée.

Les hypothèses que nous venons d'évoquer quant aux mécanismes qui permettent d'expliquer l'implication de la mutation JAK2V617F dans trois phénotypes différents ne sont pas encore bien étayées et auront besoin de davantage de recherches pour expliquer clairement pourquoi et comment émergent les différents phénotypes.

### **3 Clinique de la PV et des néoplasies myéloprolifératives**

Les caractéristiques cliniques concernant la PV que nous allons évoquer sont dans les faits communes à toutes les NMP Ph(-). Les tableaux cliniques observés sont une tendance thrombotique, une tendance hémorragique, une transformation en leucémie aiguë et parfois, une évolution d'une pathologie en une autre pathologie, notamment le passage d'une PV ou d'une TE à une MP ou encore d'une TE en PV. Nous mettrons l'accent quand cela est possible sur la PV, sujet de notre étude.

#### **3.1 Les complications cardiovasculaires**

##### **3.1.1 Thrombose**

La thrombose des grandes artères est la cause principale de mortalité chez les patients atteints de NMP. Elles peuvent induire de graves manifestations neurologiques, cardiaques, ainsi qu'au niveau de la circulation périphérique. De la

même manière, les thromboses veineuses profondes ou portales peuvent entraîner respectivement une embolie pulmonaire ou une insuffisance hépatique graves (syndrome de Budd-Chiari).

### **3.1.1.1 Altération de la microcirculation**

La plupart des manifestations cliniques sont des érythromélgies, des altérations de la vision et de l'audition, un syndrome de Raynaud et des céphalées intractables. L'une des choses caractéristiques est l'érythromélgie répondant bien cliniquement au traitement par l'aspirine. Les patients la décrivent comme une sensation de brûlure dans les doigts des mains et des pieds. Elle s'accompagne souvent de forte chaleur des extrémités touchées, d'œdème, de rougeur de la peau pouvant devenir violacée. Durant les phases avancées, on peut même voir apparaître des zones de nécroses, y compris une gangrène périphérique si l'érythromélgie atteint des artères de plus grand calibre. L'érythromélgie touche le plus souvent les patients atteints de PV et de TE mais elles peuvent aussi toucher des patients atteints de syndromes myélodysplasiques, voire de pathologies non hématologiques.

L'érythromélgie ne se produit cependant jamais en cas de thrombose secondaire. Ceci permet de confirmer que les anomalies qualitatives plaquettaires tiennent une place importante dans la pathogénicité de cette affection.

La physiopathologie des céphalées reste incertaine même si les symptômes neurologiques des NMP montrent une similitude surprenante avec les migraines avec aura. Parmi les symptômes transitoires pouvant se produire, la dysarthrie, la cécité monoculaire transitoire, la mono ou l'hémi-parésie sont courants. La dysfonction visuelle peut aussi se manifester par une diplopie transitoire ou par une vision floue de survenue soudaine. L'ensemble de ces symptômes disparaissent par traitement antiagrégant (Landolfi et al, 2008).

### **3.1.1.2 Thrombose artérielle**

De nombreuses études ont montré que très souvent, c'est lors d'un évènement de thrombose artérielle que l'on pose le diagnostic de PV et de TE (Landolfi et al, 2008). La thrombose de grandes artères concerne souvent des vaisseaux cérébraux ou les artères coronaires. L'accident vasculaire cérébrale ischémique est une cause fréquente de décès chez les sujets atteints de PV sans traitement, et constitue

jusqu'à 30 à 40% des évènements thrombotiques chez les patients atteints de PV (Marchioli et al.2005).

Les syndromes coronariens aigus quant à eux sont plus rares, surtout si le patient est suivi médicalement, et sous traitement.

### **3.1.1.3 Thrombose veineuse**

La thrombose veineuse quand elle survient chez des patients atteints de PV et de TE est dans la majorité des cas une thrombose veineuse profonde des membres inférieurs, à l'origine parfois d'embolies pulmonaires. Quant aux thrombophlébites superficielles, quand elles se produisent, elles touchent alors des parties du corps rarement foyers de thrombophlébite chez la population générale (Landolfi et al, 2008). Les thromboses veineuses sont fréquentes chez les patients atteints de PV et constituent approximativement un tiers du total des thromboses (Marchioli et al.2005).

On a rapporté la survenue de thrombose des sinus veineux cérébraux et du territoire splanchnique (portal et hépatique) chez des sujets féminins, d'âge jeune, ceci parfois avant de poser le diagnostic de NMP. On estime que dans 40 à 60% des cas de thrombose de la veine porte hépatique, il existe une NMP sous-jacente.

C'est pourquoi lorsqu'on diagnostique une thrombose du territoire splanchnique chez un individu, il faut absolument mener les explorations nécessaires afin d'exclure de manière certaine une NMP non diagnostiquée jusqu'alors. Parmi les causes possibles de thrombose du territoire splanchnique, on retrouve une augmentation du flux sanguin portal, la splénomégalie congestive, et l'hématopoïèse extramédullaire hépatique.

### **3.1.1.4 Facteurs de risques de survenue d'évènements thrombotiques**

On a actuellement recensé plusieurs facteurs qui pourraient jouer un rôle dans la survenue d'évènements thrombotiques chez les patients atteints de NMP et seraient donc des facteurs de risque de survenue de ces phénomènes.

#### 3.1.1.4.1 Age et antécédent de thrombose

L'âge du sujet et des antécédents d'évènements thrombotiques sont classiquement considérés comme des facteurs de risque de survenue d'un nouvel évènement chez les patients atteints de PV (Marchioli et al.2005).

Une étude épidémiologique à laquelle ont participé 1213 patients atteints de PV a montré que le risque de développer une thrombose est de 1.8% chez les patients de moins de 40 ans, et que le risque augmente de 5.1% par année à partir de l'âge de 70 ans et au-delà (Gruppo Italiano Studio Policitemia.1995).

#### 3.1.1.4.2 Leucocytose

De nombreuses publications présentent comme facteur de risque de développer une thrombose une augmentation du nombre de leucocytes dans le sang chez des patients atteints de PV.

Deux études de 1638 patients et 459 patients atteints de PV associent un risque thrombotique plus grand aux patients présentant un nombre de leucocytes augmentés dans la formule sanguine.

Dans la première étude, a mis en évidence un risque accru d'infarctus du myocarde chez des patients dont la numération leucocytaire est élevée, quand le taux dépasse  $15 \text{ G /L}$  par rapport aux patients avec un taux inférieur à  $10.10^9/\text{L}$ . La deuxième étude a aussi établi qu'une leucocytose de plus de  $15.10^9$  leucocytes/L constitue à la fois un facteur de risque de survenue d'évènements thrombotiques mais aussi un facteur de risque de survenue de de thrombose veineuse (Landolfi et al.2007).

#### 3.1.1.4.3 La mutation JAK2V617F

Depuis la découverte de la mutation JAK2V617F, l'association de cette mutation à un risque accru de thrombose a fait l'objet de nombreuses études. Cette association n'a jusqu'alors pas fait l'objet de consensus (Levine et al.2007).

Il est particulièrement intéressant de constater l'association qu'il existe entre la présence de la mutation JAK2V617F et l'apparition d'épisodes thrombotiques à localisations atypiques. De fait, 58 % des syndromes de Budd-Chiari idiopathiques présentent la mutation JAK2V617F en l'absence de toutes autres caractéristiques cliniques ou hématologiques propres aux NMP et la mutation JAK2V617F a été

mise en évidence chez 18 à 35 % des patients qui ont été sujets à une thrombose des veines portes ou mésentériques (Colaizzo et al.2007).

En ce sens, il a été suggéré que la mutation JAK2V617F pourrait être considérée comme un marqueur diagnostique de formes « latentes » de NMP.

L'influence de la mutation JAK2V617F sur l'hémostase a été étudiée. Il a ainsi été démontré qu'il existe une corrélation entre cette mutation et une activation plaquettaire plus importante, avec une augmentation de l'expression de la sélectine P tant à l'état basal qu'après stimulation par l'acide arachidonique (Arellano-Rodrigo et al.2006). Postérieurement à ces premières observations et en accord avec celles-ci, il a été démontré qu'il existe une relation entre la charge allélique de la mutation JAK2V617F et les paramètres d'activation plaquettaires (sélectine P et CD40L soluble) (Robertson et al.2007). De plus, on a mis en évidence que le pourcentage de complexes leucoplaquettaires est plus important chez les patients présentant la mutation JAK2V617F (Falanga et al.2007).

Il a aussi été démontré une relation entre la mise en évidence de la mutation JAK2V617F et une activation leucocytaire plus importante. Ceci a pu être observé tant au niveau des polynucléaires neutrophiles (avec augmentation de la phosphatase alcaline granulocytaire et du CD14 et une augmentation du pourcentage de complexes neutrophiles-plaquettes) qu'au niveau des monocytes (avec une expression accrue du CD11b et du facteur tissulaire FT après stimulation par du lipopolysaccharide) (Arellano-Rodrigo et al.2006)

#### 3.1.1.4.4 Facteurs de risques cardiovasculaires

Les facteurs de risques cardiovasculaires (hypertension artérielle HTA, tabagisme, diabète de type 2, et l'hypercholestérolémie) sont jusqu'à aujourd'hui sujets de controverse quant au rôle possible qu'ils pourraient jouer dans le développement d'évènements thrombotiques.

Concernant la PV, l'étude ECLAP incluant 1636 atteints de PV a permis d'étudier l'influence des facteurs de risque cardiovasculaires patients classiques dans le développement d'évènements thrombotiques chez ces patients. Le tabagisme chez en cas de PV augmente de manière indépendante le risque de développer des complications thrombotiques artérielles (Landolfi et al, 2007).

#### 3.1.1.4.5 Les polymorphismes hémostatiques

Une étude portant sur 178 patients atteints de PV et 126 de TE a mis en évidence une incidence plus importante des thromboses veineuses dans le groupe de patients porteurs de la mutation du facteur V Leiden (Ruggeri et al.2002).

#### 3.1.1.4.6 Anticorps antiphospholipides

La présence d'anticorps antiphospholipides a été décrite comme un facteur de risque accru d'incidence de thrombose (Jensen et al.2002).

#### 3.1.1.4.7 Les groupes sanguins ABO

Nombre d'études publiées ont démontré que les sujets de groupe sanguin autre que le groupe O présentent un risque significativement plus important d'être sujet à des évènements thrombotiques tant veineux (thrombose veineuse profonde, thromboembolie pulmonaire) (Morelli et al.2005) qu'artériels (infarctus aigu du myocarde, maladie artérielle périphérique) (Clark et al.2008). Au contraire des autres groupes, le groupe O présente des tendances hémorragiques plus importantes par un niveau plus important de Facteur de von Willebrand de l'ordre de 25%. Cependant, jusqu'à aujourd'hui, il n'existe aucune étude qui se serait penchée sur le rôle que pourraient jouer les différents groupes sanguins dans la survenue d'évènements thrombotiques chez des patients atteints de NMP.

### **3.1.2 Hémorragies**

L'étude ECLAP a démontré que chez les patients atteints de PV, un évènement hémorragique antérieur est un important facteur prédictif de la survenue d'autres évènements (Landolfi et al. 2004). Pour aider à apprécier le risque hémorragique, différentes catégories de risque ont été établies :

- Patients à haut risque hémorragique si le nombre de plaquettes dans le sang est supérieur à 1500 G/L, antécédents d'hémorragies importantes, ou présence de trois facteurs de risque mineurs. Les facteurs de risque mineurs sont une durée totale de la maladie de plus de 15 ans, une formule plaquettaire de plus de 1000 G/L et des antécédents d'hémorragie de faible intensité.

- Patients à risque hémorragique intermédiaire quand le patients présente deux facteurs de risque mineurs que nous venons de citer précédemment.
- Patient à faible risque hémorragique s'il ne remplit aucune condition susmentionnée.

## **3.2 Etiopathogénie de la thrombose dans la PV et les autres NMP**

La pathogénie de la thrombose dans les NMP n'est pas simple à déterminer. Cependant, ce qu'il ressort des études parues à ce jour est l'implication de différents facteurs comme l'augmentation de la masse cellulaire (dans le cas de la PV), l'augmentation de la masse plaquettaire, l'activation des leucocytes et des plaquettes et la formation de complexes leucoplaquettaires, ainsi que des facteurs endothéliaux et prothrombotiques circulants.

Des études récentes ont mis en évidence le rôle de la mutation JAK2V617F dans la pathogénie de la thrombose, ce que nous illustrerons par la suite de notre exposé.

### **3.2.1 Rôle des plaquettes dans la pathogénie des thromboses chez le sujet atteint de NMP**

L'affection clonale de la lignée mégacaryocytaire a une répercussion directe sur les modifications morphologiques, métaboliques et fonctionnelles des plaquettes lors de NMP (Raszeja-Specht et al.2001). On a supposé qu'il existe une implication des plaquettes dans le développement d'évènements thrombotiques en se fondant sur plusieurs éléments:

- des études histologiques ont démontré que l'érythromélagie a pour cause un dépôt de microagrégats plaquettaires dans les vaisseaux capillaires de la microcirculation et la réponse excellente au traitement par l'aspirine appuie ce mécanisme (Cortelazzo et al.1990)
- la diminution du nombre de plaquette lors d'un traitement cytoréducteur diminue l'incidence de thromboses (Cortelazzo et al.1995)
- la diminution du risque d'évènements cardiovasculaires en cas de traitement antiagrégant (Marchioli et al.2005).

### **3.2.1.1 La numération plaquettaire**

Comme cela a déjà été documenté, lors de NMP, la thrombocytose sévère (>1000G/L) est plutôt associée à des évènements hémorragiques qu'à des évènements thrombotiques par le développement possible d'une maladie de von Willebrand acquise (Landolfi et al.2006).

Quant à la thrombocytose, en soi, il n'a été établi aucune corrélation évidente avec le risque de complications vasculaires majeures, bien qu'on ait décrit une amélioration clinique des altérations de la microcirculation et de la fonction des plaquettes une fois la thrombocytose contrôlée (Elliott et al.2005).

L'étude PVSG (Polycythaemia Vera Study Group) va dans ce sens. Lors de cette étude, aucune corrélation n'a été établie entre la survenue de complications thrombotiques et le décompte plaquettaire (Di et al.2007). L'utilisation d'un traitement cytoréducteur lors d'une PV permet de diminuer l'incidence des thromboses. De manière concomitante à la diminution de la numération plaquettaire, il va y avoir grâce à l'effet myélosuppresseur du médicament une diminution de la numération leucocytaire et de l'hématocrite, expliquant la diminution de l'incidence de thromboses (Cortelazzo et al.1995).

En prenant en compte l'ensemble de ces éléments, on peut conclure qu'il semble ne pas exister de relation entre la thrombocytose et le développement de thromboses. Ceci ne remet pas en question le rôle des plaquettes dans le risque thrombotique, appuyé par plusieurs études.

### **3.2.1.2 Altérations de la fonction des plaquettes**

Diverses altérations des glycoprotéines (GP) membranaires et des récepteurs plaquettaires ont été décrites. Parmi ces altérations, on note une diminution de l'expression de GPIb (récepteur du facteur de von Willebrand), GPIIb/IIIa (récepteur du fibrinogène), et une augmentation de l'expression de GPIV (récepteur de la thrombospondine et du fibrinogène) (Jensen et al.2000). Cependant, aucune corrélation entre ces altérations et le tableau clinique des patients atteints de PV n'a pu être établie de manière certaine.

Dans cet esprit, des études se sont intéressées aux différents polymorphismes des GP, en cherchant à mettre en relation un allèle donné avec un risque de thrombose accru. La présence de l'allèle HPA-1b de GPIIIa a été associée à une augmentation du risque artériel en cas de PV (Afshar-Kharghan et al.2004).

Environ deux tiers des patients atteints de TE présentent une agrégation plaquettaire défectueuse (Cesar et al.2005). La réponse à l'épinéphrine est la plus fréquemment touchée, mais il est plus rare de détecter une modification de la réponse à l'acide arachidonique sans administration préalable d'aspirine. Cette modification de la fonction plaquettaire peut s'expliquer par deux altérations différentes :

- une diminution, voire une absence totale de récepteurs à l'épinéphrine ou au collagène.
- une altération du stockage granulaire.

Aucune étude jusqu'alors n'a établi de relation entre les anomalies d'agrégation plaquettaire et une augmentation du temps de saignement chez les patients atteints de NMP. En prenant en compte cet élément, les modifications de l'agrégation plaquettaire ne permettent pas en soi de justifier la tendance hémorragique, qui pourrait être une conséquence du traitement antiagrégant ou du développement d'une maladie de von Willebrand acquise (Michiels et al.2006).

La théorie la plus acceptée postule l'existence dans la circulation de plaquettes hypersensibles entraînant la formation de petits agrégats dans les vaisseaux les plus distaux, ainsi que leur dégranulation ; suite à ce phénomène, on observerait la désagrégation de ces mêmes plaquettes, retournant dans la circulation, mais avec une diminution fonctionnelle certaine qu'on peut mettre en évidence par des tests d'agrégation plaquettaire (Michiels et al.2006).

L'analyse des métabolites issus de l'acide arachidonique a mis en évidence dans des cas de TE une augmentation de la production de métabolites actifs et plus particulièrement du thromboxane B<sub>2</sub>, qui pourrait expliquer l'hyperactivité plaquettaire (Mayordomo et al.1995).

L'augmentation des niveaux plasmatiques de facteur 4 plaquettaire et de  $\beta$  thromboglobuline est un argument supplémentaire mettant en exergue une activation plus importante des plaquettes in vivo (Michiels et al.2006).

En cas de PV, les anomalies fonctionnelles sont similaires aux anomalies décrites pour la TE, avec une augmentation du thromboxane A<sub>2</sub> qui peut être mise en relation avec les complications hémorragiques. L'hématocrite élevé semble influencer sur la détérioration de l'agrégation, car après correction de l'hématocrite, on observe un retour à la normale de l'agrégation plaquettaire. (Michiels et al.2006)

L'activation plus importante des plaquettes in vivo lors de NMP peut entraîner un effet thrombogénique en interagissant avec les leucocytes et les cellules

endothéliales (Raszeja-Specht et al.2001). La surexpression de la sélectine P et de la thrombospondine provenant des granules  $\alpha$  donne lieu à la formation d'agrégats leucoplaquettaires. Les plaquettes activées vont avoir un effet direct sur la production par les cellules endothéliales de la MCP1 (monocyte chemoattractant protein 1), et de molécules d'adhésion. L'adhésion des monocytes aux plaquettes va entraîner la modification des fonctions des deux intervenants. Les plaquettes vont être activées et il va y avoir augmentation de la production du PDGF (Platelet Derived Growth Factor) et augmentation de l'expression du facteur tissulaire (FT) des monocytes.

On peut analyser les thrombopathies associées aux NMP à l'aide du PFA-100 (Platelet Function Analyzer), dénommé en français le temps d'occlusion plaquettaire (TOP). Ce test semi-automatique permet de détecter les troubles de la fonction plaquettaire.

Les conditions hémodynamiques de l'adhésion et de l'agrégation plaquettaire suite à une lésion vasculaire vont être simulées in vitro par l'automate à l'aide d'une membrane de collagène en présence d'un agoniste plaquettaire (ADP ou épinéphrine). On va débiter le test par un TOP en présence d'épinéphrine. Le TOP est normal s'il est inférieur à 150 secondes et il est dit allongé s'il est supérieur à 150 secondes. En cas d'allongement, on procède à une seconde épreuve en présence d'ADP pour confirmer l'allongement du TOP. Un TOP normal est alors inférieur à 100 secondes, et il est allongé s'il est supérieur à cette valeur. 75% des patients atteints de TE présentent un PFA-100 modifié en présence de collagène /ADP et de collagène/épinéphrine (Cesar et al.2005).

Une seule étude a été réalisée pour déterminer s'il existe un lien entre le TOP et la présence ou non de la mutation JAK2V617F. Elle n'a pas mis en évidence de différence significative entre les deux groupes (Falanga et al.2007).

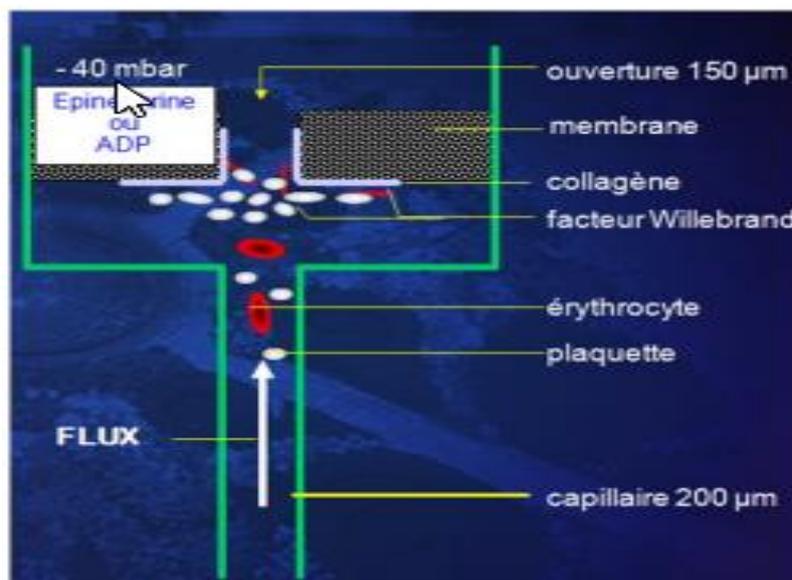


Figure 17 : schéma de principe du PFA-100 (d'après <http://www.lab-72.com/>)

### 3.2.2 Rôle des leucocytes dans la pathogénie des thromboses chez le sujet atteint de NMP

Le lien existant entre les leucocytes et la thrombogenèse en relation avec la lésion de l'endothélium des vaisseaux a fait l'objet d'étude au sein d'études plus larges (infarctus aigu du myocarde et l'accident vasculaire cérébral), (Sarma et al.2002 ; McCabe et al.2004). Les neutrophiles activés peuvent affecter l'hémostase à la fois par la production de substances oxydantes et par leur interaction avec les plaquettes, les monocytes, et les cellules endothéliales.

Les neutrophiles activés sont capables de libérer des cytokines (G-CSF et GM-CSF), le facteur de nécrose tumorale (TNF) et des molécules d'adhésion. Ils peuvent aussi libérer dans le milieu des protéases intracellulaires (élastase et cathepsine G) qui pourront exercer leur action sur les cellules endothéliales et les plaquettes en modifiant l'équilibre hémostatique vers un état prothrombotique, et en promouvant une chaîne réactionnelle d'oxydation qui entrainera la lésion de l'endothélium vasculaire.

L'adhésion initiale des leucocytes aux plaquettes se produit entre la sélectine P plaquettaire, et son ligand leucocytaire le PSGL-1 (P-Selectin Glycoprotein Ligand 1), suite à quoi les leucocytes établissent une autre liaison entre les molécules d'adhésion CD11b/CD18 avec les GP membranaires plaquettaires GPIb et GPIIb/IIIa, ce qui donne naissance aux agrégats leucoplaquettaires. Ces derniers vont s'unir à la paroi du vaisseau grâce à l'ICAM1 endothéliale (InterCellular Adhesion Molecule).

Une fois fixés à la paroi cellulaire, les agrégats leucoplaquettaires vont contribuer au risque thrombotique (Figure 18).

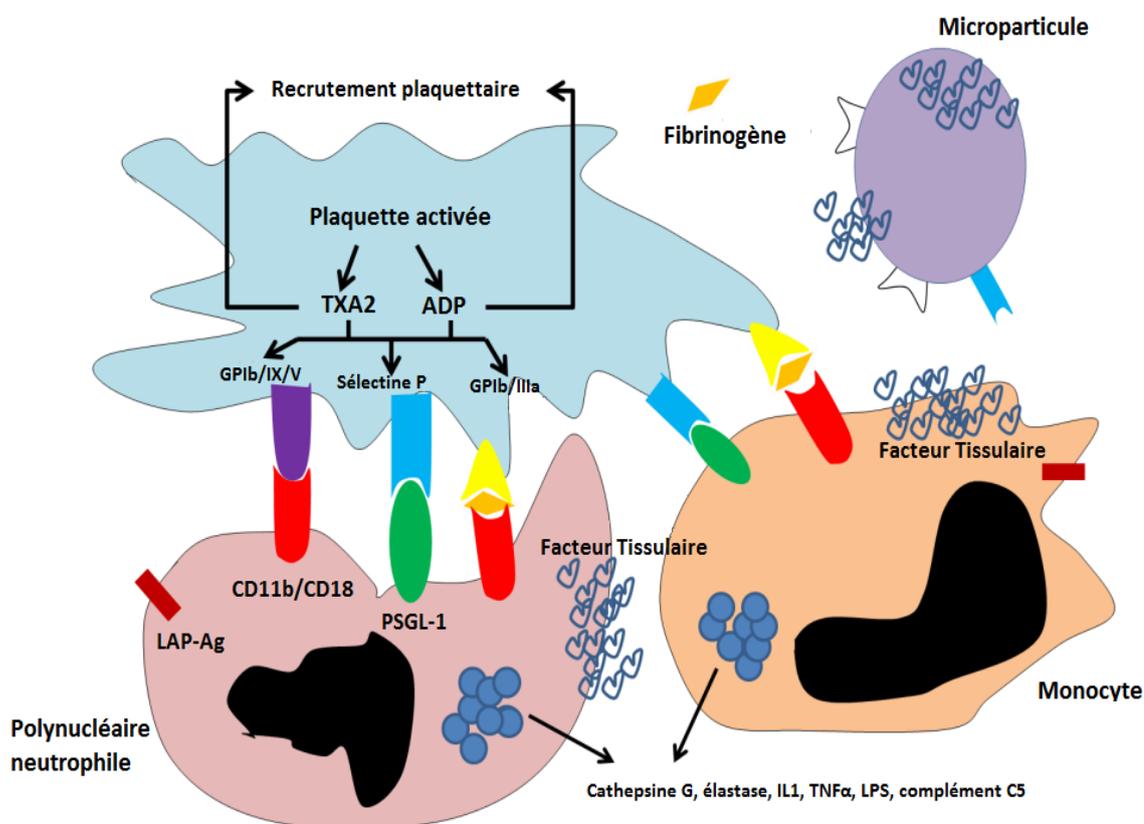


Figure 18: Mécanisme d'interaction des plaquettes, neutrophiles et monocytes, et production de substances prothrombotiques. La figure montre que l'interaction du neutrophile avec les plaquettes est coordonnée par une cascade d'évènements au cours desquels la sélectine P va se lier au PSGL-1 du neutrophile.

ADP : adenosine diphosphate ; GP : glycoprotéine ; IL : interleukine ;

TX : thromboxane ; LAP :phosphatase alcaline leucocytaire ;

LPS :lipopolysaccharide ; TNF :facteur de nécrose tumorale (d'après Landolfi et al., 2008)

Chez les patients atteints de PV et TE, on observe une activation leucocytaire avec une augmentation de l'expression des molécules d'adhésion CD11b/CD18 et une diminution de la sélectine L. Cette activation des neutrophiles va aussi s'accompagner d'une augmentation du taux d'élastase et de myéloperoxydase dans le plasma ainsi que d'une libération de thrombomoduline et de facteur de von Willebrand endothéliaux (Falanga et al.2005).

L'expression de CD11b/CD18 à la surface des monocytes et des neutrophiles diminue chez les patients traités par l'aspirine ce qui sous-tend que l'activation des neutrophiles est secondaire à l'activation plaquettaire (Carobbio et al.2007).

Différents travaux concernant le rôle que pourrait jouer la mutation JAK2V627F dans les paramètres d'activation cellulaire ont été publiés. La mutation JAK2V617F d'après ces travaux joue en faveur d'une activation leucocytaire et plaquettaire accrue chez les patients porteurs de la mutation comme nous l'avons déjà évoqué précédemment (Robertson et al.2007).

Une étude s'est récemment intéressée au rôle que pourraient jouer les polynucléaires basophiles et les mastocytes dans les NMP et leur relation avec la mutation JAK2V617F. Concrètement, l'étude a porté sur un groupe de patients atteints de PV, et il a été rapporté une augmentation de l'activation des basophiles tant à l'état basal qu'après leur stimulation, augmentation en corrélation avec le pourcentage d'allèle muté JAK2V617F présent chez les patients. On a aussi pu établir grâce à cette étude une corrélation entre la charge allélique et la survenue de prurit aqueux, caractéristique de ce groupe de patients. Ces données appuieraient la participation de la mutation JAK2V617F dans l'activation cellulaire décrite lors de NMP, et son implication possible dans le développement de phénomènes thrombotiques (Pieri et al.2009).

### **3.2.3 Rôle de l'hématocrite dans la pathogénie des thromboses chez le sujet atteint de NMP**

Dans le cadre de la PV, il a été démontré que des valeurs élevées de l'hématocrite entraîne un risque accru de survenue d'épisodes thrombotiques par une augmentation de la viscosité sanguine (Pearson et al.1978).

Il est à noter qu'en cas de PV, et sans traitement, la grande majorité des évènements thrombotiques ont lieu au niveau du territoire vasculaire cérébral, particulièrement sensible à l'hyperviscosité sanguine (Kwaan et al.2003).

On a répertorié et ceci est vrai pour la PV comme pour la TE des modifications biochimiques et du contenu de la membrane des érythrocytes (Turitto et al.1980).

Ces altérations peuvent altérer le flux sanguin par la formation d'agrégats érythrocytaires. Ces derniers sont capables parfois d'obstruer le flux sanguin des vaisseaux de petit calibre, pouvant entraîner alors une ischémie, voire un infarctus et ceci concerne particulièrement le flux sanguin cérébral.

Ces agrégats vont de plus faciliter la formation de complexes leucoplaquettaires, qui vont interagir avec la paroi du vaisseau ([Yedgar et al.2002](#)).

Un point intéressant concernant l'hématocrite apparaît si on compare pour une même valeur de l'hématocrite les conséquences cliniques chez le patient atteint de polyglobulie secondaire avec le patient atteint de NMP. Dans ce cas de figure, les patients atteints de polyglobulie secondaire ont un risque moins élevé de survenue d'évènements thrombotiques. Si on ajoute à ceci le fait que les thérapies cytoréductrices sont plus efficaces que les saignées pour prévenir lors de NMP les évènements thrombotiques, on peut clairement suspecter que ce sont à la fois des altérations qualitatives et quantitatives des érythrocytes et d'autres éléments cellulaires qui sont responsables de la clinique observée des NMP.

### **3.3 Implications de la charge allélique de JAK2V617F dans le profil clinique des NMP**

Les études initiales sur la mutation JAK2V617F se sont focalisées à distinguer les individus positifs/négatifs pour la mutation et les individus hétérozygotes ou homozygotes. Des études ultérieures ont mis en évidence que la réalité des faits est beaucoup plus complexe encore. En effet, on s'est aperçu que chez un même individu, il peut y avoir à la fois présence de cellules à l'état hétérozygote, à l'état homozygote, ainsi que des cellules non porteuses de la mutation. C'est pourquoi la terminologie a changé et qu'actuellement on parle de charge allélique de l'allèle muté ([Vannucchi et al.2008](#)).

#### **3.3.1 Homozygotes Vs hétérozygotes pour la mutation JAK2V617F**

L'état mutationnel a été défini de manière semiquantitative sur la base de la quantité d'allèle muté. Ainsi est considéré comme homozygote pour la mutation un individu présentant plus de 50% de l'allèle JAK2V617F.

L'étude la plus complète sur le sujet a été publiée en 2007. Elle a inclu 323 patients atteints de PV, dont 67,8% étaient hétérozygotes, et 32,2% homozygotes, ainsi que 639 patients atteints de TE dont 40,2% de patients étaient négatifs pour la mutation JAK2V617F, 57,7% étaient hétérozygtes, et 2,1% homozygotes.

Chez les individus homozygotes des deux groupes, on a remarqué une augmentation de la myélopoïèse et de l'érythropoïèse, alors que la numération

plaquettaire était inférieure à la numération observée chez les individus hétérozygotes.

Les patients homozygotes ont aussi d'après l'étude présenté une plus grande incidence de splénomégalie, un plus grand usage de traitements cytoréducteurs, ainsi qu'un risque accru de transformation fibrotique que les individus hétérozygotes.

Dans le groupe des patients atteints de PV, les homozygotes ont présenté une plus grande incidence de prurit (42%).

Dans le groupe des patients homozygotes atteints de TE on a observé une plus grande incidence de thrombose, ce qui n'a pas été le cas dans le groupe des homozygotes atteints de PV. Les patients homozygotes atteints de TE ont ainsi présenté un risque 3,97 fois plus important d'être victime d'un évènement thrombotique que les patients sans la mutation (Vannucchi et al.2007).

Une autre étude s'est intéressée à cette question. Elle a concerné des patients atteints de MP, parmi lesquels 193 présentaient la mutation JAK2V617F, 84 d'entre eux homozygotes pour la mutation et 109 hétérozygotes. Les individus homozygotes ont présenté de manière significative une incidence de leucocytose et de splénomégalie plus importante, ainsi qu'une nécessité plus grande d'initier un traitement cytoréducteur (Barosi et al.2007).

### **3.3.2 Quantification de l'allèle muté JAK2V617F et implications cliniques**

Une étude a été entreprise afin de déterminer comment la charge allélique de l'allèle muté JAK2V617F pourrait être impliquée dans les différences cliniques observées et s'il pourrait exister un lien entre elle et le risque accru de développer des complications thrombotiques chez les patient atteints de NMP. Cette étude prospective a concerné 173 patients pour lesquels la charge allélique a été déterminée lors du diagnostic par PCR quantitative. Lors de cette étude, on a mis en évidence une corrélation entre le pourcentage d'allèle muté et une érythroïèse et leucocytose augmentée, tout comme une expression plus importante des marqueurs d'activation leucocytaires. Il a été établi que les porteurs de plus de 75% d'allèles mutés présentaient un risque plus élevé de complications thrombotiques majeures tout au long de l'évolution de la maladie. La charge allélique supérieure à 75% est aussi apparue comme un facteur de risque indépendant d'initier un traitement cytoréducteur (Vannucchi et al.2007b).

Une autre étude a permis de déterminer qu'une charge allélique supérieure à 80% était non seulement associée à la leucocytose, mais aussi à la durée de la maladie, au stade de la splénomégalie, ainsi qu'à une plus grande incidence de thromboses veineuses (Silver et al.2007).

Une troisième étude portant sur le même sujet a quant à elle permis de déterminer qu'il n'existe aucune relation entre la charge allélique et le taux d'hémoglobine. Cependant il existe une relation entre la charge allélique et l'apparition de prurit ainsi que la survenue de thromboses des petits vaisseaux (Tefferi et al.2007).

### **3.4 Evolution d'une TE en PV**

Chez les patients atteints de TE, on a observé chez 5 à 6,5% d'entre eux une augmentation du taux d'hémoglobine et de l'hématocrite jusqu'à atteindre des valeurs similaires aux valeurs observées chez des patients atteints de PV. On a parfois aussi observé une évolution de la TE en PV d'après les critères de l'OMS (Le Bousse-Kerdiles et al.1999).

### **3.5 Progression de la PV en myélofibrose**

La myélofibrose post-PV est un évènement tardif dans le cours de la maladie. Le risque à 15 ans de voir une PV évoluer en myélofibrose chez les patients atteints de PV est estimé à 6% et l'incidence est de 5,1 nouveaux cas pour 1000 patients chaque année (Passamonti et al.2004).

La myélofibrose secondaire à une PV n'est pas une maladie en soi, mais résulte d'une réaction du stroma médullaire aux cytokines libérées par les clones des cellules proliférantes (Le Bousse-Kerdiles et al.1999).

La conséquence est le développement d'une fibrose réticulinique, collagénique, une ostéosclérose, et une néoangiogenèse (Tefferi, 2000).

Le tableau clinique de cette myélofibrose est le même que dans le cas d'une myélofibrose primitive : anémie progressive, splénomégalie massive, atteinte osseuse, hématopoïèse extramédullaire non hépatosplénique (Ribera et al.1983 ; Koch et al.2003).

D'après les résultats des biopsies réalisées pour les patients ayant été suivis cliniquement, le risque d'évolution vers la myélofibrose pour un patient atteint de TE est estimé à 50% avec une médiane de temps de suivi de 38 +/- 3 mois pour les

patients présentant à l'examen une fibrose médullaire. (Barosi et al.1999) Le grade de dysplasie mégacaryocytaire et le niveau d'hyperplasie des granulocytes sont des caractéristiques importantes à prendre en compte dans le risque de progression de la PV en myélofibrose.

Une étude a pu mettre en avant des facteurs prédictifs d'évolution de la PV en myélofibrose. Parmi ces facteurs prédictifs, une leucocytose modérée (nombre de leucocytes supérieur à 15 G /L) semble corrélée avec l'apparition d'une myélofibrose post-PV tout comme un niveau sérique de LDH (Lactate déshydrogénase) élevé (Passamonti et al.2008).

C'est ce qui a amené l'OMS à introduire dans ses critères de diagnostic de myélofibrose primitive les niveaux sériques de LDH (Barosi et al.2008).

Quant aux complications rencontrées en cas de myélofibrose post-PV, on a observé que la thrombose reste une complication fréquente chez ces patients atteints de PV, ceci même après la transition myélofibrotique. L'influence sur la survie des patients de la myélofibrose post-PV reste controversée (Spivak 2002), même si des études ont mis en évidence une détérioration du taux de survie global chez les patients atteints de PV après transformation de la maladie en fibrose (Passamonti et al.2008). On peut pour expliquer cette détérioration du taux de survie supposer l'implication de facteurs de risque additionnels acquis suite au passage de la PV à la myélofibrose post-PV. En effet, lors du passage de la PV à l'état de myélofibrose post-PV, l'hémoglobine et les plaquettes tendent progressivement à diminuer, tandis que les leucocytes tendent à diminuer ou à augmenter. Tous ces éléments ont contribué au développement d'un système de score pronostic IPSS en 1997 (International Prognostic Scoring System). La modification des critères existants et l'ajout d'autres critères de score ont permis de réviser l'IPSS qui est devenue l'IPSS-R (Revised IPSS) (Peter L. Greenberg et al.2012). Utilisable à tout moment après le diagnostic, l'IPSS-R permet de prédire la survie du patient. Il permet de mieux évaluer le risque entre des catégories de risque différentes que son prédécesseur l'IPSS (Juan-Carlos Hernández-Boluda et al.2014). D'après ce modèle, les patients sont classés par groupe de risque au moment du diagnostic. Un patient demeure dans un même groupe de risque jusqu'à l'acquisition de nouveaux facteurs de risque. Quand cela se produit, le risque est recalculé, le score change, et le patient intègre une catégorie de risque supérieur (figure 19).

## IPSS-R Cytogenetic risk groups\*,\*\*

Cytogenetic prognostic subgroups	Cytogenetic abnormalities
Very good	-Y, del(11q)
Good	Normal, del(5q), del(12p), del(20q), double including del(5q)
Intermediate	del(7q), +8, +19, i(17q), any other single or double independent clones
Poor	-7, inv(3)/t(3q)/del(3q), double including -7/del(7q), Complex: 3 abnormalities
Very poor	Complex: >3 abnormalities

## IPSS-R Prognostic Score Values\*

Prognostic variable	0	0.5	1	1.5	2	3	4
Cytogenetics	Very Good		Good		Intermediate	Poor	Very Poor
BM Blast %	<=2		>2-<5%		5-10%	>10%	
Hemoglobin	=>10		8-<10	<8			
Platelets	=>100	50-<100	<50				
ANC	=>0.8	<0.8					

## IPSS-R Prognostic Risk Categories/Scores\*

RISK CATEGORY	RISK SCORE
Very Low	<=1.5
Low	>1.5 - 3
Intermediate	>3 - 4.5
High	>4.5 - 6
Very High	>6

Figure 19 : L'IPSS-R (Revised International Prognostic Scoring System for Myelodysplastic Syndromes): les anomalies cytogénétiques, le pourcentage de blastes dans la moelle, le taux d'hémoglobine, la numération plaquettaire et des neutrophils permet de classer les patients en cinq catégories de risqué auxquelles seront associées des médianes de survie du groupe différentes d'après <http://www.mds-foundation.org/ipss-r-calculator/> de la mds (the Myelodysplastic Syndromes foundation)

### **3.6 Transformation en leucémique myéloïde aiguë (LMA)**

La principale cause de décès des patients atteints de NMP que ce soit de PV, TE, ou MP est la transformation leucémique. Elle se produit chez 8 à 23% des patients dans les 10 ans suivant l'établissement du diagnostic de la maladie (Okamura et al.2001).

Une étude suggère une incidence d'environ 1%. L'association entre la leucocytose et le risque de leucémie chez les patients atteints de PV a été décrite. Cette étude a démontré que les patients atteints de PV présentant une leucocytose ont un risque plus élevé de voir leur maladie évoluer vers la leucémie (Gangat et al.2007).

La LMA est diagnostiquée lorsqu'on met en évidence dans le sang ou la moelle osseuse une quantité de blastes de plus de 20%.

En l'absence de données, il est actuellement difficile de déterminer clairement des facteurs de risque de transformation leucémique des NMP. Il semblerait cependant que la progression en myélofibrose des patients atteints de PV et de TE ainsi que l'exposition à des agents cytotoxiques soient impliquées dans la transformation leucémique (Sterkers et al.1998).

### **3.7 Diagnostic de PV selon les critères 2008 de l'OMS**

Le tableau ci-dessous nous montre les nouveaux critères établis par l'OMS dans le diagnostic de la PV (figure 20). Un critère essentiel est la présence de la mutation JAK2V617F chez le patient. Cette mutation est retrouvée dans 95% des cas de PV, mais comme nous l'avons vu, elle est aussi retrouvée dans 60% des cas de TE et dans 50% des cas de MP. En conséquence, ce critère seul ne suffit pas à poser le diagnostic de PV. La détermination d'un taux d'hémoglobine supérieur à un seuil fixé vient résoudre cette problématique. Comme le tableau le montre bien, il s'agit alors pour poser le diagnostic de PV de mettre en évidence la mutation JAK2V617F, ainsi que tout élément en faveur d'une augmentation de la masse érythrocytaire. (hémoglobine > 18,5 g/dL et hématocrite > 54% chez l'homme, et hémoglobine > 16,5 g/dL et hématocrite > 47% chez la femme). Il faut en fait une évolution parallèle de l'hémoglobine et de l'hématocrite pour poser le diagnostic de PV.

**Le diagnostic exige la présence de deux critères majeurs et d'un critère mineur ou la présence du premier critère majeur associé à deux critères mineurs.**

**Critères majeurs**

1. Hémoglobine > 18,5 g/dL chez l'homme et 16,5 g/dL chez la femme ou toute autre preuve de l'augmentation de la masse globulaire érythrocytaire\*
2. Présence de *JAK2V617F* ou d'autres mutations fonctionnellement similaires (par exemple mutation de *JAK2* exon 12)

**Critères mineurs**

1. Biopsie médullaire montrant, en fonction de l'âge, une hyperplasie cellulaire portant sur les lignées érythrocytaire, granulocytaire, mégacaryocytaire (panmyélose)
2. Taux d'érythropoïétine sérique au-dessous des valeurs normales de référence
3. Pousse spontanée des progéniteurs érythrocytaires *in vitro*

\*Hémoglobine ou hématoците > 99<sup>e</sup> percentile des valeurs spécifiques de référence en fonction de l'âge, du sexe, de l'altitude de résidence

ou hémoglobine > 17 g/dL chez l'homme, 15 g/dL chez la femme associée à la preuve d'une augmentation d'au moins 2 g/dL par rapport aux valeurs antérieures (mais sans atteindre les valeurs seuils citées plus haut) ne pouvant s'expliquer par la correction d'une carence martiale

ou masse globulaire érythrocytaire > 25 % de la valeur normale calculée.

Figure 20 : Critères révisés proposés par l'OMS pour le diagnostic de PV en 2008 (Brière J.,2008)

### **3.8 Diagnostic différentiel de PV**

#### **3.8.1 Les fausses polyglobulies**

Lors de polyglobulie, l'étude isotopique de la masse sanguine ne laisse apparaitre aucune évolution de la masse globulaire.

On observe des fausses polyglobulies dans plusieurs pathologies. Parmi celles-ci, on recense l'alpha thalassémie hétérozygote. Au cours de la thalassémie, le patient va être sujet à une polyglobulie microcytaire, le taux d'hémoglobine étant normal ou diminué (Origa et al.2013).

La fausse polyglobulie peut aussi résulter d'une hémococoncentration suite à une diminution du volume plasmatique total, ceci sans élévation de la masse globulaire.

Ce tableau est souvent décrit dans les cas de déshydratation (diarrhées, prise de diurétiques, vomissements entre autres)

On peut aussi évoquer la polyglobulie du nouveau-né. Elle disparaît normalement spontanément en quelques jours. (Figure 21)

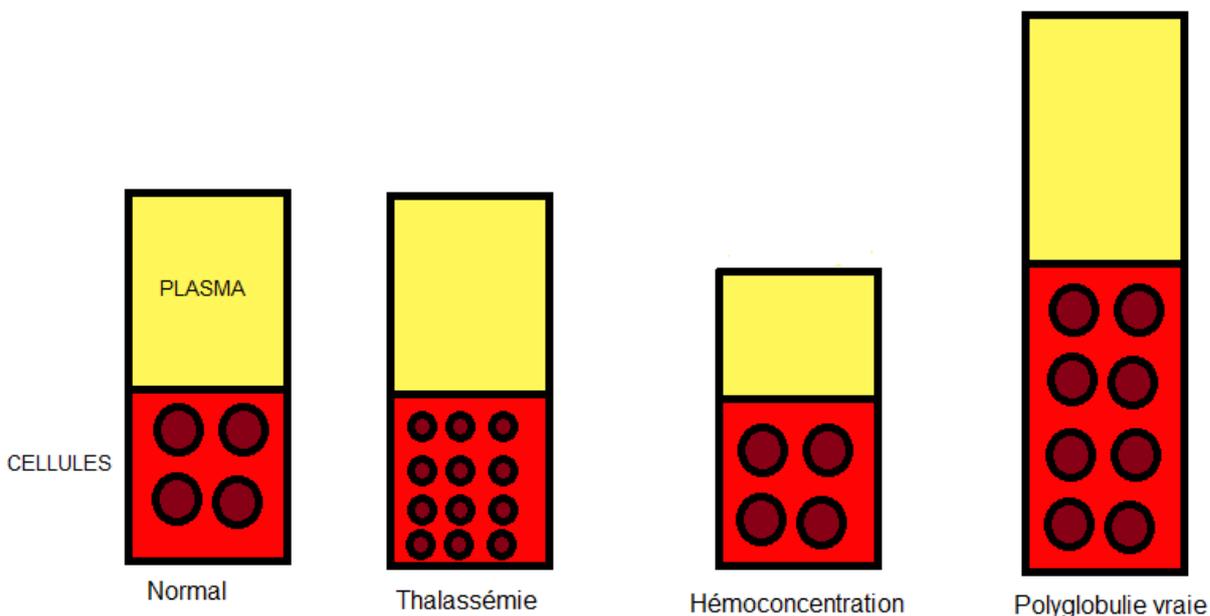


Figure 21 : Illustration des cas de fausses polyglobulies (d'après <http://fmc.med.univ-tours.fr/>)

### 3.8.2 Les polyglobulies secondaires

Les polyglobulies secondaires tout comme les fausses polyglobulies sont des éléments à prendre en compte dans le diagnostic différentiel de la PV. Elles sont d'étiologies diverses. Classiquement, on les répertorie en deux groupes, les polyglobulies secondaires avec hypoxie tissulaire subdivisées en deux sous-groupes, avec ou sans désaturation du sang artériel. La deuxième catégorie concerne les polyglobulies secondaires non hypoxiques.

#### 3.8.2.1 Les polyglobulies secondaires avec hypoxie tissulaire avec désaturation du sang artériel en oxygène

En cas de polyglobulie secondaire avec hypoxie, la PaO<sub>2</sub>, pression partielle en oxygène est inférieure < 65 mmHg ou la SaO<sub>2</sub> (saturation artérielle de l'hémoglobine en O<sub>2</sub>) est inférieure à 92%. On retrouve une polyglobulie secondaire avec hypoxie chez les patients en cas d'insuffisance respiratoire chronique. On observe alors suite à l'hypoxie la polyglobulie réactionnelle, selon le mécanisme que nous avons

décrit précédemment mettant en jeu les HIF. De même, d'autres pathologies peuvent entraîner une polyglobulie secondaire telle que les cardiopathies congénitales. Ces malformations cardiovasculaires cyanogènes vont entraîner une communication entre les cavités cardiaques droites et gauches. Le tabagisme peut aussi lorsqu'il est important être une cause de polyglobulie secondaire. Les séjours prolongés en altitude supérieur à 2500 mètres sont une autre cause de polyglobulie secondaire.

### **3.8.2.2 Les polyglobulies secondaires avec hypoxie tissulaire sans désaturation du sang artériel en oxygène**

Les polyglobulies secondaires avec hypoxie tissulaire sans désaturation du sang artériel en oxygène ont pour cause des anomalies de l'hémoglobine. Il peut s'agir de méthémoglobinémies congénitales ou secondaires. L'intoxication chronique au CO, monoxyde de carbone, peut elle aussi entraîner de telles polyglobulies secondaires. Enfin, on peut énoncer l'hémoglobinopathie congénitale par mutation au niveau de la globine comme cause de polyglobulie secondaire, l'hémoglobine étant hyperaffine pour l'oxygène empêche sa distribution au niveau des tissus.

### **3.8.2.3 Les polyglobulies secondaires sans hypoxie tissulaire**

La sécrétion inadaptée d'érythropoïétine est à l'origine des polyglobulies secondaires sans hypoxie tissulaire. Ceci peut se produire lors de cancers du rein (cause relativement fréquente), cancers hépatiques suite à une cirrhose, lors de kystes ovariens, certaines endocrinopathies comme la maladie de Cushing ou le phéochromocytome.

### **3.8.3 Orientation du diagnostic de polyglobulie en fonction du taux sérique d'érythropoïétine**

Un élément diagnostique important pour distinguer parmi les polyglobulies vraies les polyglobulies secondaires de la PV est le taux sérique d'érythropoïétine.

En cas de PV, ce taux est normal ou abaissé (Figure 22).

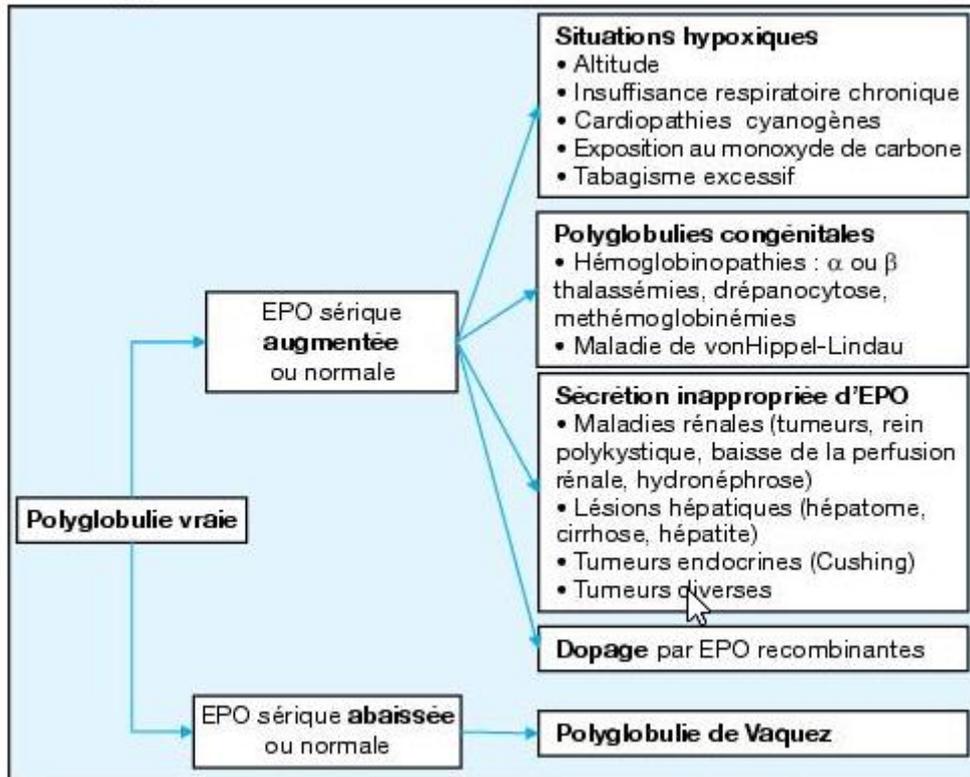


Figure 22 : Orientation diagnostique des polyglobulies vraies en fonction de la concentration sérique d'érythropoïétine (E. Klein et al. 2009)

Ainsi, de multiples situations physiologiques ou pathologiques peuvent entraîner des polyglobulies, fausses polyglobulies dans un cas, ou secondaires dans l'autre qu'il va falloir distinguer de la polyglobulie spécifique à la PV.

### **3.9 PV et TE, caractéristiques communes et divergences**

Des études ont montré que la TE avec mutation JAK2V617F et la PV ont des caractéristiques communes. Pendant le cours de ces maladies, on observe pour toutes les deux une augmentation du taux d'hémoglobine, un grand nombre de neutrophiles, une plus grande incidence de thromboses veineuses et une forte incidence de transformation de la TE en PV (Campbell et al.2005).

Les patients atteints de TE avec la mutation JAK2V617F présentent un taux plus faible d'EPO sérique et de ferritine. C'est pourquoi l'érythrocytose est limitée dans ce cas. Une étude a comparé 179 patients atteints de TE et 77 patients atteints de PV avec la mutation JAK2V617F. Il a été montré qu'il existe un « gradient » croissant concernant l'érythrocytose dans le sens patients atteints de TE, puis de TE JAK2V617F et enfin PV JAK2V617F. De plus, on a mis en évidence des

complications thrombotiques plus nombreuses chez le patient atteint de TE JAK2V617F que chez le patient atteint de TE de type sauvage, mais aucune différence significative n'a été observée avec les patients atteints de PV positifs pour la mutation JAK2V617F (Carobbio et al.2009).

De manière générale, un diagnostic de TE est posé quand on décèle une thrombocytose persistante et inexplicable (décompte plaquettaire > 450 G/L) La TE est en pratique courante un diagnostic d'exclusion. Ce diagnostic de TE est posé en l'absence de mise en évidence de conditions propices à la thrombocytose (lors de thrombocytoses secondaires) ou de désordres clonaux qui peuvent entraîner et expliquer une thrombocytose (Figure 23) (Beer et al.2011).

**Le diagnostic exige la présence des quatre critères suivants :**

1. Augmentation persistante du nombre de plaquettes  $\geq 450 \times 10^9/L^a$
2. Prolifération, en biopsie médullaire, prédominant sur la lignée mégacaryocytaire et faite d'une majorité d'éléments mûrs et de grande taille. Pas d'augmentation significative de la granulopoïèse neutrophile ni de l'érythroïèse et pas d'excès d'éléments immatures dans ces deux lignées
3. Absence des critères retenus par l'OMS en faveur du diagnostic de PV<sup>b</sup>, MPF (myélofibrose primitive)<sup>c</sup>, LMC (leucémie myéloïde chronique)<sup>d</sup>, MDS (syndrome myélodysplasique)<sup>e</sup> ou d'une autre maladie maligne de la lignée myéloïde
4. Démonstration de la mutation JAK2V617F ou d'un autre marqueur de clonalité ou en l'absence de marqueur de clonalité : absence d'argument en faveur d'une thrombocytose réactionnelle<sup>f</sup>

<sup>a</sup> Durant la période d'évaluation.

<sup>b</sup> L'exclusion de la PV requiert, 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.

<sup>c</sup> Requiert l'absence de fibrose réticulinique significative et de toute fibrose collagène ; l'absence d'érythromyélie sanguine ; l'absence d'hypercellularité médullaire manifeste (fonction de l'âge), accompagnée d'un aspect des mégacaryocytes typique de myélofibrose primitive (éléments regroupés en amas denses, de taille variant de petite à grande, dont le rapport nucléo/cytoplasmique est anormal avec un aspect hyperchromatique, bulbeux ou irrégulièrement contourné des noyaux).

<sup>d</sup> Requiert l'absence de BCR-ABL.

<sup>e</sup> Requiert l'absence de dysérythroïèses et de dysgranulopoïèse.

<sup>f</sup> 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.

Figure 23: Critères révisés proposés par l'OMS pour le diagnostic de TE en 2008 (Brière J.,2008)

## **4 Traitements actuels et futurs de la PV**

On peut améliorer dans un premier temps la qualité de vie et l'état de santé des patients atteints de PV en agissant sur les facteurs environnementaux. Une deuxième manière de considérer la maladie concerne les traitements médicamenteux.

### **4.1 Hygiène de vie**

Comme nous l'avons établi précédemment, la maladie thrombotique résulte de nombreux facteurs de risque, dont des facteurs de risque cardiovasculaires. L'identification de ces facteurs de risques cardiovasculaires ainsi que les ajustements nécessaires doivent être tout comme un mode de vie sain la pierre angulaire de la prévention des maladies vasculaires tant chez le patient atteint de PV que dans la population générale. Une attention toute particulière concernant la PV doit être portée sur le tabagisme qui joue un rôle prépondérant dans le risque de survenue de pathologie vasculaire. En effet, l'étude ECLAP (European Collaboration on Low-dose Aspirin in Polycythemia Vera) a de manière surprenante permis de constater que le tabagisme était très fréquent chez les patients retenus pour cette étude (Marchioli et al.2005). Grâce à une analyse multivariée des données de cette étude, il a été montré que le tabac est directement associé à un risque accru d'évènements thrombotiques artérielles. Aussi, en cas de PV, il est fortement recommandé de cesser de fumer.

### **4.2 Traitements médicamenteux**

Pour des patients sans traitement, une étude a montré que seuls 50% d'entre eux survivent à 18 mois, la cause du décès étant un évènement thrombotique. Pour les patients qui vivent plus longtemps, la transformation de la PV en myélofibrose et en leucémie aiguë sont les évènements qui limitent leur durée de vie. Partant de ce postulat, l'objectif majeur du traitement en cas de PV est de prévenir les complications thrombotiques et vasculaires en prenant en compte le risque thrombotique. Aujourd'hui, un traitement pour la PV est établi pour une catégorie de risques. Il se doit d'être adapté à la variabilité interindividuelle des patients (Mary et al.2015).

Bien que l'évolution de la maladie en myélofibrose ou sa leucémisation constituent des points importants à prendre en compte dans l'histoire de la maladie, aucun traitement actuel ne permet de retarder cette évolution ou de l'empêcher (Kremyanskaya et al.2015).

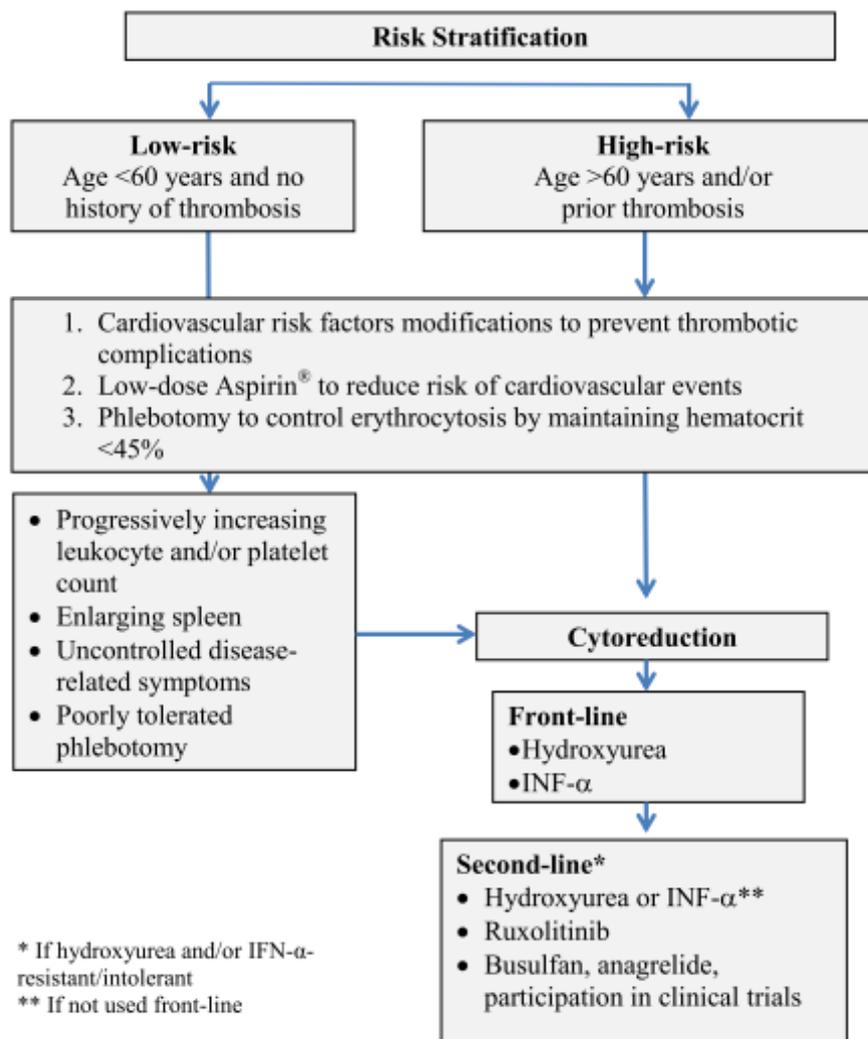


Figure 24 : algorithme actuel de traitement de la PV. HU : hydroxyurée. PV : polycythemia vera. La catégorie de risque thrombotique à laquelle appartient le patient détermine son traitement. Dans un premier temps pour les patients à faible risque, on utilise l'aspirine à faible dose et la saignée. Si les signes cliniques démontrent une efficacité du traitement initial, le traitement cytoréducteur est mis en place (Shireen Sirhan et al.2015)

## 4.2.1 Traitement pour les patients présentant un faible risque de thrombose : saignée et aspirine à faible dose

Les patients présentant un faible risque de thrombose sont des patients de moins de 60 ans, n'ayant jamais été sujet à des événements thrombotiques ou d'hémorragies importantes. Nous rappelons que les facteurs de risque cardiovasculaire doivent plus être contrôlés pour tous les patients indépendamment du risque qu'ils présentent.

### 4.2.1.1 La saignée

#### 4.2.1.1.1 Historique de la saignée

La saignée ou phlébotomie constitue une des techniques médicales majeures de la médecine par sa persistance dans le temps et la traversée des âges. Elle a été utilisée comme moyen thérapeutique depuis l'histoire antique. On considérait alors que le sang était la cause des maladies, ce qui justifiait son extraction à des fins curatives. Cette technique s'est maintenue à son plein essor jusqu'à la moitié du XIX siècle, point à partir duquel elle a commencé à décliner.

De nombreux peuples en ont fait usage parmi lesquels les incas, les grecs, les romains, et les arabes. La saignée a perduré au Moyen Age en devenant la pratique d'exercice des chirurgiens barbiers. Elle avait une place spéciale au sein de leur arsenal thérapeutique. Pour illustrer l'importance de la saignée dans l'histoire de la médecine, on peut évoquer sa place dans la tradition musulmane. Valorisée dans la tradition islamique, la saignée est supposée être le remède contre de nombreux maux. Le terme arabe est « al Hijamah ». Les récits prophétiques mentionnent la saignée par incision. Anas Ibn Mâlik rapporte que Muhammad le Prophète de l'Islam (صلى الله عليه وسلم) a dit : « Pendant mon Voyage Nocturne, je ne suis pas passé devant un groupe sans qu'ils ne me disent : « Ô Muhammad ! Ordonne à ta communauté de pratiquer la saignée. » (Sahîh Al-Jâmi' (5671)) (Ibn Al-Qayyim). On rapporte aussi qu'il aurait tenu en s'adressant à deux hommes les propos suivants : « Le meilleur de vos remèdes est Al-Hijamah. » (Sahih Al-Bukhârî (5696), Al-Bukhârî) (Sahih Muslim (1577) Muslim).

Plus proche de nous dans le temps, une équipe scientifique s'est récemment intéressée à la saignée. L'étude qu'ils ont menée a inclus 24 patients tous insuffisants rénaux chroniques, subissant 2 à 3 séances d'hémodialyse chaque semaine. Pendant un an, une fois par semaine après une des séances

d'hémodialyse, on pratiqua la saignée sur ces patients. Les principales valeurs physiologiques sanguines de ces patients ont été déterminées avant et après traitement par la saignée. Les résultats de cette étude suggèrent que la saignée chez ces patients s'est traduite par une amélioration de la qualité de vie par la réduction de la fatigue ressentie, l'amélioration de l'appétit et de la qualité du sommeil, du taux plaquettaire ainsi que d'autres paramètres hématologiques (diminution de la créatinine sérique, maintien du taux d'hémoglobine à une valeur proche de la normale sans besoin de transfusion) (Bilal et al.2015).

Ainsi, la saignée, bien que moins utilisée de nos jours, est une pratique médicale qui semble présenter de nombreux bienfaits dans certaines pathologies (hémochromatose, PV) et qu'on devrait redécouvrir. Nous allons maintenant considérer sa place et ses indications dans le traitement de la PV.

#### 4.2.1.1.2 La saignée dans le cadre de la PV

Le but de la saignée en cas de PV est de réduire le risque de thrombose veineuse et artérielle. Il a été prouvé qu'un contrôle strict de l'hématocrite en dessous de 45% était associé à un risque moindre de survenue d'évènements thrombotiques en comparaison avec une valeur de l'hématocrite comprise entre 45 et 50%. La saignée va entraîner une carence martiale avec hyposidérémie et microcytose. Il est incorrect cependant de relier la carence martiale avec une aggravation de la thrombocytose (D. Aruch et al.2015).

Cette saignée n'est pas un traitement de fond. Elle revêt un caractère d'urgence et n'est mise en place que si le patient est symptomatique. La réduction rapide de la volémie et de l'hyperviscosité du sang va permettre de réduire rapidement le risque thrombotique (P.Duthilleul.2015).

La saignée est effectuée à raison de deux à trois fois par semaine dans un premier temps. Initialement réalisée en hôpital de jour, la prise en charge pourra pour un meilleur confort du patient se faire à domicile par une infirmière diplômée d'Etat (IDE). Selon l'hématocrite, la saignée sera ensuite réalisée tous les 1 à 3 mois. Le volume de sang extrait est de 300 ml. Il faut mentionner que la valeur d'un hématocrite cible de 42% n'a pas été validée pour les individus de sexe féminin (Kremyanskaya et al.2015).

#### **4.2.1.2 L'aspirine et son effet antiplaquettaire**

L'étude ECLAP (The European Collaboration on low-dose aspirin for polycythemia vera) a permis de comparer l'effet antithrombotique de l'utilisation de l'aspirine à faible dose au même effet obtenu avec un placebo. Il a été démontré une réduction significative de risque de thrombose en cas d'utilisation d'aspirine à faible dose. L'effet antiplaquettaire de l'aspirine expliquerait ces résultats (Aruch et al.2015).

Un suivi sur une période de trois ans des patients traités par aspirine a montré une réduction significative de mort suite à un accident cardiovasculaire, des infarctus du myocarde non létaux et des thromboses veineuses (Griesshammer et al.2015).

De plus, aucun saignement important n'a pu être imputé à l'usage de l'aspirine dans le cadre de cette indication (Chul Won Choi et al.2015).

Ainsi, le traitement pour les patients atteints de PV et à faible risque thrombotique comprend la saignée et l'aspirine utilisée à faible dose (100 mg/j).

Cependant, en cas de survenue d'évènements ultérieurs au cours de la maladie chez ces patients ayant présenté d'emblée de faibles risques de thromboses, on aura recours à l'utilisation des mêmes thérapeutiques mises en place dans le cas des patients à haut risque de thromboses.

Ces évènements peuvent être une augmentation du nombre de leucocytes ou de thrombocytes, une aggravation de la splénomégalie, ou une persistance des symptômes de la maladie non atténués par le traitement. Il peut s'agir aussi d'une mauvaise tolérance à la saignée

Dans ce cas, le nouveau protocole thérapeutique sera le même que le protocole utilisé pour les patients présentant un risque important de thrombose.

#### **4.2.2 Traitement pour les patients présentant un risque important de thrombose ou pour les patients à faible risque mais dont les symptômes ne semblent pas contrôlés**

Les patients présentant un risque élevé de thrombose sont les patients de plus de 60 ans et/ou avec antécédents d'évènements thrombotiques.

#### **4.2.2.1 Traitement de première intention : l'hydroxyurée (HU, HYDREA\*)ou anagrélide (XAGRID\*), pipobroman (VERCYTE\*), interféron alpha (ROFERON A\*), interféron alpha pegylé (pegIFNα2a, PEGASYS\*)**

##### 4.2.2.1.1 L'hydroxyurée (HU, HYDREA\*) et l'anagrélide

L'hydroxyurée est un agent antimitotique. Cette molécule empêche la synthèse d'ADN par inhibition de la ribonucléotide réductase. L'HU a été évalué par le PV study group (PVSG) qui l'a comparé à d'autres thérapeutiques ainsi qu'à l'usage de la saignée seule.

L'utilisation de l'hydroxyurée permet un contrôle des symptômes constitutionnels de la maladie, de la splénomégalie, des douleurs osseuses, de l'hématocrite, et de la leucocytose. Ces effets peuvent n'être que temporaires. Il est à signaler parfois l'apparition d'une résistance au traitement (Mary et al.2015) (Figure 25).

Ce traitement est bien toléré. Parmi les effets indésirables les plus courants, on a rapporté des lésions cutanées et des muqueuses, des ulcères malléolaires, une réduction du nombre d'érythrocytes, des cas d'hyperpigmentation, de la fièvre, ainsi qu'une myélosuppression excessive (Kremyanskaya et al.2015).

<b>Polycythemia vera (presence of any indicate resistance/intolerance)</b>
Need for phlebotomy to keep hematocrit less than 45% after 3 months of at least 2 g/day of hydroxyurea
Uncontrolled myeloproliferation (ie, platelet count more than $400 \times 10^9/l$ and WBC count more than $10 \times 10^9/l$ ) after 3 months of at least 2 g/day of hydroxyurea
Failure to reduce massive splenomegaly by more than 50% as measured by palpation or failure to completely relieve symptoms related to splenomegaly after 3 months of at least 2 g/day of hydroxyurea
Absolute neutrophil count less than $1.0 \times 10^9/l$ or platelet count less than $100 \times 10^9/l$ or hemoglobin less than 10 g/dl at the lowest dose of hydroxyurea required to achieve a complete or partial clinicohematologic response
Presence of leg ulcers or other unacceptable hydroxyurea-related nonhematologic toxicities, such as mucocutaneous manifestations, gastrointestinal symptoms, pneumonitis, or fever at any dose of hydroxyurea

Figure 25 : Définition de la résistance et de l'intolérance à l'hydroxyurée (D. Aruch et al.2015)

Une étude dans le cadre de la thrombocytémie essentielle a comparé deux traitements : l'HU associée à l'aspirine à faible dose et l'anagrélide. L'HU a été associée à un risque plus faible de thrombose artérielle, d'hémorragies, et de transformation myélofibrotique. C'est pourquoi l'HU est le traitement cytoréducteur de première intention face à l'anagrélide, qui est utilisé en cas d'intolérance et/ou de résistance à l'HU.

#### 4.2.2.1.2 L'interféron alpha (IFN $\alpha$ ) et l'interféron alpha pegylé (pegIFN $\alpha$ 2a, PEGASYS\*)

Dans le traitement de la PV, réduire le risque thrombotique est un élément fondamental de la prise en charge. Un deuxième volet non des moindres consiste à prévenir l'évolution de la PV et sa transformation en myélofibrose ou en leucémie myéloïde aiguë. Aucun médicament dans l'arsenal thérapeutique ne permet de prévenir de manière certaine ces évolutions de la maladie. L'interféron alpha semble être le médicament qui semble le mieux y parvenir. Il permet de réduire la charge allélique de l'allèle JAK2V617F et de retarder, voire d'inverser le cours de la transformation myélofibrotique (Silve et al.2013).

L'interféron alpha (IFN $\alpha$ ) et sa forme pegylée (pegIFN $\alpha$ 2a) ont aussi montré leur efficacité dans le contrôle de la numération des cellules sanguines. On peut envisager l'utilisation des interférons alpha en première intention particulièrement chez le sujet jeune. En ce sens, ils représentent une alternative à l'HU.

Les effets indésirables de l' IFN $\alpha$  et sa tolérance dans le traitement à long court ont limité son utilisation. Les effets indésirables couramment rapportés comprennent une fatigue et un syndrome grippal qui s'estompent avec le temps ainsi que des troubles psychiatriques tels que la dépression. Une surveillance de la fonction thyroïdienne, hépatique et des signes de rétinopathie est recommandé dans le cadre de ce traitement.

La forme pegylée de l'interféron (pegIFN $\alpha$ 2a) a permis d'améliorer la tolérance du médicament. Des études de phase II ont montré que le pegIFN $\alpha$ 2a entraîne une rémission hématologique chez 76 à 95% des patients traités et une rémission moléculaire complète chez 18 à 30% des patients. Ces effets semblent perdurer dans le temps même après l'arrêt du traitement (Turlure et al.2011).

#### 4.2.2.1.3 HU vs interferon alpha

On pourrait être tenté de conclure de manière hâtive que l'interféron alpha et sa forme pegylée présenteraient un rapport bénéfice/risques supérieur à l'HU. En l'absence de données comparatives recueillies selon des protocoles standardisés, on ne peut pour l'instant ni confirmer ou infirmer une telle hypothèse.

L'interféron alpha et sa modalité d'administration, à savoir 1 injection sous cutanée/semaine représente un avantage certain pour les patients en comparaison avec la prise orale d'HU 1 à 3 fois par jour.

#### 4.2.2.1.4 Le pipobroman (VERCYTE\*)

Le pipobroman est un médicament cytoréducteur. L'ELN (European Leukemia Net) le recommande en deuxième intention suite à une PV non équilibrée par l'HU ou l'IFN $\alpha$ . Cependant, en raison de son fort risque leucémogène, on préfère l'utiliser chez des patients âgés de plus de 80 ans ainsi que chez des patients dont le risque thrombotique l'emporte sur le risque de leucémisation ou de myélofibrose post PV (L. Stein et al.2014).

#### **4.2.2.2 Traitement de seconde intention : l'hydroxyurée (HU, HYDREA\*) ou interféron alpha pegylé (pegIFN $\alpha$ 2a, PEGASYS\*), ruxolitinib (JAKAVI\*), busulfan (MYLERAN\*)**

En seconde intention, pour les patients atteints de PV présentant un haut risque de thrombose, on utilisera l'HU ou le pegIFN $\alpha$ 2a pour traiter les patients en fonction du médicament qui a été utilisé en première intention. Une autre possibilité thérapeutique est l'utilisation d'un inhibiteur de JAK1 et JAK2, le ruxolitinib, ou encore le busulfan qui est un agent alkylant bifonctionnel de l'ADN (acide désoxyribonucléique)

#### 4.2.2.2.1 Le ruxolitinib (JAKAVI\*)

Le ruxolitinib est un inhibiteur des janus kinases 1 et 2. Il est utilisé chez les patients présentant la mutation JAK2V617F. Ses effets bénéfiques ayant été démontrés par une étude de phase 2, une étude de phase 3 menée par une équipe internationale

a permis d'évaluer l'efficacité et la sécurité du traitement par le ruxolitinib comparativement à une thérapie standard chez des patients atteints de PV qui ont mal toléré le traitement à l'HU, ou dont la réponse au niveau clinique a été jugée insuffisante.

L'étude a inclus dans chaque groupe le même nombre de patients tous atteints de splénomégalie avec un volume de la rate supérieur ou égal à 450 cm<sup>3</sup>, nécessitant le recours régulier à la saignée pour le contrôle de leur hématokrite. Cette cohorte de patients n'avait auparavant jamais eu recours au traitement par un inhibiteur de JAK. 110 patients ont bénéficié du traitement par ruxolitinib et 112 patients ont bénéficié du traitement par HU.

La durée de l'étude a été fixée à 32 semaines, suite à quoi on a comparé le taux de patients au sein des deux groupes ayant vu leur hématokrite contrôlé par le traitement mis en place, ainsi qu'une réduction d'au moins 35% du volume de la rate.

Les résultats sont les suivants :

	Hématocrite contrôlé	Réduction du volume de la rate d'au moins 35%	Nombre d'évènements thromboemboliques
Traitement par RUXOLITINIB (110 patients)	60%	38%	1 patient
Traitement par HU (112 patients)	20%	1%	6 patients

	Rémission hématologique complète	Anémie de grade 3 ou 4	Thrombocytopénie de grade 3 ou 4
Traitement par RUXOLITINIB (110 patients)	24%	2%	5%
Traitement par HU (112 patients)	9%	0%	4%

	Réduction de 50% des symptômes de la maladie après 32 semaines
Traitement par RUXOLITINIB (110 patients)	49%
Traitement par HU (112 patients)	5%

Figure 26: Résultats de l'étude de phase 3 de comparaison du traitement par le ruxolitinib avec la thérapie standard à l'HU chez des patients atteints de PV (mise sous forme de tableau des résultats de l'étude en question d'après Vannuchi et al.2015)

Cette étude de phase 3 a permis de démontrer que chez des patients atteints de PV dont la réponse à l'HU était inadaptée, le ruxolitinib a permis un meilleur contrôle de l'hématocrite que le traitement standard par HU. Le ruxolitinib a permis de réduire de manière plus importante le volume de la rate que l'HU et a permis d'améliorer de manière beaucoup plus importante que l'HU les symptômes de la maladie (perte de l'appétit, dyspnée, fatigue, insomnie et douleur) (Vannuchi et al.2015).

Les effets indésirables du ruxolitinib rapportés récemment dans la littérature comprennent une anémie, une thrombopénie, des épisodes de diarrhée, des douleurs abdominales et des extrémités, et des œdèmes périphériques (Harrison et al.2012).

#### 4.2.2.2 Le busulfan (MYLERAN\*)

Le busulfan est un agent alkylant bifonctionnel de l'ADN pouvant former des ponts inter ou intracaténaux au sein de l'ADN. L'étude PVSG a montré que l'utilisation d'agents alkylants est associée avec un risque plus grand de leucémisation de la maladie (Finazzi et al.2005).

Le busulfan est un agent alkylant non spécifique. Il entraîne une réponse hématologique dans la majorité des cas. Cependant, sa posologie doit être rigoureusement contrôlée en raison de son effet myélosupresseur important. Classiquement, la dose est réduite une fois que l'objectif hématologique est atteint. Ce médicament est recommandé en seconde intention chez le sujet âgé dont l'espérance de vie est limitée ceci en raison de son fort pouvoir leucémogène.

Dans une étude récente portant sur le busulfan comme thérapie de seconde intention, 36 patients atteints de PV et de TE à un stade avancé réfractaire ou intolérants au traitement par HU ont été traités par le busulfan durant un temps moyen de 256 jours (Alvarez-Larran et al.2014). Après 203 jours, 83% des patients ont présenté une rémission hématologique complète. La probabilité de thrombose à deux ans était de 11%. On a rapporté trois cas de leucémie aiguë et de

transformation myélofibrotique de la maladie. L'importance du taux de leucémisation est selon les auteurs de l'étude significative.

Malgré ces éléments, le busulfan permet d'obtenir un fort taux de réponse hématologique chez les patients qui dure dans le temps.

Il est indiqué dans le traitement de la PV chez des patients âgés avec des antécédents de thrombose qui ne supportent pas le traitement par HU ou par ruxolitinib. Aussi, est-il un traitement utile dans l'arsenal thérapeutique de traitement de la PV.

#### **4.2.3 Cas particuliers de la myélofibrose : traitement par greffe allogénique de cellules souches hématopoïétiques (CSH)**

Actuellement, la greffe allogénique de CSH est le seul traitement qui s'est avéré être curatif en cas d'insuffisance médullaire. Une étude prospective de phase 2 incluant 66 patients suivis pendant deux ans a montré une survie de 75% des patients après une allogreffe d'un tissu provenant d'un membre de la fratrie au groupe HLA identique. Une survie de 30% a été observée chez les patients dont le donneur n'était pas un de leur proche ([Rondelli et al.2014](#)).

#### **4.2.4 Résumé des traitements actuels de la PV**

En plus de l'aspirine à faible dose et du recours à la saignée pour atteindre un hématicrite de 45% qui sont des éléments communs à tous les patients atteints de PV, les patients atteints de PV et présentant un risque important de thrombose doivent avoir recours à un traitement cytoréducteur pour réduire le risque de thrombose. L'HU est souvent proposé en première intention.

La posologie d'HU est adaptée pour maintenir le nombre de plaquettes dans la normale physiologique. Les patients dont la tolérance à l'HU est mauvaise, ou résistants au traitement doivent alors être traités par l'interféron alpha pégylé de préférence ou le busulfan. L'usage de l'interféron alpha est préféré chez le sujet de moins de 65 ans.

On peut aussi envisager pour les patients porteurs de la mutation JAK2V617F un traitement par le ruxolitinib, inhibiteur des JAK1 et JAK2, médicament en étude de phase 3 pour son indication en cas de PV pour les patients porteurs de la mutation JAK2V617F. Si toutes ces options présentent des résultats insuffisants, il est alors

possible pour le patient de participer à des tests cliniques mettant en œuvre de nouvelles options thérapeutiques et de nouvelles molécules.

Enfin est à signaler le cas particuliers du patient dont la maladie a évolué en myélofibrose pour lequel le traitement par greffe allogénique de CSH peut être proposé.

La réponse aux traitements de la PV peut être évaluée d'après les critères établis en 2009 par l'ELN (European Leukemia Net) (Figure 27) (Barosi et al.2013).

<b>CRITERES</b>
<b>Rémission complète</b>
<b>A</b> Résolution durable des signes de la maladie, comprenant la palpation de l'hépatosplénomégalie, amélioration importante des symptômes de la maladie <b>et</b>
<b>B</b> Rémission durable au niveau du sang périphérique définie par un hématicrite < 45% sans recours à la saignée, numérotation plaquettaire < 400 G/L et numération lymphocytaire < 10 G/L <b>et</b>
<b>C</b> absence de progression de la maladie, d'évènements hémorragiques ou thrombotiques <b>et</b>
<b>D</b> Rémission observable histologiquement au niveau médullaire définie par aspect normocellulaire de la moelle, absence d'hyperplasie au niveau des trois lignées hématopoïétiques et fibrose réticulinique à un stade pas plus avancé que le stade1
<b>Rémission partielle</b>
<b>A</b> Résolution durable des signes de la maladie, comprenant la palpation de l'hépatosplénomégalie, amélioration importante des symptômes de la maladie <b>et</b>
<b>B</b> Rémission durable au niveau du sang périphérique définie par un hématicrite < 45% sans recours à la saignée, numérotation plaquettaire < 400 G/L et numération lymphocytaire < 10 G/L <b>et</b>
<b>C</b> absence de progression de la maladie, d'évènements hémorragiques ou thrombotiques <b>et</b>
<b>D</b> pas de rémission au niveau médullaire, persistance d'hyperplasie des lignées hématopoïétiques
<b>Aucune réponse</b>
Toutes les réponses ne satisfaisant pas aux critères de la rémission partielle
<b>Maladie évolutive</b>
Transformation en myélofibrose post PV, syndrome, myélodysplasique ou leucémie aiguë

Figure 27 : Critères de réponse au traitement pour la PV (établis par The European LeukemiaNet (ELN) en 2009). Une réponse moléculaire n'est pas nécessaire pour attribuer à la réponse un caractère complet ou partiel. (Adapté d'après Barosi et al.2013)

## 4.2.5 PV et traitement de la femme enceinte

La survenue d'une grossesse chez une patiente atteinte de PV est une chose peu fréquente étant donné l'âge de survenue de la maladie. Néanmoins, c'est un évènement que l'on peut rencontrer.

Le traitement est défini selon la catégorie de risque de la grossesse. La figure ci-dessous explicite les deux catégories de risque de grossesse ainsi que les traitements attendants lors d'une PV chez la femme enceinte (Guido Finazzi et al. 2015) (figure 28).

<b>Stratification du risque : la présence d'au moins un des risques chez la patiente permet de définir la grossesse à haut risque</b>
Antécédents d'évènements thrombotiques ou hémorragiques importants
Antécédents de grossesse avec complications sévères : au moins trois fausses couches au premier trimestre ou une au deuxième ou troisième trimestre, poids à la naissance inférieur au poids du cinquième percentile de la courbe de poids à la naissance, pré-éclampsie, mort intrautérine, mort à la naissance
<b>Thérapie mise en place</b>
Grossesse à faible risque
Hématocrite cible inférieur à 45%
Aspirine à faible dose (100mg/jour)
Héparine de faible poids moléculaire : 4000 UI/jour jusqu'à 6 semaines après l'accouchement
Grossesse à haut risque
Même thérapie que la grossesse à faible risque plus :
Si antécédents de thromboses ou de complications sévères pendant la grossesse, 4000UI/jour d'héparine de faible poids moléculaire avec arrêt de l'aspirine en cas de complications hémorragiques
En cas de nécessité d'un traitement myélosupresseur, l'IFN- $\alpha$ sera utilisé

Figure 28 : recommandations pour le traitement de la PV en cas de grossesse (Guido Finazzi et al. 2015)

## 4.2.6 Cas des patients dont la PV est insuffisamment contrôlée

Les traitements de la PV sont comme nous l'avons vu pluriels. Selon la catégorie de risque du patient sera mis en place le traitement qui semble le plus approprié. Cependant, la réponse au traitement n'est pas toujours optimale. La PV est dans ce cas insuffisamment contrôlée.

Ceci se manifeste par des signes cliniques qu'il faut savoir reconnaître afin de réévaluer le traitement du patient en utilisant une autre classe médicamenteuse de l'arsenal thérapeutique disponible.

Les signes les plus importants d'une PV insuffisamment contrôlée sont une augmentation de l'hématocrite, la survenue d'évènements thrombotiques ainsi que

d'autres signes cliniques que nous avons rapportés ci-dessous (figure 29). D'après l'étude CYTO-PV, les deux indicateurs majeurs d'une PV insuffisamment contrôlée sont un hématicrite non stabilisé et la survenue d'évènements thrombotiques. Ceci est vrai pour tous les médicaments auxquels on a recours en cas de PV et peut se produire à tout moment de l'histoire de la maladie (Reiter Andreas et al. 2016).

Médicaments	Signes cliniques d'une résistance ou intolérance au traitement
<b>Tous les médicaments</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Nécessité de phlébotomie pour contrôler l'hématocrite en dessous de 45%</li> <li>• Leucocytose (leucocytes &gt; 10 G/L)</li> <li>• Thrombocytose (plaquettes &gt; 400 G/L)</li> <li>• Impossibilité d'obtenir une réduction de la splénomégalie de plus de 50% quand celle-ci est supérieure à 10 cm à partir de l'extrémité costale gauche</li> <li>• Neutropénie (Neutrophiles &lt; 1 G/L ; plaquettes &lt; 100 G/L ; hémoglobline &lt; 10g/dL)</li> <li>• Symptômes en relation avec la maladie et difficilement supportables (prurit)</li> <li>• Thrombose ou hémorragie lors du traitement</li> </ul>
<b>Hydroxyurée</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ulcères au niveau des jambes, manifestations cutanéomuqueuses, fièvre, pneumonite ou survenue d'autres toxicités non hématologiques liés au traitement par l'hydroxyurée pour toute posologie</li> </ul>
<b>IFN- <math>\alpha</math></b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dépression, symptômes pseudogrippaux, symptômes neuropsychiatriques ou survenue de problèmes autoimmuns</li> </ul>
<b>Ruxolitinib</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Anémie, thrombocytopénie, neutropénie, risque d'infections, et risque de survenue de cancers de la peau autres que le mélanome</li> </ul>

Figure 29 : Signes cliniques permettant de mettre en évidence une intolérance ou une résistance à un traitement de la PV ( adapté d'après Reiter Andreas et al. 2016)

## 4.2.7 Les molécules actuellement en phase de recherche clinique pour le traitement de la PV

### 4.2.7.1 D'autres inhibiteurs de JAK1 et JAK2

#### 4.2.7.1.1 Fedratinib (SAR302503)

Fedratinib est un inhibiteur sélectif de JAK2. Lors des essais cliniques, il a permis de réduire le volume de la rate. Une étude de phase 3 a montré des résultats prometteurs. Malgré cela, il a été écarté comme candidat à l'émergence d'un médicament futur car il a provoqué plusieurs cas d'encéphalopathie de Wernicke (Pardanani et al.2013a).

#### 4.2.7.1.2 Pacritinib (SB1518)

Dans des études de phases 1 et 2, on a pu observer une réduction du volume de la rate chez 41% des patients. L'effet myélosupresseur a été minime et 18% des patients ont présenté une normalisation complète de leurs paramètres cliniques. Le pacritinib est en cours d'étude de phase 3 (Komrokji et al.2011).

#### 4.2.7.1.3 Momelotinib (CYT387)

Le momelotinib est un inhibiteur de JAK1 et JAK2. Lors d'études de phase 1 et 2, il a montré un taux de réponse de plus de 45% dans le traitement de l'anémie, la splénomégalie, et les symptômes constitutionnels de la maladie chez des patients atteints de myélofibrose post PV. Il est à noter que des patients n'ayant pas répondu au traitement par le ruxolitinib ont répondu au traitement par le momelotinib. Il a permis de réduire le recours à la transfusion sanguine chez des patients qui y avaient régulièrement recours. Les effets indésirables rapportés ont été la survenue de céphalées et d'hypotension. Une étude de phase 3 actuellement en cours va permettre de comparer son efficacité dans le traitement de la PV face au ruxolitinib (Pardanani et al. 2013b).

### 4.2.7.2 Autres médicaments non inhibiteurs de JAK

Plusieurs molécules sont candidates à la mise sur le marché et font l'objet de recherche dans le traitement de la PV et NMP. Tout comme les inhibiteurs de JAK, elles visent à cibler des éléments supposément impliqués dans le processus pathologique. Nous allons évoquer certaines d'entre elles et les classes auxquelles elles appartiennent.

#### 4.2.7.2.1 Le pomalidomide, immunomodulateur

Le pomalidomide est un immunomodulateur. Il a été produit par modification chimique de la structure du thalidomide. Il a été évalué chez des patients atteints de myélofibrose post NMP. Sur les 24 patients avec une formule plaquettaire inférieure ou égale à 100 G/L, le nombre de plaquettes a augmenté de 50 % avec le traitement. Sur les 84 patients de l'étude, des cas de thrombopénies et de neutropénies de grade 3 ou 4 se sont produits chez respectivement 2% et 0% des cas (Tefferi et al.2009)

Devant le faible taux de réponse obtenu par l'utilisation du pomalidomide en monothérapie, il est actuellement testé en association avec le ruxolitinib (L Gowin et al. 2015).

#### 4.2.7.2.2 Le givinostat, inhibiteur d'histone déacétylase

Les inhibiteurs d'histone désacétylase permettent d'inhiber la prolifération des cellules tumorales en induisant l'arrêt du cycle cellulaire, la différenciation de ces cellules, ou leur apoptose. Le givinostat est spécifique des cellules présentant la mutation JAK2V617F. Testé chez des patients résistants ou intolérants au traitement par l'HU, il a été bien toléré. 75% des patients ont obtenu une réduction de leur splénomégalie. Dans la même classe de médicament, on peut citer le vorinostat et le panabonostat qui ne sont pas aussi bien tolérés que le givinostat Associé à l'HU, il a permis une réduction des prurits chez 64 à 67 % des patients (Griesshammer et al. 2015).

#### 4.2.7.2.3 La decitabine, agent hypométhylant

La decitabine a été évaluée chez des patients atteints de myélofibrose. Les cas de myélosuppression ont été fréquents. Quant aux réponses cliniques, on a compté sur les 21 patients de l'étude un cas de rémission complète et deux cas de rémission partielle (Mascarenhas.2014).

#### 4.2.7.2.4 Le simtuzumab et le fresolimumab, anticorps monoclonaux

Le simtuzumab et le fresolimumab, deux anticorps monoclonaux font aussi l'objet d'étude pour leur antimyélofibrotique. Ils sont respectivement en essai de phase 2 et 1 (Chul et al.2015).

### 4.2.7.3 Molécules utilisables en association avec le ruxolitinib

Actuellement, il existe aussi des études qui ont pour objet l'effet thérapeutique du ruxolitinib en association avec d'autres molécules. Les associations qui font l'objet de recherches sont les suivantes :

- Ruxolitinib + Lenalidomide en phase 2
- Ruxolitinib + Simtuzumab en phase 2
- Ruxolitinib + Pomalidomide en phase 1b/2
- Ruxolitinib + Panobinostat en phase 1b (Chul et al.2015).

### 4.2.8 Reprogrammation épigénétique hématopoïétique, greffe de CSH et PV

#### 4.2.8.1 Division des cellules souches hématopoïétiques

Nous avons évoqué précédemment la greffe allogénique de CSH hématopoïétique comme une option curative chez les patients suite à une myélofibrose ayant entraîné une insuffisance médullaire. Ceci n'est possible que si l'on trouve un donneur histocompatible avec le patient. Dans le cas de figure contraire, aucune alternative n'était proposée jusqu'alors. Pour pallier l'absence de donneur histocompatible avec le receveur, la recherche s'est orientée vers la reprogrammation épigénétique au niveau des cellules hématopoïétiques.

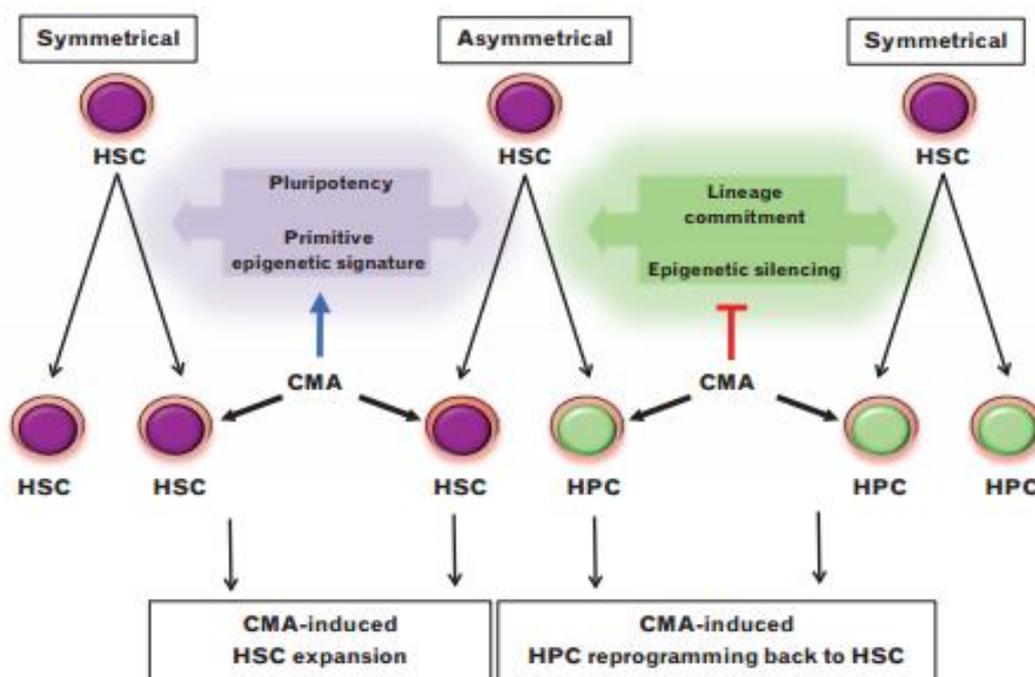


Figure 30 : Développement théorique des cellules souches hématopoïétiques: les cellules souches hématopoïétiques peuvent se diviser de manière symétrique ou asymétrique. En cas de division symétrique, elles génèrent soit deux cellules souches hématopoïétiques, soit deux progéniteurs hématopoïétiques. En cas de division asymétrique, elles vont générer une cellule souche et un progéniteur. Le renouvellement symétrique des cellules souches amène au développement du pool initial de cellules souches. Un circuit de régulation complexe reposant sur des signaux microenvironnementaux ainsi que sur des changements structuraux de la chromatine et des régulateurs transcriptionnels permettent à la cellule souche de trouver l'équilibre entre le maintien du pool de cellules souches et la voie de différenciation. Des agents de modification de la chromatine pourraient permettre d'augmenter le pool de cellules souches en favorisant leur autorenouvellement, voire en reprogrammant les progéniteurs en cellules souches.  
HSC : cellule souche hématopoïétique, HPC : progéniteur hématopoïétique, CMA : agent de modification de la chromatine (Iancu-Rubin et al.2015)

En théorie, les CSH peuvent se renouveler en donnant deux CSH, peuvent se renouveler et se différencier en donnant une SCH et un progéniteur hématopoïétique ou seulement se différencier en donnant alors deux progéniteurs (Figure 30) (Iancu-Rubin et al.2015).

#### **4.2.8.2 Histoire des inhibiteurs d'histone désacétylase et d'ADN méthyltransférase**

Ces classes médicamenteuses sont utilisées depuis très longtemps pour le traitement de myélodysplasies. Jusqu'à maintenant, on pensait qu'ils agissaient en induisant l'apoptose et la différenciation des cellules malignes.

Lors d'une étude, la culture de cellules CD34+ normales en présence de ces deux substances a permis d'obtenir des CSH et des progéniteurs. Cette étude a permis de mieux connaître la modalité d'action de certains agents de modification de la chromatine) CMA. L'effet thérapeutique ne serait pas seulement dû à leur action sur les cellules malignes mais il pourrait être imputable à la capacité qu'ont ces molécules de relancer la multiplication du pool de CSH qui persistent en faible nombre chez ces patients (Iancu-Rubin et al.2015).

#### **4.2.8.3 Implication de cette découverte dans la pratique clinique**

Les greffes de cellules souches ombilicales sont depuis plus de 25 ans devenues une pratique médicale courante. Elles représentent une alternative à l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques en cas d'impossibilité de trouver un donneur histocompatible avec le patient que l'on souhaite traiter. Cependant, la rémission d'un patient dépend du nombre de cellules souches que l'on a réussi à extraire du cordon ombilical. La quantité de cellules souches que l'on peut extraire d'un cordon est limitée face aux besoins thérapeutiques et aux besoins de la science. Reprogrammer le devenir des cellules souches in vitro jusqu'à parvenir à les cultiver in vitro est un but que s'est fixé la communauté scientifique (Florez-Guzman et al.2013).

Pour ce faire, on compte beaucoup sur l'utilisation des CMA (agents de modification de la chromatine).

Cela permettrait de produire à grande échelle des CSH à partir des cellules ombilicales en favorisant leur autorenouvellement in vitro. Beaucoup reste à faire pour y parvenir car éviter la différenciation des CSH en culture nécessite de contrôler de nombreux paramètres et beaucoup reste à faire sur la compréhension de ces phénomènes au niveau médullaire.

L'avantage de l'utilisation des cellules souches ombilicales pour la greffe est leur très bonne adaptation au receveur et la limitation du risque de rejet.

La reprogrammation des cellules souches dépend à la fois de l'agent utilisé pour la reprogrammation mais aussi de la provenance des cellules souches.

Les meilleurs résultats ont été obtenus dans l'ordre suivant : cellules souches de sang de cordon > cellules souches de moelle osseuse > cellules CD34+ obtenues à partir du sang périphérique (lancu-Rubin et al.2015).

Cette technique une fois pleinement maîtrisée permettrait de traiter par greffe un nombre plus important de patients atteints de myélofibrose, au rang desquels des patients atteints de PV.

## **5 Cas clinique de Monsieur N.**

### **5.1 Histoire de la découverte de la maladie**

Monsieur N. que nous avons évoqué dans la première partie de l'exposé est retraité d'une entreprise de confection de fauteuils et de matelas. Il est âgé de 62 ans. Il souhaite la délivrance d'un antalgique pour les céphalées dont il fait l'objet depuis quelques semaines déjà. Elles sont parfois accompagnées de vertiges. Monsieur N. nous décrit aussi de fortes démangeaisons au contact de l'eau. Il est non-fumeur. Il pèse 72 kilogrammes. Ce jour-ci, à l'officine, il semble présenter une érythrose cutanée au niveau de la face. Il a comme antécédent une hypertension artérielle et une hypercholestérolémie toutes deux traitées depuis quatre ans et bien équilibrées par nébivolol 5 mg (1 comprimé tous les matins) et par fluvastatine 20 mg (1 comprimé tous les soirs au moment du repas). Monsieur N. a pris la mesure de sa tension le matin même. Elle ne différait pas des mesures prises habituellement. L'ensemble des signes que nous décrit Monsieur N. nous semblent correspondre à une possible maladie de Vaquez. Aussi, nous décidons de contacter Docteur S. le médecin de Monsieur N. qu'il n'a pas revu depuis le renouvellement de sa prescription il y a deux mois. Monsieur N. est informé que son médecin le prendra le jour même en consultation dans l'après-midi entre deux autres patients.

### **5.2 Prise en charge médicale de Monsieur N. et diagnostic de la maladie posé**

Suite à sa consultation médicale, Monsieur N. s'est vu prescrire des examens biologiques par son médecin afin de confirmer ou d'infirmer le diagnostic suspecté de PV. Les résultats sont les suivants.

## 5.2.1 Hématologie

LIGNEE ERYTHROCYTAIRE		
Hématies	<b>8.6 T/L</b>	4,5 - 5,7 T/L
Hémoglobine	<b>206 g/ L</b>	130 -170 g/dl
Hématocrite	<b>62 %</b>	42-54 %
VGM	98 fl	80-100
CCMH	30,5%	30-35
TCMH	24 pg	27-32
LIGNEE LEUCOCYTAIRE		
Leucocytes	<b>13,2 G/L</b>	4-10 G/L
Polynucléaires neutrophiles	80,3% soit 10,6 G/L	2-7,5 G/L
Polynucléaires éosinophiles	4,2% soit 0.5 G/L	0,04- 0,5 G/L
Polynucléaires basophiles	0,6% soit 0,08 G/L	<0,10 G/L
Lymphocytes	9,8% soit 1,3 G/L	1-4 G/L
Monocytes	5,2% soit 0,66 G/L	0,2- 1G/L
LIGNEE PLAQUETTAIRE		
Thrombocytes	<b>584 G/L</b>	150-450 G/L
Volume plaquettaire moyen	11 $\mu^3$	8-13 $\mu^3$

## 5.2.2 Biochimie

Glycémie à jeun	0,89/g/L	0.7-0.95 g/L
Créatinine	65 $\mu\text{mol/L}$	60- 115 $\mu\text{mol/L}$
Clairance de la créatinine	85 ml/min	>60ml/min
Potassium	4,1 mmol/L	3,5-4,5 mmol/L
Calcium	2,4 mmol/L	2,20-2,60mmol/L
Ferritine	37 $\mu\text{g/L}$	20-250 $\mu\text{g/L}$
Gamma GT	28 U/L	<45 U/L
CRP	4mg/L	< 5 mg/L

## 5.2.3 Anomalies de l'hémogramme

Plusieurs valeurs de l'hémogramme de Monsieur N. ne sont pas comprises dans les normales usuelles. L'hématocrite de 62 %, l'hémoglobine affichant une valeur de 205g/L et le nombre d'hématies de 8,6T/L dépassent fortement les valeurs normales.

On note aussi une hyperleucocytose, et une polynucléose neutrophile.

Enfin, on constate une thrombocytose.

#### **5.2.4 L'hémogramme conforte-t-il le diagnostic de PV ?**

L'hémogramme de Monsieur N. présente une évolution parallèle et à la hausse de l'hémoglobine et de l'hématocrite. Ces indications semblent conforter le diagnostic de PV. Il nous faut tout de même écarter les diagnostics de polyglobulies secondaires ou de fausses polyglobulies.

##### **5.2.4.1 Arguments en faveur de l'écartement d'une pseudopolyglobulie ou d'une polyglobulie secondaire**

Dans un second temps, l'hypertension artérielle de Monsieur N. pourrait nous faire envisager une pseudopolyglobulie par hémococoncentration. Ceci se produit lors d'un traitement diurétique.

Monsieur N est traité pour son hypertension par le nébivolol, un bêta-bloquant. Cette hypothèse de polyglobulie par hémococoncentration peut donc être écartée.

En ayant à l'esprit les différents éléments pouvant induire chez un individu une polyglobulie secondaire, on peut dans le cas de Monsieur N. sous réserve d'examen complémentaires écarter cette hypothèse de polyglobulie secondaire. En effet, Monsieur N. n'étant pas fumeur, on peut écarter une polyglobulie réactionnelle à l'hypoxie tabagique. De plus, aucun argument concernant la fonction ventilatoire ne peut permettre d'argumenter en faveur d'une polyglobulie secondaire car Monsieur N. ne souffre d'aucune pathologie pulmonaire.

L'absence d'anémie microcytaire permet d'écartier la thalassémie (hémoglobine non diminuée, VGM normal)

##### **5.2.4.2 Examens complémentaires nécessaire pour affirmer de manière certaine le diagnostic de PV**

Pour affirmer de manière certaine le diagnostic de PV, il faudrait dans le cas de Monsieur N comme pour tout patient suspecté d'être atteint de PV considérer les critères de diagnostic de PV proposés par l'OMS en 2008.

**Le diagnostic exige la présence de deux critères majeurs et d'un critère mineur ou la présence du premier critère majeur associé à deux critères mineurs.**

**Critères majeurs**

1. Hémoglobine > 18,5 g/dL chez l'homme et 16,5 g/dL chez la femme ou toute autre preuve de l'augmentation de la masse globulaire érythrocytaire\*
2. Présence de *JAK2V617F* ou d'autres mutations fonctionnellement similaires (par exemple mutation de *JAK2* exon 12)

**Critères mineurs**

1. Biopsie médullaire montrant, en fonction de l'âge, une hyperplasie cellulaire portant sur les lignées érythrocytaire, granulocytaire, mégacaryocytaire (panmyélose)
2. Taux d'érythropoïétine sérique au-dessous des valeurs normales de référence
3. Pousse spontanée des progéniteurs érythrocytaires *in vitro*

\*Hémoglobine ou hématoците > 99<sup>e</sup> percentile des valeurs spécifiques de référence en fonction de l'âge, du sexe, de l'altitude de résidence

● ou hémoglobine > 17 g/dL chez l'homme, 15 g/dL chez la femme associée à la preuve d'une augmentation d'au moins 2 g/dL par rapport aux valeurs antérieures (mais sans atteindre les valeurs seuils citées plus haut) ne pouvant s'expliquer par la correction d'une carence martiale

● ou masse globulaire érythrocytaire > 25 % de la valeur normale calculée.

Figure 20 : Critères révisés proposés par l'OMS pour le diagnostic de PV en 2008 (Brière J.,2008)

Comme l'indique la figure 20 que nous avons produite précédemment, le diagnostic de PV nécessite de mettre en évidence chez le patient la coexistence de deux critères majeurs et un critère mineur, ou le premier critère des critères majeurs et deux critères mineurs.

Dans le cas de Monsieur N, le premier critère majeur est rempli. 95% des patients de PV présentent la mutation *JAK2V617F*. C'est cette mutation chez Monsieur N. qui permettrait de confirmer le diagnostic de PV de manière la plus simple.

## 5.2.5 Traitement mis en place

Lors de sa venue ultérieure à l'officine, Monsieur N. outre la production de ses analyses hématologiques sur notre demande avait apporté l'ordonnance d'initiation d'un nouveau traitement rédigée par le médecin hématologue de l'hôpital d'A. en ces termes :

- Aspégic 100 mg 1x/ jour (QSP 1 mois)
- Hydréa 1cp 2x/jour (QSP 1 mois)

Comme nous l'avons vu, le principal risque de la PV pour le patient est un risque thrombotique. Aussi, tout traitement doit avoir pour objectif principal le contrôle du risque thrombotique.

Monsieur N. nous informa lors de sa venue qu'il s'était d'ores et déjà rendu les jours précédents au service d'hématologie de l'hôpital d'A., établissement hospitalier le plus proche de son domicile. En effet, son médecin le docteur S. devant le risque thrombotique important qu'il présentait l'avait adressé à ce service d'hématologie où il avait été traité par saignée à deux reprises espacées de trois jours. On lui a de plus expliqué qu'on allait rechercher la mutation JAK2V617F pour confirmer le diagnostic.

Le traitement par saignée est un traitement d'urgence de la PV et est utilisé quand il est nécessaire de diminuer de manière rapide l'hyperviscosité sanguine due à une valeur de l'hématocrite élevée.

L'aspirine (ASPEGIC\*) et l'hydroxyurée (HYDREA\*) est utilisée en traitement de fond, l'aspirine pour son effet antithrombotique et l'hydroxyurée pour son effet myélofreinateur.

Monsieur N. a plus de 60 ans et présente un risque important de thrombose. A ce titre, il est doit être traité d'emblée par un traitement cytoréducteur ce qui explique la prescription d'HYDREA\* sur la première ordonnance du service d'hématologie de l'hôpital d'A.

Les prochains rendez-vous à l'hôpital d'A. de Monsieur N. concernent ses séances de saignées.

Quant au rendez-vous d'évaluation de son traitement avec son hématologue référent, il a été pris un mois plus tard.

Tous ces éléments ont été adressés par lettre de sortie de l'hôpital à Docteur S.

### **5.3 Résultats du test de recherche de la mutation et établissement du traitement de Monsieur N.**

Un mois plus tard, Monsieur N. s'avère être bien porteur de la mutation JAK2V617F. Le diagnostic de PV est donc établi de manière certaine selon les critères de diagnostic de l'OMS de 2008.

Son hématologue de l'hôpital A. qui le suit désormais et devant la bonne tolérance au traitement de Monsieur N. lui a renouvelé son ordonnance d'ASPEGIC\* et d'HYDREA\*.

Monsieur N. nous signale qu'il a désormais rendez-vous tous les six mois dans un premier temps avec son hématologue pour s'assurer de la bonne observance du traitement, pour réadapter la posologie du traitement afin de trouver la bonne posologie d'entretien ainsi que pour surveiller les éventuels signes cliniques péjoratifs évocateurs de l'évolution de la maladie (splénomégalie et cytopénie non médicamenteuses).

Un protocole de traitement lui a été remis. Une copie du protocole a été adressée à son médecin le Docteur S.

La surveillance de la maladie sera assurée par Docteur S. Il est prévu au protocole une surveillance mensuelle de l'hémogramme.

### **5.4 Premiers suivis de la maladie**

Monsieur N. ne semble plus présenter les signes premiers de la maladie. Ses paramètres sanguins sont stabilisés. D'après les dernières ordonnances hospitalières qu'il nous présente, on peut affirmer que pour l'instant, Monsieur N. ne présente ni de résistance, ni d'intolérance à son traitement.

Même si la PV peut n'avoir que peu d'incidence sur la qualité de vie du patient concerné, nous rappelons de temps à autres à Monsieur N. l'importance d'un bon suivi médical pour un meilleur contrôle de la maladie.

## **6 Etude prospective à l'officine**

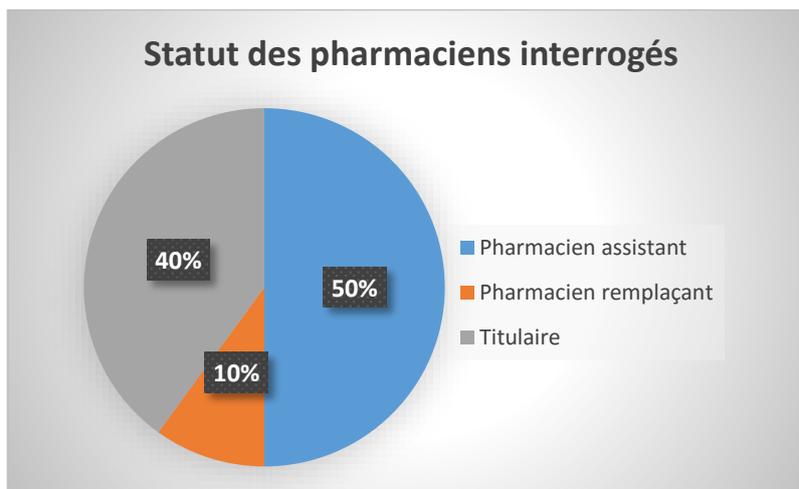
En février 2016, nous avons réalisé un questionnaire relatif à la maladie de Vaquez, à sa prise en charge à l'officine et à la manière dont elle est perçue par le pharmacien d'officine. Nous avons obtenu 30 réponses (Annexe 1 : questionnaire)

## 6.1 Résultats de l'étude

### 6.1.1 Profil des pharmaciens interrogés

#### 6.1.1.1 Statut des sondés

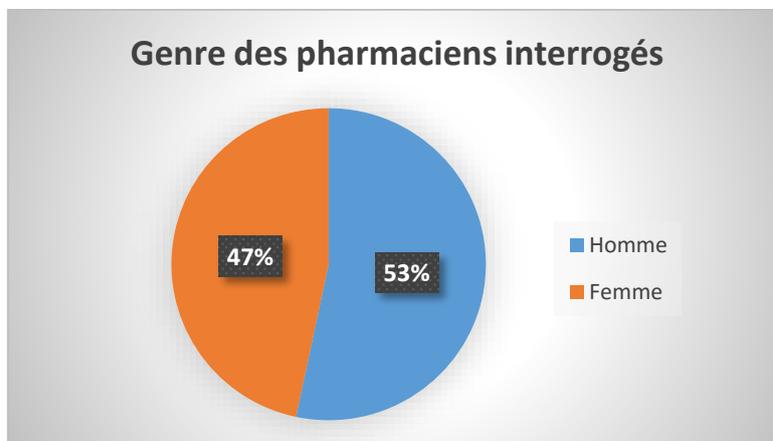
Statut	Nombre de pharmaciens
Pharmacien assistant	15
Pharmacien remplaçant	3
Titulaire	12



50 % des pharmaciens interrogés étaient pharmaciens assistants, 40 % titulaires et 10 % pharmaciens remplaçants.

#### 6.1.1.2 Genre des sondés

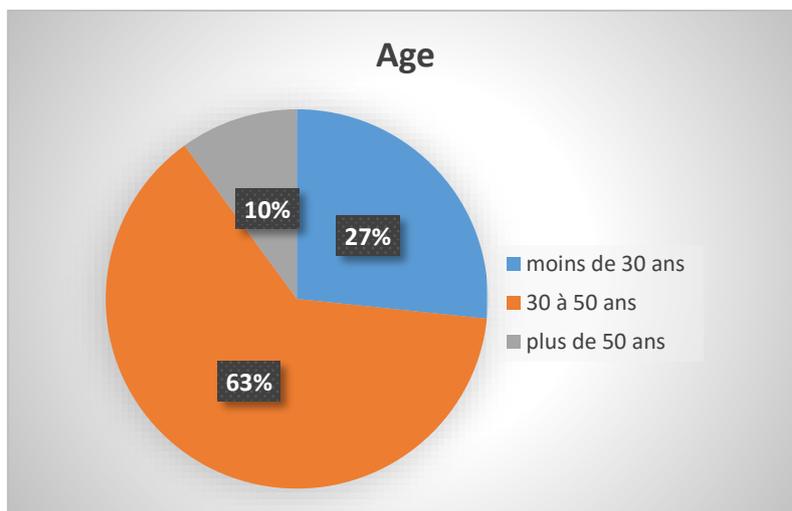
Genre	Nombre de pharmaciens
Homme	16
Femme	14



53 % des sondés étaient de sexe masculin et 43% de sexe féminin.

### 6.1.1.3 Age des pharmaciens interrogés

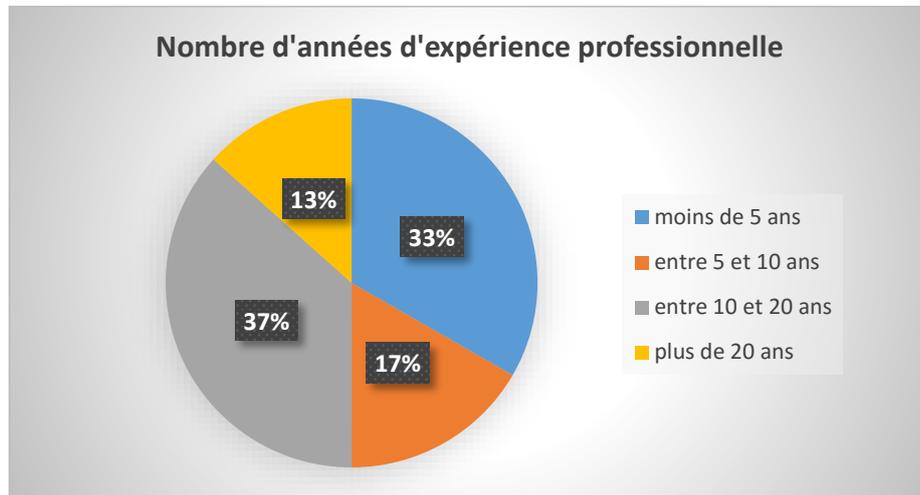
Age	Nombre de pharmaciens
moins de 30 ans	8
30 à 50 ans	19
plus de 50 ans	3



27 % des pharmaciens interrogés avaient moins de 30 ans, 10 % plus de 50 ans et 63 % d'entre eux avaient un âge compris entre 30 et 50 ans.

### 6.1.1.4 Nombre d'année d'expérience professionnelle des pharmaciens interrogés

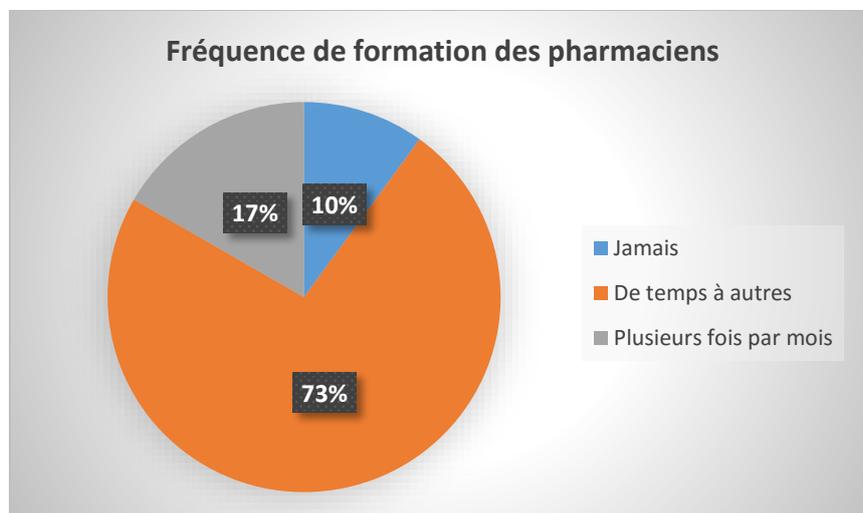
Nombre d'années d'expérience professionnelle	Nombre de pharmaciens
moins de 5 ans	10
entre 5 et 10 ans	5
entre 10 et 20 ans	11
plus de 20 ans	4



33 % des pharmaciens interrogés avaient moins de 5 années d'expériences professionnelles et 37 % avaient entre 10 et 20 ans d'expérience.

#### 6.1.1.5 Fréquence de formation des pharmaciens interrogés

Fréquence de formation des pharmaciens	Nombre de pharmaciens
Jamais	3
De temps à autres	22
Plusieurs fois par mois	5

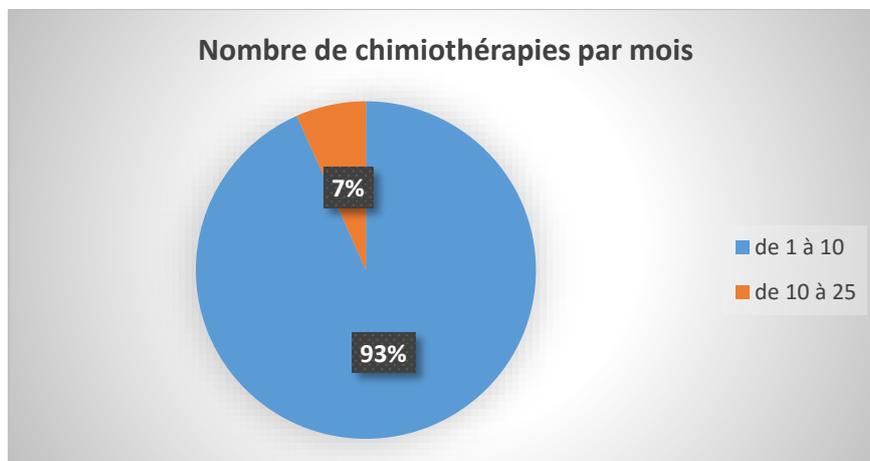


22 pharmaciens sondés soit 73 % d'entre eux suivaient des formations à une fréquence inférieure à « plusieurs fois par mois ».

#### 6.1.2 **Nombre de dispensations par mois de traitements chimiothérapeutiques oraux, connaissance de la pathologie des patients et nombre de patients atteints de PV**

### 6.1.2.1 Nombre de traitements chimiothérapeutiques oraux dispensés par mois

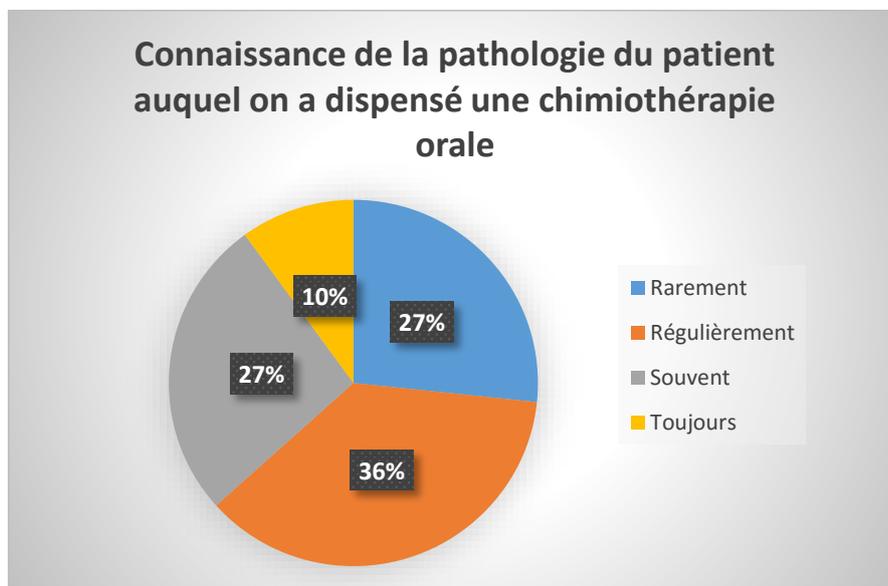
Nombre de chimiothérapies/mois	Nombre d'officines
de 1 à 10	28
de 10 à 25	2



Chaque mois, 93,3 % des pharmaciens interrogés ont déclaré avoir dispensé 1 à 10 traitements de chimiothérapie par voie orale. 2 pharmaciens interrogés dispensaient 10 à 25 traitements chimiothérapeutiques oraux.

### 6.1.2.2 Connaissance de la pathologie du patient auquel a été dispensé un traitement de chimiothérapie orale

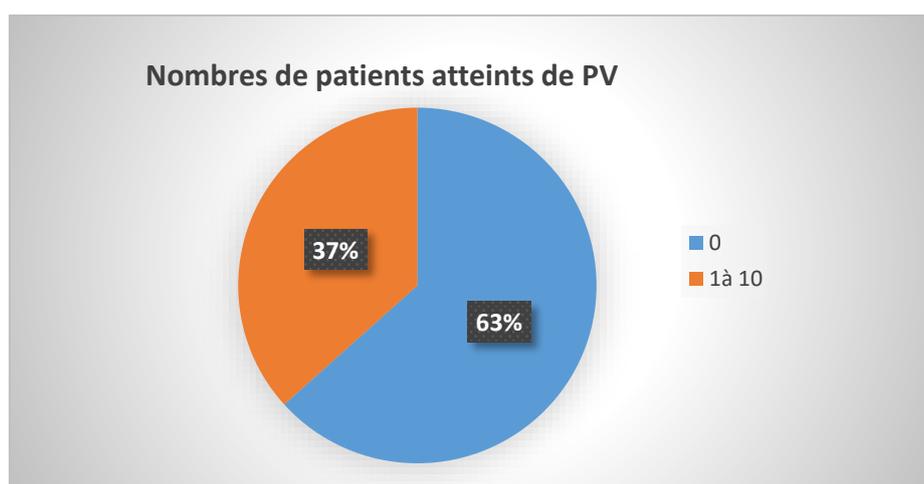
Connaissance de la pathologie du patient	Nombre de pharmaciens
Rarement	8
Régulièrement	11
Souvent	8
Toujours	3



27 % des pharmaciens connaissaient rarement la pathologie exacte du patient auquel ils dispensaient un traitement de chimiothérapie orale. Ils étaient 10 % à connaître les pathologies de tous les patients suivant une chimiothérapie orale.

#### 6.1.2.3 Nombre de patients atteints de PV parmi les patients auxquels on a dispensé un traitement de chimiothérapie orale

Nombre de patients atteints de PV	Nombre d'officines
0	19
1 à 10	11

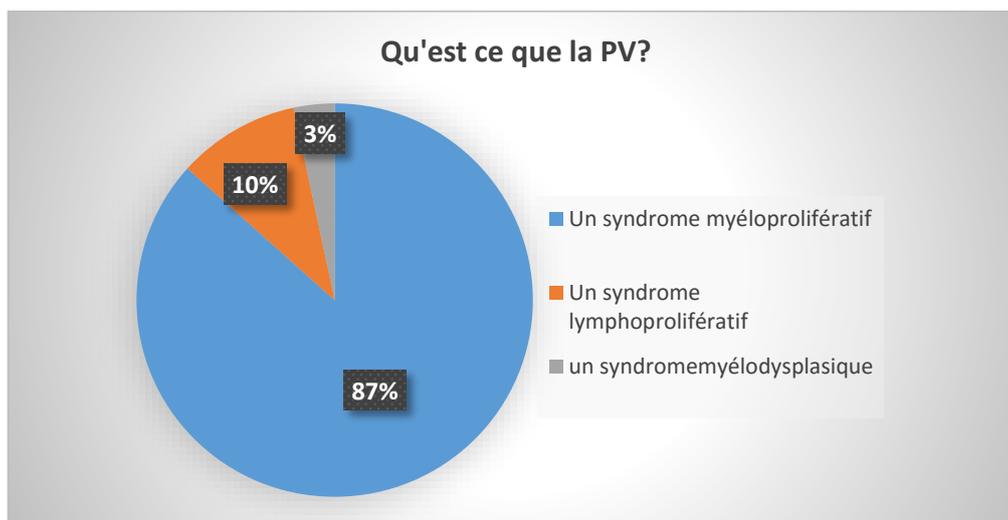


Parmi ces patients auxquels on a délivré une chimiothérapie orale, dans 19 des officines interrogées soit 63% des cas, ce n'était pas dans le cadre d'une PV. Pour 11 officines, 1 à 10 des traitements dispensés l'ont été pour des patients atteints de PV.

### 6.1.3 Définition de la PV, ses traitements et délivrance du médicament

#### 6.1.3.1 Qu'est-ce que la PV ?

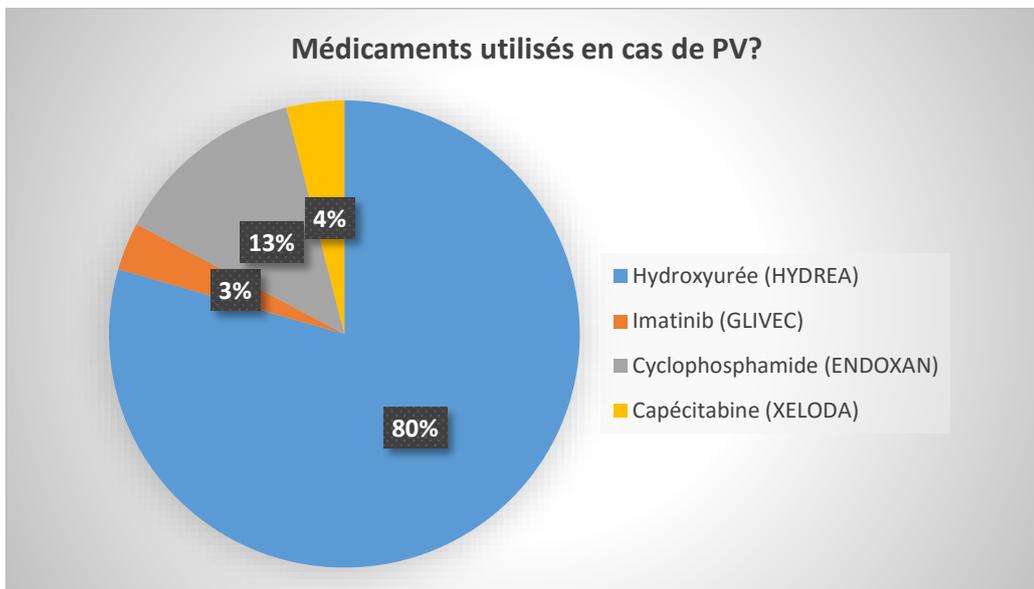
Qu'est-ce que la PV?	Nombre d'officines
Un syndrome myéloprolifératif	26
Un syndrome lymphoprolifératif	3
Un syndrome myélodysplasique	1



La PV est pour 87 % des sondés un syndrome myéloprolifératif, pour 10 % un syndrome lymphoprolifératif et pour 3 % un syndrome myélodysplasique.

#### 6.1.3.2 Traitements de la PV

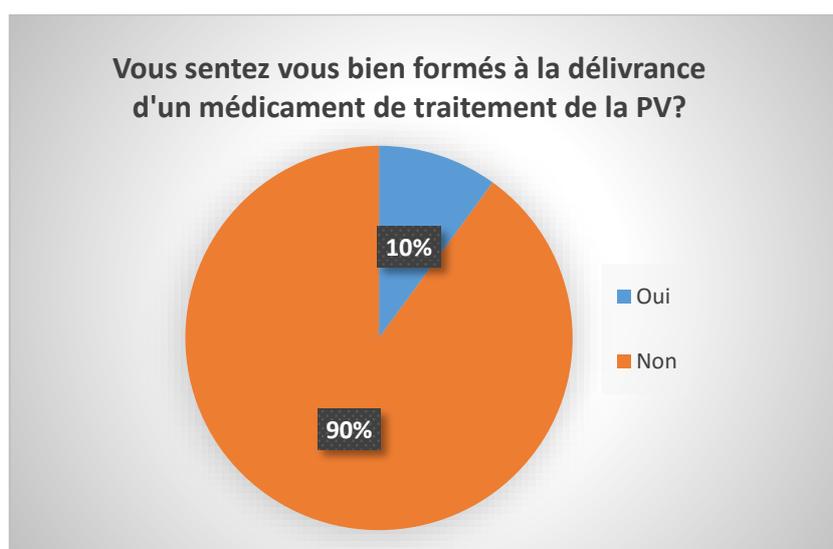
Médicaments utilisés en cas de PV?	Nombre d'officines
Hydroxurée (HYDREA)	24
Imatinib (GLIVEC)	1
Cyclophosphamide (ENDOXAN)	4
Capécitabine (XELODA)	1



80 % des sondés considéraient que le traitement de la PV comprend l'utilisation de l'hydroxyurée, 3,3% d'entre eux l'imatinib ou capécitabine et 13,3% le cyclophasmide.

### 6.1.3.3 Ressenti des pharmaciens concernant la délivrance des médicaments de la PV

Vous sentez vous bien formés à la délivrance d'un médicament de traitement de la PV?	Nombre d'officines
Oui	3
Non	27

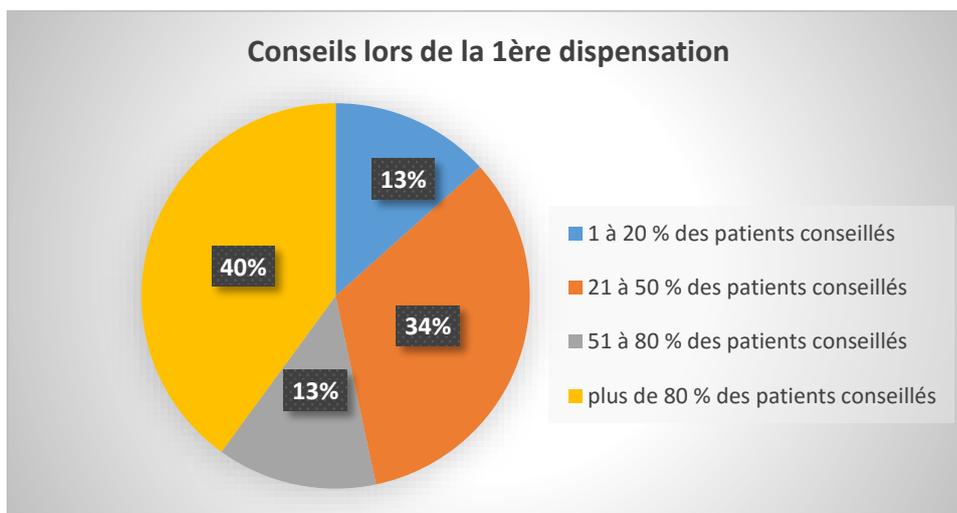


Seuls 10 % des pharmaciens interrogés considéraient qu'ils étaient suffisamment formés pour la dispensation d'un médicament dans le cadre d'une PV alors que 90 % d'entre eux considéraient qu'ils n'étaient pas assez formés pour la dispensation de tels traitements.

#### 6.1.3.4 Conseils prodigués et temps consacré à la dispensation du traitement

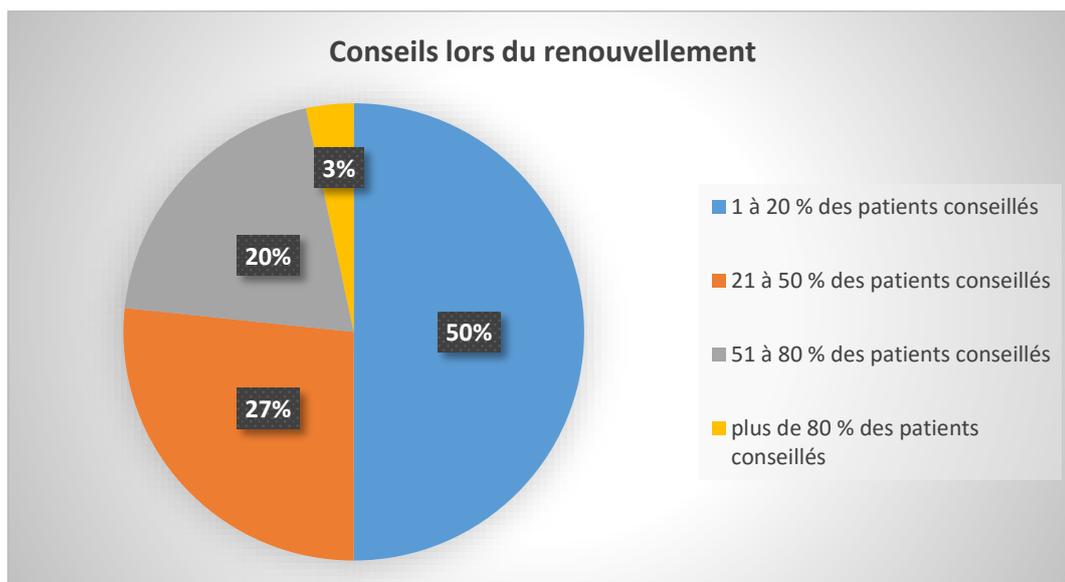
##### 6.1.3.4.1 Conseils prodigués lors de la délivrance du traitement dans le cadre d'une PV

Conseils lors de la 1ère délivrance	Nombre d'officines
1 à 20 % des patients ont été conseillés	4
21 à 50 % des patients ont été conseillés	10
51 à 80 % des patients ont été conseillés	4
plus de 80 % des patients ont été conseillés	12



13,3 % des officinaux sondés conseillaient lors la première dispensation entre 1 à 10 % des patients atteints de PV et 40 % d'entre eux conseillaient quasi systématiquement tous les patients auxquels ils dispensaient un médicament dans le cadre d'une PV. Nous pouvons comparer ces valeurs avec les valeurs obtenues dans le cadre d'un renouvellement.

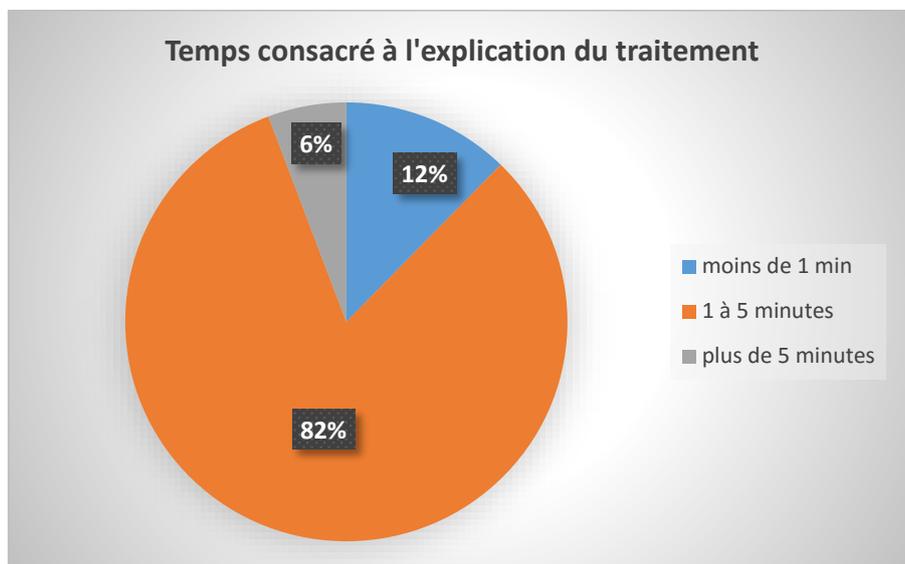
Conseils lors du renouvellement	Nombre d'officines
1 à 20 % des patients ont été conseillés	15
21 à 50 % des patients ont été conseillés	8
51 à 80 % des patients ont été conseillés	6
plus de 80 % des patients ont été conseillés	1



Dans le cadre d'un renouvellement, 50 % des pharmaciens déclaraient prodiguer des conseils à la dispensation du renouvellement chez 1 à 20 % des patients. A ce stade, seuls 3,3 % d'entre eux continuaient à systématiquement conseiller plus de 80 % des patients.

#### 6.1.3.4.2 Temps d'explication du traitement dans le cadre d'une PV

Temps d'explication du traitement	Nombre d'officines
moins d'une minute	3
1 à 5 minutes	20
plus de 5 minutes	7



66 % des pharmaciens quand ils conseillaient leurs patients atteints de PV lors de la dispensation du traitement y consacraient de 1 à 5 minutes.

#### 6.1.3.4.3 Thèmes abordés par les patients lors de la délivrance du médicament

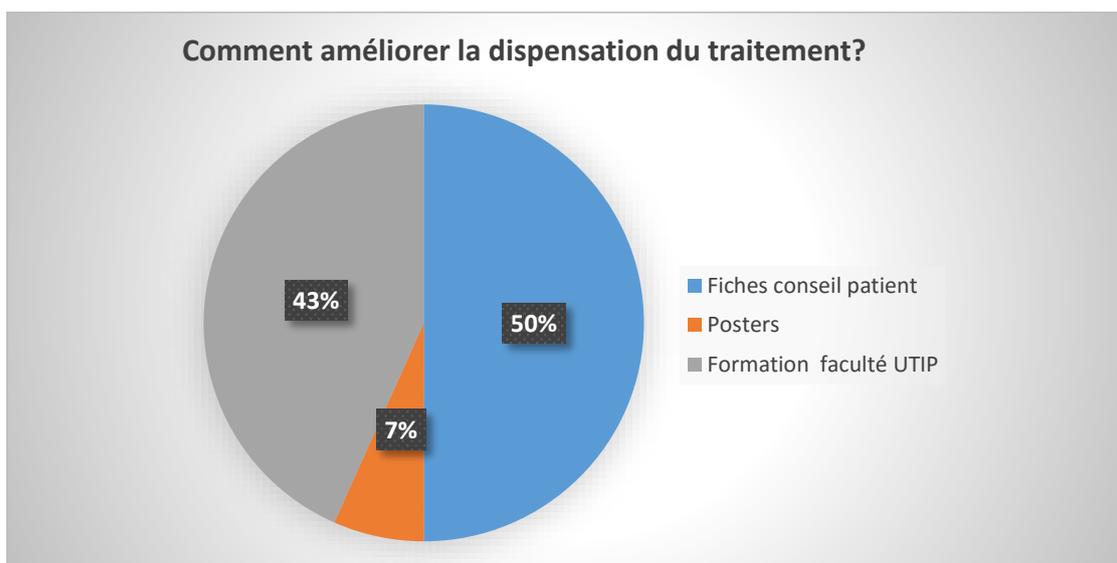
Rang	Thème abordés
1	Comment prendre le médicament
2	Dosage
3	Effets secondaires
4	Interactions médicamenteuses
5	Durée de la thérapie
6	Coût du traitement

Le rang moyen des thèmes abordés figure dans le tableau ci-dessus. Le premier questionnement des patients concerne la manière de prendre leur médicament, le deuxième le dosage. Quant au coût du traitement, il figure en dernière position.

Un seul pharmacien sondé a fait usage de la catégorie « autre » pour évoquer l'efficacité du traitement.

#### 6.1.3.5 Propositions évoquées pour l'amélioration de la dispensation du traitement

Moyen	Nombre d'officines
fiches conseil patient	15
poster	2
formation	13



50 % des sondés estimaient que des fiches conseil émises par les laboratoires et destinées aux patients permettraient d'améliorer la dispensation du traitement. 43 % considéraient que ce but pourrait être atteint grâce à la formation continue par les facultés ou par les UTIP (Union Technique Intersyndicale Pharmaceutique).

## **6.2 Discussion et propositions pour améliorer la dispensation**

### **6.2.1 Discussion**

Cette étude prospective nous a permis de mettre en relief plusieurs éléments intéressants concernant la PV et la pratique officinale quotidienne.

Les deux tiers environ des pharmaciens interrogés sont des pharmaciens expérimentés avec plus de 5 ans de pratique professionnelle, la moitié des sondés ayant plus de 10 ans d'expérience.

Il ressort de cette étude que la formation pharmaceutique n'est pas encore systématique. En effet, seuls 5 pharmaciens suivent des formations plusieurs fois par mois et moins d'une fois par semaine d'après les propositions du questionnaire soumis.

Le nombre de chimiothérapies orales dispensées dans les officines reste faible, 93 % des officines ayant déclaré la dispensation de 1 à 10 chimiothérapies orales par mois. Les pharmaciens ne connaissent pas toujours la maladie du patient sous chimiothérapie orale et le nombre des patients atteints de PV au sein de ce pool est

faible, deux tiers des officines n'ayant dans leur patientèle aucun patient atteint de PV.

Pour la majeure partie des sondés, la maladie de Vaquez est un syndrome myéloprolifératif dont le traitement principal parmi les traitements proposés est l'hydroxyurée (HYDREA). Cependant, 13 % d'entre eux ont considéré que le cyclophosphamide est un traitement possible de la PV. Le cyclophosphamide peut apparaître dans certaines sources de la littérature comme traitement possible de la PV mais cela reste anecdotique et n'entre pas dans la ligne de conduite habituelle des traitements de la PV.

D'après cette étude, les pharmaciens ne conseillent pas systématiquement leurs patients lors de la dispensation du médicament que ce soit à la délivrance initiale ou au renouvellement. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que 90 % d'entre eux ne sentent pas suffisamment formés à la dispensation de ces médicaments.

### **6.2.2 Propositions pour améliorer la dispensation tirées de l'étude et de l'expérience acquise en pratique officinale**

Le point essentiel qu'a pu mettre en évidence cette étude est le besoin de formation inhérent à la dispensation des médicaments des traitements de la maladie de Vaquez, point que l'on peut certainement extrapoler à d'autres traitements chimiothérapeutiques similaires.

Les pharmaciens interrogés ont évoqué pour la moitié d'entre eux la formation comme moyen pour améliorer la dispensation des médicaments. L'autre moitié pense que l'usage de fiches conseil patients permettraient d'œuvrer en ce sens.

Les outils pour une meilleure dispensation des traitements médicamenteux sont nombreux et ne concernent pas que les médicaments de traitement de la PV.

Nous pouvons évoquer comme possibilité le cas d'une patiente à l'officine qui avait été suivie à l'hôpital par une équipe pluridisciplinaire comprenant un oncologue et un pharmacien hospitalier.

Suite à sa sortie, le pharmacien hospitalier référent de cette dame pour sa maladie avait contacté l'officine de la patiente pour transmettre une fiche conseil reprenant de manière synthétique le traitement de la patiente, les effets indésirables susceptibles d'apparaître, les questions essentielles à poser à la patiente pour déceler la survenue de ces effets indésirables, une échelle de gradation des effets indésirables pour apprécier leur indice de gravité et les interactions médicamenteuses possibles avec d'autres médicaments courants.

Lors de la dispensation du traitement, l'équipe officinale devait en accord avec le pharmacien hospitalier référent interroger la patiente à propos des effets indésirables ressentis, effets indésirables mentionnés sur la fiche, ceci pour quantifier leur évolution et vérifier au cours du temps la bonne acceptation du traitement. De plus, grâce à cette fiche synthétique, à chaque dispensation du traitement anticancéreux, les informations essentielles à la bonne observance de la patiente lui étaient rappelées.

Cette fiche conseil rédigée par le pharmacien hospitalier présentait plusieurs intérêts. Elle avait à la fois un rôle formateur pour l'équipe officinale et la patiente concernée. Par une collaboration étroite et une mise en relation directe des différents professionnels de santé concernés, cette fiche conseil a sécurisé la mise en place du traitement en permettant à l'équipe officinale de contacter à tout moment le référent hospitalier en cas de survenue d'effets indésirables pour réadapter le traitement ou prendre en charge les effets indésirables.

La sécurisation de la dispensation du médicament et du risque iatrogène dans un premier temps pour les patients à risques en raison de leur état de santé et/ou du traitement suivi, devrait s'appuyer sur une collaboration plus étroite entre les différents acteurs de santé concernés.

Dans la pratique courante, l'équipe officinale agit déjà de pair avec les médecins de ville, les infirmiers, et d'autres professionnels de santé.

Néanmoins, pour certaines pathologies aux traitements lourds, cette collaboration pourrait être renforcée par la rédaction pour chaque patient à risque d'un document désignant un référent hospitalier ou de ville du corps médical à contacter en cas de besoin par l'équipe officinale et du protocole à suivre pour assurer sa sécurité dans le temps. Ce document contiendrait les informations que nous avons mentionnées dans l'exemple que nous avons rapporté.

Ceci permettrait d'assurer une meilleure surveillance médicale du patient. En effet, bien souvent, lorsqu'il n'est plus sous surveillance médicale étroite, le patient ne déclare pas de manière systématique les effets indésirables qui l'affectent par négligence ou par non appréciation de leur gravité.

# Conclusion

Les NMP auxquelles la PV appartient ont été découvertes il y a plus de cinquante ans. Cependant, la constitution du savoir inhérent à ce groupe de pathologies s'est enrichie graduellement dans le temps avec l'émergence de nouvelles techniques faisant appel à des disciplines variées. La découverte de la mutation JAK2V617F en 2005 en est un exemple criant.

Aujourd'hui encore, de nombreuses molécules et protocoles font l'objet de recherches. Ceci est susceptible de modifier à tout moment la prise en charge du patient atteint de NMP.

Avec un suivi adapté et un contrôle des facteurs de risque de complications de la maladie, complications thrombotiques pour ne signaler que les plus importantes, le pronostic de la maladie est de nos jours relativement bon.

La plupart des patients continuent d'ailleurs à avoir une vie que l'on peut qualifier de normale après la découverte de la maladie.

Cependant, les évolutions possibles de la maladie font de celle-ci une maladie à surveillance étroite. Les défis auxquels la science est confrontée restent nombreux. Dans ce cadre pluridisciplinaire, cette thèse contribue à nous rappeler qu'assurer une collaboration efficace entre les différents professionnels de santé est essentiel dans l'intérêt du patient.

Dans un monde en perpétuel mouvement, l'officine ne faisant pas exception, cet exposé concernant la PV nous rappelle les missions du pharmacien en accord avec le savoir qu'il a reçu de ses pairs et du respect de la réglementation. L'étude que nous avons menée a permis de souligner l'importance de la formation pharmaceutique et d'une collaboration renforcée entre les différents intervenants de santé dans le cours de la maladie du patient

Sans se substituer au corps médical, le pharmacien doit savoir écouter et observer de manière active le patient pour déléguer rapidement les cas symptomatiques d'une pathologie dont il peut parfois être amené à être le premier témoin.

Faisant partie intégrante de la chaîne de soins, il peut aussi être amené à proposer aux autres intervenants de santé de nouveaux protocoles pour renforcer la collaboration déjà existante entre eux dans l'intérêt du patient qui doit primer sur toutes les autres considérations.

# Bibliographie

- Adachi, M. Fukuda, E. Nishida. *Nuclear export of MAP kinase (ERK) involves a MAP kinase kinase (MEK)-dependent active transport mechanism.* J Cell Biol, 2000, 148(5): p. 849-56
- Adamson J.W., P.J. Fialkow, S. Murphy, J.F. Prchal, L. Steinmann. *Polycythemia vera: stem-cell and probable clonal origin of the disease.* N Engl J Med, 1976, 295(17): p. 913-6
- Afshar-Kharghan V., Lopez J.A., Gray L.A., Padilla A., Borthakur G., Roberts S.C., Pruthi R.K., Tefferi A. *Hemostatic gene polymorphisms and the prevalence of thrombotic complications in polycythemia vera and essential thrombocythemia.* Blood Coagul. Fibrinolysis, 2004, 15: 21-24
- Al-Bukhârî. *Sahih Al-Bukhârî* (5696)
- Alvarez-Larran A, Martinez-Aviles L, Hernandez-Boluda JC, et al. *Busulfan in patients with polycythemia vera or essential thrombocythemia refractory or intolerant to hydroxyurea.* Ann Hematol, 2014, 93(12):2037-43
- Arellano-Rodrigo E., Alvarez-Larran A., Reverter J.C., Villamor N., Colomer D., Cervantes F. *Increased platelet and leukocyte activation as contributing mechanisms for thrombosis in essential thrombocythemia and correlation with the JAK2 mutational status.* Haematologica, 2006, 91: 169-175
- Aruch, J. Mascarenhas. *Contemporary approach to essential thrombocythemia and polycythemia vera.* Curr Op Hematol, 2015
- Bandaranayake, R. M. et al. *Crystal structures of the JAK2 pseudokinase domain and the pathogenic mutant V617F.* Nat. Struct. Mol. Biol. 19, 754–759 (2012)
- Barosi G., A. Ambrosetti, C Finelli, A. Grossi, P. Leoni, N.L. Liberato, et al. *The Italian Consensus Conference on Diagnostic Criteria for Myelofibrosis with Myeloid Metaplasia.* Br J Haematol, 1999, 104(4): p. 730-7
- Barosi G., R.A. Mesa, J. Thiele, F. Cervantes, P.J. Campbell, S. Verstovsek, et al. *Proposed criteria for the diagnosis of post-polycythemia vera and post-essential thrombocythemia myelofibrosis: a consensus statement from the International Working Group for Myelofibrosis Research and Treatment.* Leukemia. 2008, 22(2): p. 437-8
- Barosi G., Bergamaschi G., Marchetti M., Vannucchi A.M., Guglielmelli P., Antonioli E., Massa M., Rosti V., Campanelli R., Villani L. et al. *JAK2 V617F mutational status predicts progression to large splenomegaly and leukemic transformation in primary myelofibrosis.* Blood, 2007, 110: 4030-4036
- Barosi, G., Mesa, R., Finazzi, G., Harrison, C., Ki-ladjian, J.J., Lengfelder, E., McMullin, M.F., Passamonti, F., Vannucchi, A.M., Besses C., Gisslinger, H., Samuelsson, J., Verstovsek, S., Hoffman, R., Pardanani, A., Cervantes, F., Tefferi, A., Barbui, T. *Revised response criteria for polycythemia vera and essential thrombocythemia: an ELN and IWG-MRT consensus project.* 2013, Blood, 121, 4778 – 4781

- Baxter E.J., Scott L.M., Campbell P.J., East C., Fourouclas N., Swanton S., Vassiliou G.S., Bench A.J., Boyd E.M., Curtin N. et al. *Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders*. *Lancet*, 2005, 365: 1054-1061
- Bellanne-Chantelot C. *Genetic and clinical implications of the Val617Phe JAK2 mutation in 72 families with myeloproliferative disorders*. *Blood*, 1 juill 2006;108(1):346- 352
- Belka C., M.A. Brach, F. Herrmann. *The role of tyrosine kinases and their substrates in signal transmission of hematopoietic growth factors: a short review*. *Leukemia*, 1995, 9(5): p. 754-61
- Beer P.A., W.N. Erber, P.J. Campbell, A.R. Green. *How I treat essential thrombocythemia*. *Blood*, 2011, 117(5): p. 1472-82
- Besarab A, Hermann W, Silverberg D. *Iron Metabolism, Iron Deficiency, Thrombocytosis, and the Cardiorenal Anemia Syndrome*. *The oncologist*, 2009
- Bilal M, Khan RA, Danial K. *Hijama improves overall quality of life in chronic renal failure patients: A pilot study*. *Pak J Pharm Sci.*, 2015 Sep;28(5):1731-5
- Blume-Jensen, P., T. Hunter. *Oncogenic kinase signalling*. *Nature*, 2001, 411(6835): p. 355-65
- Brière J., *Révision des critères diagnostiques de l'OMS pour les PV, TE et MPF* . *Hématologie*, 2008, 14 (3) : 208-15)
- Broudy VC. *Stem cell factor and hematopoiesis*. *Blood*, 1997;90:1345-1364
- C.James, et al. *A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera*. *Nature*, 2005, 434(7037): p. 1144-8
- Campbell P.J., L.M. Scott, G. Buck, K. Wheatley, C.L. East, J.T. Marsden, et al., *Definition of subtypes of essential thrombocythaemia and relation to polycythaemia vera based on JAK2 V617F mutation status: a prospective study*. *Lancet*, 2005. 366(9501): p. 1945-53
- Carobbio A., Finazzi G., Guerini V., Spinelli O., Delaini F., Marchioli R., Borrelli G., Rambaldi A., Barbui T. *Leukocytosis is a risk factor for thrombosis in essential thrombocythemia: interaction with treatment, standard risk factors, and Jak2 mutation status*. *Blood*, 2007,109:2310-2313
- Carobbio A., G. Finazzi, E. Antonioli, P. Guglielmelli, A.M. Vannucchi, C.M. Dellacasa, et al. *JAK2V617F allele burden and thrombosis: a direct comparison in essential thrombocythemia and polycythemia vera*. *Exp Hematol*, 2009, 37(9): p. 1016-21
- Case, J., Rice, A., Wood, J., Gaudry, L., Vowels, M., Nordon, R.E. *Characterization of cytokine interactions by flow cytometry and factorial analysis*. *Cytometry*, 2001, 43, 69-81
- Cesar J.M., de M.D., Garcia A.A., and Burgaleta C. *Platelet dysfunction in primary thrombocythemia using the platelet function analyzer, PFA-100*. *Am. J. Clin. Pathol.* 2005, 123: 772-777

- Chim, C.S., et al. *SOCS1 and SHP1 hypermethylation in multiple myeloma: implications for epigenetic activation of the Jak/STAT pathway*. *Blood*, 2004, 103(12): p. 4630-5
- Chul Won Choi , Soo-Mee Bang, Seongsoo Jang, Chul Won Jung, Hee-Jin Kim, Ho Young Kim. *Guidelines for the management of myeloproliferative neoplasms*. *Korean J Intern Med*, 2015;30:771-788
- Clark P. and Wu O. *ABO(H) blood groups and pre-eclampsia. A systematic review and meta-analysis*. *Thromb. Haemost.* 2008, 100: 469-474
- Colaizzo D., Amitrano L., Tiscia G.L., Scenna G., Grandone E., Guardascione M.A., Brancaccio V., and Margaglione M. *The JAK2 V617F mutation frequently occurs in patients with portal and mesenteric venous thrombosis*. *J. Thromb. Haemost.*2007, 5: 55-61
- Cortelazzo S., Viero P., Finazzi G., D'Emilio A., Rodeghiero F., and Barbui T. *Incidence and risk factors for thrombotic complications in a historical cohort of 100 patients with essential thrombocythemia*. 1990, *J. Clin. Oncol.* 8: 556-562
- Cortelazzo S., Finazzi G., Ruggeri M., Vestri O., Galli M., Rodeghiero F., and Barbui T. *Hydroxyurea for patients with essential thrombocythemia and a high risk of thrombosis*. *N. Engl. J. Med.*1995, 332:1132-1136
- Dameshek W. *Some speculations on the myeloproliferative syndromes*. *Blood*, 1951, 6: 372-375
- Dai C.H., Krantz S.B., Koury S.T., and Kollar K. *Polycythaemia vera. IV. Specific binding of stem cell factor to normal and polycythaemia vera highly purified erythroid progenitor cells*. *Br. J. Haematol.* 1994, 88: 497-505
- Darnell J.E., Jr., I.M. Kerr and G.R. Stark. *Jak-STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and other extracellular signaling proteins*.*Science*, 1994, 264(5164): p. 1415-21
- de Haan, G., Dontje, B., Engel, C., Loeffler, M., and Nijhof, W. *In vivo effects of interleukin-11 and stem cell factor in combination with erythropoietin in the regulation of erythropoiesis*. *Br J Haematol*, 1995a, 90, 783-790
- Delhommeau F, Dupont S, Tonetti C, Masse A, Godin I, Couedic J-PL, et al. *Evidence that the JAK2 G1849T (V617F) mutation occurs in a lymphomyeloid progenitor in polycythemia vera and idiopathic myelofibrosis*. *Blood*, 1 janv 2007, 109(1):71-77
- Dexter T.M. *Haematopoietic Growth Factors, review of biology and clinical potential*. Gardiner-Caldwell Communications Ltd, United Kingdom, 1993
- Di N.M., Barbui T., Di G.L., Borrelli G., Finazzi G., Landolfi R., Leone G., Marfisi R., Porreca E., Ruggeri M. et al. *The haematocrit and platelet target in polycythemia vera*. *Br. J. Haematol.* 2007,136: 249-259
- Donal McLornan, Melanie Percy, and Mary Frances McMullin. *JAK2 V617F: A Single Mutation in the Myeloproliferative Group of Disorders*. *Ulster Med J.* 2006, 75(2): 112–119

- Dolznic, H., Boulme, F., Stangl, K., Deiner, E.M., Mikulits, W., Beug, H., and Mullner, E.W. *Establishment of normal, terminally differentiating mouse erythroid progenitors: molecular characterization by cDNA arrays*. *FASEB J* 15, 2001 1442-1444
- Drayer, A.L., Boer, A.K., Los, E.L., Esselink, M.T., Vellenga, E. *Stem cell factor synergistically enhances thrombopoietin-induced STAT5 signaling in megakaryocyte progenitors through JAK2 and Src kinase*. *Stem Cells*, 2005, 23, 240-251
- Duarte R.F. and D.A. Frank. *The JAK-STAT signaling pathway and its role in oncogenesis, immunomodulation and development*. *Med Clin (Barc)*, 2000, 114(6): p. 227-34
- Dupont S, Masse A, James C, et al. *The JAK2V617VF mutation triggers erythropoietin hyper-sensitivity and terminal erythroid amplification in primary cells from patients with polycythemia vera*. *Blood*, 2007;110(3):1013-1021
- E. Gothié, J.Pouysségur. *HIF-1 : régulateur central de l'hypoxie*. *Med Sci (Paris)*, 2002, 18(1): 70–78.
- E Klein, A Georges, J Brossaud, K de Bosredon, L Bordenave, J-B Corcuff. *Erythropoïétine : Quand la prescrire ? Pourquoi et comment la doser ?* JLE, Volume 67, numéro 5, septembre-octobre 2009, p505-515
- Elliott M.A., Tefferi A. *Thrombosis and haemorrhage in polycythaemia vera and essential thrombocythaemia*. *Br. J. Haematol.* 2005, 128: 275-290
- Epstein E. *Hämorrhagische Thrombocythämie bei vascularer Schrumpfmilz*. *Virchows. Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie*, 1934, 292: 233-248
- Falanga A., Marchetti M., Vignoli A., Balducci D., Russo L., Guerini V., Barbui T. *JAK-2 V617F mutation in patients with essential thrombocythemia: relation to platelet, granulocyte, and plasma hemostatic and inflammatory molecules*. *Exp. Hematol.* 2007, 35: 702-711
- Falanga A., Marchetti M., Barbui T., Smith C.W. *Pathogenesis of thrombosis in essential thrombocythemia and polycythemia vera: the role of neutrophils*. *Semin. Hematol.* 2005, 42: 239-247
- Feng, J. et al. *Activation of Jak2 catalytic activity requires phosphorylation of Y1007 in the kinase activation loop*. *Mol. Cell. Biol.* 1997, 17, 2497–2501
- Finazzi G, Caruso V, Marchioli R, et al. *Acute leukemia in polycythemia vera: an analysis of 1638 patients enrolled in a prospective observational study*. *Blood*, 2005, 105(7):2664-70
- Florez-Guzman Patricia, Fernandez-Sanchez Veronica, Mayani Hector. *Concise Review: Ex Vivo Expansion of Cord Blood-Derived Hematopoietic Stem and Progenitor Cells: Basic Principles, Experimental Approaches*. *Cells Translational Medicine*, 2013, 2:830–838
- Fukamachi, H., Saito, T., Tojo, A., Kitamura, T., Urabe, A., and Takaku, F. *Binding of erythropoietin to CFU-E derived from fetal mouse liver cells*. *Exp Hematol* 1987, 15, 833-837

Gangat N., J. Strand, C.Y. Li, W. Wu, A. Pardanani, A. Tefferi. *Leucocytosis in polycythaemia vera predicts both inferior survival and leukaemic transformation*. Br J Haematol, 2007, 138(3): p. 354-8

Griesshammer Martin, Gisslinger Heinz, Ruben Mesa. *Current and future treatment options for polycythemia vera*. Ann Hematol, 2015, 94:901 – 910 DOI 10.1007/s00277-015-2357-4

Gruppo Italiano Studio Policitemia. *Polycythemia vera: the natural history of 1213 patients followed for 20 years*. Ann. Intern. Med. 1995, 123:656-664

Guido Finazzi, Tiziano Barbui. *How I treat patients with polycythemia vera*. Blood, 2015, 109(12)

Harrison C, Kiladjan JJ, Al-Ali HK, Gisslinger H, Waltzman R, Stalbovskaya V, McQuitty M, Hunter DS, Levy R, Knoop L, Cervantes F, Vannucchi AM, Barbui T, Barosi G. *JAK inhibition with ruxolitinib versus best available therapy for myelofibrosis*. N Engl J Med. 2012 Mar 1, 366(9):787-98. doi: 10.1056/NEJMoa1110556

Hermouet S, Vilaine M. *The JAK2 46/1 Haplotype: A Marker Of Inappropriate Myelomonocytic Response To Cytokine Stimulation, Leading To Increased Risk Of Inflammation, Myeloid Neoplasm, And Impaired Defense Against Infection?* Haematologica, November 2011, 96: 1575-1579

Huang, L. J., Constantinescu, S. N. & Lodish, H. F. *The N-terminal domain of Janus kinase 2 is required for Golgi processing and cell surface expression of erythropoietin receptor*. Mol. Cell 8, 2001, 1327–1338

Heuck G. *Fälle von Leukämie mit eigenthümlihem Blut-resp. Knochenmarksbefund*. Virchows Archiv, 1879, 78: 475-496.

Iancu-Rubin Camelia and Ronald Hoffman. *Role of epigenetic reprogramming in hematopoietic stem cell function*. Curr Opin Hematol, 2015, 22:279–285

Ibn Al-Qayyim. *Sahîh Al-Jâmi'* (5671)

Ihle J.N. *Cytokine receptor signalling*. Nature, 1995, 377: 591-594

Ihle J.N. *Janus kinases in cytokine signalling*. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 1996, 351(1336): p. 159-66

Ihle J.N. and D.G. Gilliland. *Jak2: normal function and role in hematopoietic disorders*. Curr Opin Genet Dev, 2007, 17(1): p. 8-14

James W. Vardiman, Jüergen Thiele, Daniel A. Arber, Richard D. Brunning, Michael J. Borowitz, Anna Porwit, Nancy Lee Harris, Michelle M. Le Beau, Eva Hellström-Lindberg, Ayalew Tefferi, Clara D. Bloomfield. *The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes*. Blood, July 30, 2009, 114 (5)

Jelkmann, W., J. Bohlius, et al. *The erythropoietin receptor in normal and cancer tissues*. Critical reviews in oncology/hematology 2008

Jensen M.K., de Nully B.P., Lund B.V., Nielsen O.J., Hasselbalch H.C. *Increased platelet activation and abnormal membrane glycoprotein content and redistribution in myeloproliferative disorders*. Br. J. Haematol. 2000, 110: 116-124

Jensen M.K., de Nully B.P., Thorsen S., Hasselbalch H.C. *Frequent occurrence of anticardiolipin antibodies, Factor V Leiden mutation, and perturbed endothelial function in chronic myeloproliferative disorders*. Am. J. Hematol. 2002, 69: 185-191

Juan-Carlos Hernández-Boluda, Arturo Pereira, Montse Gómez, Concepción Boqué, Francisca Ferrer-Marín, José-María Raya, Valentín García-Gutiérrez, Ana Kerguelen, Blanca Xicoy, Pere Barba, Jesús Martínez, Elisa Luño, Alberto Alvarez-Larrán, Joaquín Martínez-López, Elisa Arbelo. *The International Prognostic Scoring System does not accurately discriminate different risk categories in patients with post-essential thrombocythemia and post-polycythemia vera myelofibrosis*. Haematologica, 2014, 99:e55-57

K. Saeidi. *Myeloproliferative neoplasms: Current molecular biology and genetics*. Critical Reviews in Oncology/Hematology 98, 2016, 375–389

Kapur, R., and Zhang L. *A novel mechanism of cooperation between c-Kit and erythropoietin receptor. Stem cell factor induces the expression of Stat5 and erythropoietin receptor, resulting in efficient proliferation and survival by erythropoietin*. J Biol Chem, 2001, 276,1099-1016

Kenneth K. *The molecular mechanisms that control thrombopoiesis*. J Clin Invest, 2005

Klimchenko O., Mori M., Distefano A., Langlois T., Larbret F., LEcluse Y., Feraud O., Vainchenker W., Norol F., Debili N. *A common bipotent progenitor generates the erythroid and megakaryocyte lineages in embryonic stem-cell-derived primitive hematopoiesis*. Blood, 20 août 2009

Koch C.A., C.Y. Li, R.A. Mesa and A. Tefferi. *Nonhepatosplenic extramedullary hematopoiesis: associated diseases, pathology, clinical course, and treatment*. Mayo Clin Proc, 2003, 78(10): p. 1223-33

Komrokji RS, Wadleigh M, Seymour JF, et al. *Results of a phase 2 study of pacritinib (SB1518), a novel oral JAK2 inhibitor, in patients with primary, post-polycythemia vera, and post-essential thrombocythemia myelofibrosis*. Blood, 2011, 118(21):130-131

Koury, M.J., and Bondurant, M.C. *Erythropoietin retards DNA breakdown and prevents programmed death in erythroid progenitor cells*. Science, 1990, 248, 378-381

Koury, M.J., and Bondurant, M.C. *Maintenance by erythropoietin of viability and maturation of murine erythroid precursor cells*. J Cell Physiol, 1988, 137, 65-74

Krantz, S. B. *Erythropoietin*. Blood, 1991, 77(3): 419-434

Kremyanskaya M., Mascarenhas J. , Hoffman R. *Anagrelide hydrochloride and ruxolitinib for treatment of polycythemia vera*. ISSN: 1465-6566 (Print) 1744-7666 (Online) Journal.2015

Kuhr David, Don M. Wojchowski. *Emerging EPO and EPO receptor regulators and signal transducers*. Blood First Edition paper, April 17, 2015; DOI 10.1182/blood-2014-11-575357

Kwaan H.C. and Wang J. *Hyperviscosity in polycythemia vera and other red cell abnormalities*. Semin. Thromb. Hemost.2003, 29: 451-458

L Gowin K, Ruben A Mesa. *Profile of pomalidomide and its potential in the treatment of myelofibrosis*. Therapeutics and Clinical Risk Management, 2015, 11 549–556

L.Stein Brady, R. Moliterno Alison, V. Tiu Ramón. *Polycythemia vera disease burden: contributing factors, impact on quality of life and emerging treatment options*. Ann Hematol, 2014, 93:1965–1976

Landolfi R., Cipriani M.C., Novarese L. *Thrombosis and bleeding in polycythemia vera and essential thrombocythemia: pathogenetic mechanisms and prevention*. Best. Pract. Res. Clin. Haematol. 2006, 19: 617-633

Landolfi R., L. Di Gennaro, A. Falanga. *Thrombosis in myeloproliferative disorders: pathogenetic facts and speculation*. Leukemia, 2008, 22(11): p. 2020-8

Landolfi R., Di G.L., Barbui T., De S., V, Finazzi G., Marfisi R., Tognoni G., Marchioli R. *Leukocytosis as a major thrombotic risk factor in patients with polycythemia vera*. Blood, 2007, 109: 2446-2452

Le Bousse-Kerdiles M.C. M.C. Martyre, *Dual implication of fibrogenic cytokines in the pathogenesis of fibrosis and myeloproliferation in myeloid metaplasia with myelofibrosis*. Ann Hematol, 1999, 78(10): p. 437-44

Lenormand, P., et al. *Growth factor-induced p42/p44 MAPK nuclear translocation and retention requires both MAPK activation and neosynthesis of nuclear anchoring proteins*. J Cell Biol, 1998, 142(3): p. 625-33

Levine R.L., Pardanani A., Tefferi A., Gilliland D. G. *Role of JAK2 in the pathogenesis and therapy of myeloproliferative disorders*. Nat. Rev. Cancer 7, 2007, 673-683

Levine R.L. and Gilliland D.G. *Myeloproliferative disorders*. Blood , 2008, 112: 2190-2198

Lily Jun-shen Huang, Stefan N. Constantinescu<sup>4</sup>, Harvey F. Lodish. *The N-Terminal Domain of Janus Kinase 2 Is Required for Golgi Processing and Cell Surface Expression of Erythropoietin Receptor*. Molecular Cell, December 2001, Volume 8, Issue 6, p1327–1338

Lindauer, K., Loerting, T., Liedl, K. R., Kroemer, R. T. *Prediction of the structure of human Janus kinase 2 comprising the two carboxy-terminal domains reveals a mechanism for autoregulation*. Protein Eng, 2001, 14, 27–37

Lutton J.D. and R.D. Levere. *Endogenous erythroid colony formation by peripheral blood mononuclear cells from patients with myelofibrosis and polycythemia vera*. Acta Haematol, 1979, 62(2): p. 94-9

- Marchioli R., G. Finazzi, R. Landolfi, J. Kutti, H. Gisslinger, C. Patrono, et al. *Vascular and neoplastic risk in a large cohort of patients with polycythemia vera*. *J Clin Oncol*, 2005, 23(10): p. 2224-32
- Mary F. McMullin, Bridget S. Wilkins, Claire N. Harrison. *Management of polycythemia vera: a critical review of current data*. doi: 10.1111/bjh.13812, 2015
- Mayordomo O., Carcamo C., Vecino A.M., Navarro J.L., Cesar J.M. *Arachidonic acid metabolism in platelets of patients with essential thrombocythemia*. *Thromb. Res.* 1995, 78: 315-321
- McCabe D.J., Harrison P., Mackie I.J., Sidhu P.S., Purdy G., Lawrie A.S., Watt H., Brown M.M., Machin S.J. *Platelet degranulation and monocyte-platelet complex formation are increased in the acute and convalescent phases after ischaemic stroke or transient ischaemic attack*. *Br. J. Haematol.* 2004,125: 777-787
- M. Maccarini Barcelos, Maria Cláudia Santos-Silva, *Molecular approach to diagnose BCR/ABL negative chronic myeloproliferative neoplasms*. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2011, 33(4):290-6
- Michiels J.J., Berneman Z., Van B.D., van der P.M., De R.H., Schroyens W. *Clinical and laboratory features, pathobiology of platelet-mediated thrombosis and bleeding complications, and the molecular etiology of essential thrombocythemia and polycythemia vera: therapeutic implications*. *Semin. Thromb. Hemost.* 2006, 32: 174-207
- Miyazawa K, Williams DA, Gotoh A, Nishimaki J, Broxmeyer HE, Toyama K. *Membrane-bound Steel factor induces more persistent tyrosine kinase activation and longer life span of c-kit gene-encoded protein than its soluble form*. *Blood*,1995, 85:641-649
- Morelli V.M., De Visser M.C., Vos H.L., Bertina R.M., and Rosendaal F.R. *ABO blood group genotypes and the risk of venous thrombosis: effect of factor V Leiden*. *J. Thromb. Haemost.* 2005, 3: 183-185.
- Muhammad Furqan, Nikhil Mukhi, Byung Lee, Delong Liu. *Dysregulation of JAK-STAT pathway in hematological malignancies and JAK inhibitors for clinical application*. *Biomarker Research*, 2013, 1:5
- Muller M., J. Briscoe, C. Laxton, D. Guschin, A. Ziemiecki, O. Silvennoinen, et al. *The protein tyrosine kinase JAK1 complements defects in interferon-alpha/beta and -gamma signal transduction*. *Nature*,1993, 366(6451): p. 129-35
- Muslim. *Sahih Muslim* (1577)
- Muta, K., Krantz, S.B., Bondurant, M.C., and Dai, C.H. *Stem cell factor retards differentiation of normal human erythroid progenitor cells while stimulating proliferation*. *Blood* 86, 1995, 572-580
- Oka, T., et al. *Gene silencing of the tyrosine phosphatase SHP1 gene by aberrant methylation in leukemias/lymphomas*. *Cancer Res*, 2002, 62(22): p. 6390-4
- Okamura T., N. Kinukawa, Y. Niho and H. Mizoguchi, *Primary chronic myelofibrosis: clinical and prognostic evaluation in 336 Japanese patients*. *Int J Hematol*, 2001, 73(2): p. 194-8

O'Keefe C, McDevitt MA, Maciejewski JP. *Copy neutral loss of heterozygosity: a novel chromosomal lesion in myeloid malignancies*. Blood, 8 avr 2010, 115(14):2731- 2739

Olcaydu D, Harutyunyan A, Jäger R, Berg T, Gisslinger B, Pabinger I, et al. *A common JAK2 haplotype confers susceptibility to myeloproliferative neoplasms*. Nat Genet 15 mars 2009, 41(4):450- 454

Origa Raffaella, Moi Paolo, Galanello Renzo, Cao Antonio, *Alpha Thalassemia, Gene Reviews* (internet) Initial Posting: November 1, 2005; Last Update: November 21, 2013

Osler W. *Chronic cyanosis with polycythaemia and enlarged spleen: a new clinical entity*. American Journal Medicine Sciences, 1903, 182:187-201

P.Duthilleul, *maladie de Vaquez, cours dispensé à la Faculté des sciences pharmaceutiques et biologiques de Lille*.2015

Pardanani A, Tefferi A, Jamieson C, et al. *Long-term follow up of a randomized phase II study of the JAK2-selective inhibitor fedratinib (SAR302503) in patients with myelofibrosis (MF)*. Blood, 2013a, 122(21):404

Pardanani A, Laborde RR, Lasho TL, et al. *Safety and efficacy of CYT387, a JAK1 and JAK2 inhibitor, in myelofibrosis*. Leukemia 2013b, 27:1322-1327

Passamonti F., E. Rumi, E. Pungolino, L. Malabarba, P. Bertazzoni, M. Valentini, et al. *Life expectancy and prognostic factors for survival in patients with polycythemia vera and essential thrombocythemia*. Am J Med, 2004, 117(10): p. 755-61

Passamonti F., E. Rumi, M. Caramella, C. Elena, L. Arcaini, E. Boveri, et al. *A dynamic prognostic model to predict survival in post-polycythemia vera myelofibrosis*. Blood, 2008, 111(7): p. 3383-7

Pearson T.C. Wetherley-Mein G. *Vascular occlusive episodes and venous haematocrit in primary proliferative polycythaemia*.Lancet 2, 1978, 1219-1222

Percy M.J., Scott L.M., Erber W.N., Harrison C.N., Reilly J.T., Jones F.G., Green A.R., McMullin M.F. *The frequency of JAK2 exon 12 mutations in idiopathic erythrocytosis patients with low serum erythropoietin levels*. Haematologica 92, 2007, 1607-1614

Peter L. Greenberg, Heinz Tuechler, Julie Schanz, Guillermo Sanz, Guillermo Garcia-Manero, Francesc Solé, John M. Bennett, David Bowen, Pierre Fenaux, Francois Dreyfus Hagop Kantarjian, Andrea Kuendgen, Alessandro Levis, Luca Malcovati, Mario Cazzola, Jaroslav Cermak, Christa Fonatsch, Michelle M. Le Beau, Marilyn L. Slovak, Otto Krieger, Michael Luebbert, Jaroslaw Maciejewski, Silvia M. M. Magalhaes, Yasushi Miyazaki, Michael Pfeilstöcker, Mikkael Sekeres, Wolfgang R. Sperr, Reinhard Stauder, Sudhir Tauro, Peter Valent, Teresa Vallespi, Arjan A. van de Loosdrecht, Ulrich Germing, Detlef Haase. *Revised International Prognostic Scoring System for Myelodysplastic Syndromes*. Blood, 2012 Sep 20, 120(12): 2454–2465

Pieri L., Bogani C., Guglielmelli P., Zingariello M., Rana R.A., Bartalucci N., Bosi A., and Vannucchi A.M. *The JAK2V617 mutation induces constitutive activation and*

*agonist hypersensitivity in basophils from patients with polycythemia vera.* Haematologica 94, 2009, 1537-1545

Prchal J.F. Axelrad A.A. *Letter: Bone-marrow responses in polycythemia vera.* N. Engl. J. Med. 1974, 290: 1382

Rakesh, K. D.K. Agrawal, *Controlling cytokine signaling by constitutive inhibitors.*Biochem Pharmacol, 2005, 70(5): p. 649-57

Raszeja-Specht A., Skibowska A., Bieniaszewska M., Szutowicz A. *Relationships between thrombohemorrhagic complications and platelet function in patients with essential thrombocythaemia.* Am. J. Hematol. 2001, 68: 32-36

Reiter Andreas, Harrison Claire. *How We Identify and Manage Patients with Inadequately Controlled Polycythemia Vera.* Curr Hematol Malig Rep, 2016, DOI 10.1007/s11899-016-0311-8

Ribera J.M., J. Blade, F. Cervantes, E. Feliu, J. Sierra, R. Bruges, et al., *Osteolytic lesions in idiopathic myelofibrosis: presentation of 2 cases.* Med Clin (Barc), 1983, 81(19): p. 861-4

Robertson B., Urquhart C., Ford I., Townend J., Watson H.G., Vickers M.A., Greaves M. *Platelet and coagulation activation markers in myeloproliferative diseases: relationships with JAK2 V617 F status, clonality, and antiphospholipid antibodies.* J. Thromb. Haemost. 5, 2007, 1679-1685

Rondelli D, Goldberg JD, Isola L, et al. *MPD-RC 101 prospective study of reduced-intensity allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with myelofibrosis.* Blood, 2014, 124:1183-1191

Ronnstrand L. *Signal transduction via the stem cell factor receptor/c-Kit.* Cell MolLife Sci. 2004, 61:2535-2548

Ruggeri M., Gisslinger H., Tosetto A., Rintelen C., Mannhalter C., Pabinger I., Heis N., Castaman G., Missiaglia E., Lechner K. et al. *Factor V Leiden mutation carriership and venous thromboembolism in polycythemia vera and essential thrombocythemia.* Am. J. Hematol. 2002, 71: 1-6

Russell ES. *Hereditary anemias of the mouse: a review for geneticists.* Adv Genet. 1979, 20:357-459

Sarma J., Laan C.A., Alam S., Jha A., Fox K.A., Dransfield I. *Increased platelet binding to circulating monocytes in acute coronary syndromes.* Circulation 105, 2002, 2166-2171

Scott L.M., Tong W., Levine R.L., Scott M.A., Beer P.A., Stratton M.R., Futreal P.A., Erber W.N., McMullin M.F., Harrison C.N. et al. *JAK2 exon 12 mutations in polycythemia vera and idiopathic erythrocytosis.* N. Engl. J. Med. 2007, 356: 459-468

Schlessinger J. *SH2/SH3 signaling proteins.* Curr Opin Genet Dev, 1994, 4(1): p. 25-30

Schwaller, J., et al., *Stat5 is essential for the myelo- and lymphoproliferative disease induced by TEL/JAK2.* Mol Cell, 2000, 6(3): p. 693-704

- Shaw, R.J. and L.C. Cantley, *Ras, PI(3)K and mTOR signalling controls tumour cell growth*. Nature, 2006, 441(7092): p. 424-30
- Shayesteh, L., et al. *PIK3CA is implicated as an oncogene in ovarian cancer*. Nat Genet, 1999, 21(1): p. 99-102
- Shireen Sirhan, Lambert Busque, Lynda Foltz, Kuljit Grewal, Caroline Hamm, Nicole Laferriere, Pierre Laneuville, Brian Leber, Elena Liew, Harold J. Olney, Jaroslav Prchal, Anna Porwit, Vikas Gupta. *Evolving Therapeutic Options for Polycythemia Vera: Perspectives of the Canadian Myeloproliferative Neoplasms Group*. Clinical Lymphoma, Myeloma & Leukemia, Vol. 15, No. 12, 715-27<sup>a</sup> 2015 Elsevier Inc.
- Shuai K., A. Ziemiecki, A.F. Wilks, A.G. Harpur, H.B. Sadowski, M.Z. Gilman, et al. *Polypeptide signalling to the nucleus through tyrosine phosphorylation of Jak and Stat proteins*. Nature, 1993, 366(6455): p. 580-3
- Silve RT, Lascu E, Feldman EJ. *Recombinant interferon alpha (rIFN) may retard progression of early myelofibrosis by reducing splenomegaly and by decreasing marrow fibrosis* [abstract 4053]. Paper presented at: American Society of Hematology, December 8, 2013, New Orleans, USA.
- Silver R.T., Vandris K., Wang L.Y., Cristos P.J., D'Adriano F., Jones A.V. *JAK2 V617F mutational load in patients with polycythemia vera measured by peripheral blood DNA is associated with disease severity*. Blood 100, 2007, abstract 2530
- Site internet de la mds (the Myelodysplastic Syndromes foundation) <http://www.mds-foundation.org/ipss-r-calculator/>
- Site internet [www.who.int/fr](http://www.who.int/fr) de l'OMS, l'Organisation mondiale de la Santé
- Spivak J.L., *Polycythemia vera: myths, mechanisms, and management*. Blood, 2002, 100(13): p. 4272-90
- Sterkers Y., C. Preudhomme, J.L. Lai, J.L. Demory, M.T. Caulier, E. Wattel, et al., *Acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes following essential thrombocythemia treated with hydroxyurea: high proportion of cases with 17p deletion*. Blood, 1998, 91(2): p. 616-22
- Tefferi A., Strand J.J., Lasho T.L., Knudson R.A., Finke C.M., Gangat N., Pardanani A., Hanson C.A., Ketterling R.P. *Bone marrow JAK2V617F allele burden and clinical correlates in polycythemia vera*. Leukemia 21, 2007, 2074-2075
- Tefferi A, Verstovsek S, Barosi G, et al. *Pomalidomide is active in the treatment of anemia associated with myelofibrosis*. J Clin Oncol, 2009, 27:4563-69
- Tiedt R, Hao-Shen H, Sobas MA, Looser R, Dirnhofer S, Schwaller J, et al. *Ratio of mutant JAK2-V617F to wild-type Jak2 determines the MPD phenotypes in transgenic mice*. Blood, 15 avr 2008, 111(8):3931- 3940
- Turitto V.T. and Weiss H.J. *Red blood cells: their dual role in thrombus formation*. Science 207, 1980, 541-543
- Turlure P, Cambier N, Roussel M, et al. *Complete hematological, molecular and histological remissions without cytoreductive treatment lasting after pegylated-*

- interferon a-2a (peg-IFN a-2a) therapy in polycythemia vera (PV): long term results of a phase 2 trial.* ASH Annual Meeting Abstracts,2011, 118:280
- Ungureanu, D. et al. *The pseudokinase domain of JAK2 is a dual-specificity protein kinase that negatively regulates cytokine signaling.* Nat. Struct. Mol. Biol. 18, 2011, 971–976
- Vannucchi A.M., Antonioli E., Guglielmelli P., Pardanani A., and Tefferi A. *Clinical correlates of JAK2V617F presence or allele burden in myeloproliferative neoplasms: a critical reappraisal.* Leukemia 22, 2008, 1299-1307
- Vannucchi A.M., Antonioli E., Guglielmelli P., Rambaldi A., Barosi G., Marchioli R., Marfisi R.M., Finazzi G., Guerini V., Fabris F. et al. *Clinical profile of homozygous JAK2V617F mutation in patients with polycythemia vera or essential thrombocythemia.* Blood 110, 2007, 840-846
- Vannucchi A.M., Antonioli E., Guglielmelli P., Longo G., Pancrazzi A., Ponziani V., Bogani C., Ferrini P.R., Rambaldi A., Guerini V. et al. *Prospective identification of high-risk polycythemia vera patients based on JAK2(V617F) allele burden.* Leukemia 21, 2007b,1952-1959
- Vannucchi AM, Kiladjian JJ, Griesshammer M, Masszi T, Durrant S, Passamonti F, Harrison CN, Pane F, Zachee P, Mesa R, He S, Jones MM, Garrett W, Li J, Pirron U, Habr D, Verstovsek S. *Ruxolitinib versus standard therapy for the treatment of polycythemia vera.* N Engl J Med. 2015 Jan 29, 372(5):426-35. doi: 10.1056/NEJMoa1409002
- Vaquez H. (1892). *Sur une forme spéciale de cyanose s'accompagnant d'hyperglobulie excessive et persistante.* CR Soc Biol (Paris) 44:284-388
- Véronique N. Lafleur, Stéphane Richard, Darren E. Richarda. *Transcriptional repression of hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) by the protein arginine methyltransferase PRMT1.* Mol Biol Cell. 2014 Mar 15, 25(6): 925–935.doi:10.1091/mbc.E13-07-0423
- Wagner KU, Schmidt JW. *The two faces of Janus kinases and their respective STATs in mammary gland development and cancer.* J Carcinog 2011, 10:32
- Wilks A.F., A.G. Harpur, R.R. Kurban, S.J. Ralph, G. Zurcher and A. Ziemiecki. *Two novel protein-tyrosine kinases, each with a second phosphotransferase-related catalytic domain, define a new class of protein kinase.* Mol Cell Biol, 1991, 11(4): p. 2057-65
- Xiong Y, Mahmood A, Qu C, Kazmi H, Zhang ZG, Noguchi CT, et al. *Erythro-poietin improves histological and functional outcomes after traumatic brain injury in mice in the absence of the neural erythropoietin receptor.* J Neurotrauma, 2010, 27:205–15
- Yedgar S., Koshkaryev A., and Barshtein G. *The red blood cell in vascular occlusion.* Pathophysiol. Haemost. Thromb. 2002, 32: 263-268
- Yoon, S. and R. Seger. *The extracellular signal-regulated kinase: multiple substrates regulate diverse cellular functions.* Growth Factors, 2006, 24(1): p. 21-44

Zermatie Y, Fakhouri F, Delarue R, Ribeil J.A, Knebelmann B, Hermine O. *Régulation de l'érythropoïèse*, Flammarion Médecine-Sciences, Actualités néphrologiques 2003

Zhuang H, Pate SV, He T, Sonsteb SK, Niu Z, Wojchowski DM. *Inhibition of erythropoietin induced mitogenesis by a kina-se-deficient form of Jak2*. *J Biol Chem* 1994, 269 : 21411-4

# **Annexe 1 : enquête sur la maladie de Vaquez à l'officine**

## **La maladie de Vaquez**

Pharmacien diplômé en 2013, je prépare une thèse d'exercice sur le thème suivant : maladie de Vaquez, découverte d'un cas en officine, état des lieux, thérapeutiques, et perspectives. Dans ce cadre, j'aurais besoin de votre participation en répondant à ce questionnaire. Toutes les réponses seront évidemment traitées de façon totalement anonyme.

## **MERCI D'AVANCE!**

Quel est votre âge ?

- Moins de 30 ans
- 30 et 50 ans
- Plus de 50 ans

Êtes-vous ?

- Un homme
- Une femme

Depuis combien de temps exercer-vous votre métier de pharmacien?

- Moins de 5 ans
- Entre 5 et 10 ans
- Entre 10 et 20 ans
- Plus de 20 ans

Quel est votre statut ?

- Titulaire
- Pharmacien assistant
- Pharmacien remplaçant
- Titulaire

Participez-vous à des formations continues:

- Oui, toutes les semaines
- Oui, plusieurs fois par mois
- Oui, moins souvent
- Non, jamais

**Combien de prescriptions de chimiothérapies orales délivrez-vous par mois ?**

- 0
- 1 à 10
- 10 à 25
- >25

**Connaissez-vous la pathologie du patient à qui vous délivrez des anticancéreux ?**

- **Jamais**
- **Rarement**
- **Régulièrement**
- **Souvent**
- **Toujours**

**Combien sont atteint de la maladie de Vaquez ?**

- **0**
- **1 à 10**
- **10 à 25**
- **>25**

Selon vous, quel anticancéreux est indiqué dans la maladie de Vaquez ?

- Imatinib (Glivec®)
- Capécitabine (Xeloda®)
- Cyclophosphamide (Endoxan®)
- Hydroxyurée (Hydréa®)

**Combien de temps passez-vous auprès de votre patient pour lui expliquer son traitement ?**

- **< 1 min**
- **de 1 et 5 min**
- **>5 min**

Selon vous, la maladie de Vaquez ou polyglobulie primitive est :

- Un syndrome myéloprolifératif
- Un syndrome lymphoprolifératif
- Un syndrome myélodysplasique

Selon vous, la prévalence de la MV en France serait

- 10 nouveaux cas/an
- 100 nouveaux cas/an
- 1000 nouveaux cas/an

Selon vous, la première circonstance de découverte de la maladie :

- Hémogramme réalisé à titre indicatif
- Symptomatologie fonctionnelle évocatrice
- Complications thrombotiques

Quelle(s) symptôme(s) caractérise(nt) le mieux le patient MV

- Céphalées, vertiges
- thromboses
- Asthénie
- Prurit

Quels sont les thèmes les plus souvent abordés par vos patients (classer de 1 à 6 le thème du plus au moins évoqué ; un chiffre ne peut servir qu'une seule fois)

- Dosage
- Effet secondaires des médicaments
- Interaction médicamenteuse
- Manière de prendre les médicaments
- Durée de la thérapie
- Coût du traitement
- Autres : préciser svp

Lors de la première délivrance, à quelle fréquence conseillez-vous les patients sur leur traitement anti-cancéreux

- 1 à 10%
- 21 à 50%
- 51 à 80%
- >80%
- Jamais

A quelle fréquence conseillez-vous vos patients lors des renouvellements de chimiothérapie orale ?

- 1 à 10%
- 21 à 50%
- 51 à 80%
- >80%
- Jamais

Vous sentez-vous formé à la délivrance de ces spécialités?

- Oui
- Non

Qu'attendriez-vous de la part des laboratoires afin d'améliorer la dispensation ?

- Des fiches conseil à donner aux patients
- Des posters
- Des formations avec les facultés ou les UTIP
- Autres





**Faculté des sciences pharmaceutiques et biologiques**  
3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE Cedex - Tél. 03.20.96.40.40 - Fax 03.20.95.90.09

**Dépôt du sujet**

**Thèse d'Exercice**  **Mémoire d'Internat**

Ces renseignements sont à fournir au Bureau des thèses, minimum 2 mois avant la date prévue de soutenance.

Nom : HOUMRIA  
Prénom : FOUAD  
Année d'étude : 6A (de thèse)

**SUJET**  
Ces renseignements doivent être dactylographiés de préférence ou inscrits en majuscules

**Thèmes abordés et mots clés :**

- syndromes néoplasiques
- EPO
- mutation JAK2 V617F
- polyglobulie

**Titre prévu :** Maladie de Jaquez =  
Etat des lieux, thérapeutiques et perspectives.

**DESIGNATION ET AVIS DU CONSEILLER DE THESE**

Nom : TAGHIE Prénom : Magjid  
Fonctions (si extérieur à la Faculté) : Maître de Conférences  
Remarques : .....

L'étudiant	Le Conseiller de Thèse	Avis et signature du Doyen	
Date : <u>6/03/14</u>	Date : <u>6/03/14</u>	<input checked="" type="checkbox"/> Avis Favorable	<input type="checkbox"/> Avis défavorable
Signature : 	Signature : 	Date :	Le Doyen
			 L. DUBREUIL

**DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

Année Universitaire 2015/2016

**Nom :** HOUAMRIA

**Prénom :** Fouad

**Titre de la thèse :** Maladie de Vaquez, découverte d'un cas en officine, état des lieux, thérapeutiques, et perspectives

**Mots-clés :** Syndromes myéloprolifératifs, Erythropoïétine, Mutation JAK2V617F, polyglobulie essentielle, polycythemia vera

---

**Résumé :** La maladie de Vaquez ou Polycythemia Vera (PV) est une néoplasie myéloproliférative qui se caractérise par la présence de la mutation JAK2V617F découverte en 2005 dans 95 % des cas. Suite à la découverte d'un cas en officine, nous avons établi l'état des lieux de la maladie et sa prise en charge. Ces éléments nous ont permis de comprendre les suites médicales qui ont été données à notre patient dans le cadre de sa pathologie. Une enquête prospective auprès de 30 pharmaciens d'officine nous a permis ensuite de situer cette pathologie dans la pratique officinale quotidienne, de déterminer la manière dont elle est perçue scientifiquement et personnellement par la profession et de dégager des axes possibles d'amélioration de la dispensation des traitements.

---

**Membres du jury :**

**Président :** Madame le Pr Annabelle Dupont, Professeur des Universités, Laboratoire d'Hématologie, Faculté de Pharmacie de Lille

**Assesseur(s) :** Monsieur le Dr Madjid TAGZIRT, Maître de Conférences, Laboratoire d'Hématologie, Faculté de Pharmacie de Lille

**Membre extérieur:** Monsieur Oussama AZROU, pharmacien d'officine