

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

Soutenue publiquement le 11 octobre 2024,
Par Mme Leïla BEN DHIA

**Caractéristiques des variants du gène
SH2B3 dans les syndromes
myéloprolifératifs triples négatifs
BCR::ABL1 négatifs**

Membres du jury :

Président : Pr POULAIN Stéphanie, PU-PH en hématologie à la faculté de Pharmacie de Lille

Directeurs, conseillers de thèse : Dr DUPLOYEZ Nicolas, MCU-PH en hématologie et Dr NIBOUREL Olivier PH en hématologie, au CHU de Lille

Assesseur : Dr WEMEAU Matthieu, PH en Hématologie clinique au CH de Roubaix

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

Soutenue publiquement le 11 octobre 2024,
Par Mme Leïla BEN DHIA

**Caractéristiques des variants du gène *SH2B3*
dans les syndromes myéloprolifératifs triple
négatifs *BCR::ABL1* négatifs**

Membres du jury :

Président : Pr POULAIN Stéphanie, PU-PH en hématologie à la faculté de Pharmacie de Lille

Directeurs, conseillers de thèse : Dr DUPLOYEZ Nicolas, MCU-PH en hématologie et Dr
NIBOUREL Olivier PH en hématologie, au CHU de Lille

Assesseur : Dr WEMEAU Matthieu, PH en Hématologie clinique au CH de Roubaix

 	LISTE GEREE	LG/FAC/001
FACULTE DE PHARMACIE	Enseignants et Enseignants-chercheurs 2023-2024	Version 2.2 Applicable au 02/01/2022
Document transversal		Page 1/148

REDACTION	VERIFICATION	APPROBATION
Audrey Hennebelle Assistante de direction	Cyrille Porta Responsable des Services	Delphine Allorge Doyen

Université de Lille

Président
Premier Vice-président
Vice-présidente Formation
Vice-président Recherche
Vice-président Ressources humaines
Directrice Générale des Services

Régis BORDET
Etienne PEYRAT
Corinne ROBACZEWSKI
Olivier COLOT
Bertrand DÉCAUDIN
Anne-Valérie CHIRIS-FABRE

UFR35

Doyen
Premier Vice-Doyen, Vice-Doyen RH, SI et Qualité
Vice-Doyenne Recherche
Vice-Doyen Finances et Patrimoine
Vice-Doyen International
Vice-Doyen Coordination pluriprofessionnelle et Formations sanitaires
Vice-Doyenne Formation tout au long de la vie
Vice-Doyen Territoire-Partenariats
Vice-Doyen Santé numérique et Communication
Vice-Doyenne Vie de Campus
Vice-Doyen étudiant

Dominique LACROIX
Hervé HUBERT
Karine FAURE
Damien CUNY
Vincent DERAMECOURT
Sébastien D'HARANCY
Caroline LANIER
Thomas MORGENROTH
Vincent SOBANSKI
Anne-Laure BARBOTIN
Valentin ROUSSEL

Faculté de Pharmacie

Doyen
Premier Assesseur et
Assesseur à la Santé et à l'Accompagnement
Assesseur à la Vie de la Faculté et
Assesseur aux Ressources et Personnels
Responsable des Services
Représentant étudiant
Chargé de mission 1er cycle
Chargée de mission 2eme cycle
Chargé de mission Accompagnement et Formation à la Recherche

Delphine ALLORGE

Anne GARAT

Emmanuelle LIPKA
Cyrille PORTA
Honoré GUISE
Philippe GERVOIS
Héloïse HENRY
Nicolas WILLAND

Chargé de mission Relations Internationales
Chargée de Mission Qualité
Chargé de mission dossier HCERES

Christophe FURMAN
Marie-Françoise ODOU
Réjane LESTRELIN

Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers (PU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie et Santé publique	81
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie	82
M.	DÉCAUDIN	Bertrand	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
M.	DINE	Thierry	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie	82
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie - Virologie	82
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	ODOU	Pascal	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	POULAIN	Stéphanie	Hématologie	82
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	STAELS	Bart	Biologie cellulaire	82

Professeurs des Universités (PU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Biophysique - RMN	85
M.	BERLARBI	Karim	Physiologie	86
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie	87
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie	87

M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques	87
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Biophysique - RMN	85
Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie thérapeutique	86
M.	DEPREZ	Benoît	Chimie bioinorganique	85
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie	86
M.	ELATI	Mohamed	Biomathématiques	27
M.	FOLIGNÉ	Benoît	Bactériologie - Virologie	87
Mme	FOULON	Catherine	Chimie analytique	85
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie et Santé publique	86
M.	GOOSSENS	Jean-François	Chimie analytique	85
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie	86
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique	86
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques	26
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie cellulaire	87
Mme	LESTRELIN	Réjane	Biologie cellulaire	87
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie analytique	85
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie physique	85
M.	MILLET	Régis	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	MUHR-TAILLEUX	Anne	Biochimie	87
Mme	PERROY	Anne-Catherine	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	RIVIÈRE	Céline	Pharmacognosie	86
Mme	ROMOND	Marie-Bénédicte	Bactériologie - Virologie	87
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie	86
M.	SERGHERAERT	Éric	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie industrielle	85

M.	WILLAND	Nicolas	Chimie organique	86
----	---------	---------	------------------	----

Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers (MCU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	CUVELIER	Élodie	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
Mme	DANEL	Cécile	Chimie analytique	85
Mme	DEMARET	Julie	Immunologie	82
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie et Santé publique	81
Mme	GENAY	Stéphanie	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
M.	GRZYCH	Guillaume	Biochimie	82
Mme	HENRY	Héloïse	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
M.	LANNOY	Damien	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	MASSE	Morgane	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
Mme	ODOU	Marie-Françoise	Bactériologie - Virologie	82

Maîtres de Conférences des Universités (MCU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	ALIOUAT	Cécile-Marie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	ANTHÉRIEU	Sébastien	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie	87
M.	BANTUBUNGI-BLUM	Kadiombo	Biologie cellulaire	87
M.	BERTHET	Jérôme	Biophysique - RMN	85
M.	BOCHU	Christophe	Biophysique - RMN	85
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie	86
M.	BOSC	Damien	Chimie thérapeutique	86
Mme	BOU KARROUM	Nour	Chimie bioinorganique	
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie	87

Mme	CARON-HOUDE	Sandrine	Biologie cellulaire	87
Mme	CARRIÉ	Hélène	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	CHARTON	Julie	Chimie organique	86
M.	CHEVALIER	Dany	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques	85
M.	DHIFLI	Wajdi	Biomathématiques	27
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire	87
M.	EL BAKALI	Jamal	Chimie thérapeutique	86
M.	FARCE	Amaury	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	FLIPO	Marion	Chimie organique	86
M.	FRULEUX	Alexandre	Sciences végétales et fongiques	
M.	FURMAN	Christophe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie	87
Mme	GOOSSENS	Laurence	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie et Santé publique	86
M.	HAMONIER	Julien	Biomathématiques	26
Mme	HAMOUDI-BEN YELLES	Chérifa-Mounira	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie	86
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie	87
M.	KAMBIA KPAKPAGA	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	KARROUT	Younes	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie	87
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie analytique	85
Mme	LEHMANN	Hélène	Droit et Economie pharmaceutique	86

Mme	LELEU	Natascha	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	LIBERELLE	Maxime	Biophysique - RMN	
Mme	LOINGEVILLE	Florence	Biomathématiques	26
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie	86
M.	MENETREY	Quentin	Bactériologie - Virologie	
M.	MOREAU	Pierre-Arthur	Sciences végétales et fongiques	87
M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques	85
M.	PIVA	Frank	Biochimie	85
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie et Santé publique	86
M.	POURCET	Benoît	Biochimie	87
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques / Innovations pédagogiques	85
Mme	RAVEZ	Séverine	Chimie thérapeutique	86
Mme	ROGEL	Anne	Immunologie	
M.	ROSA	Mickaël	Hématologie	
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie	86
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie	87
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie - Virologie	87
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie	87
M.	VILLEMAGNE	Baptiste	Chimie organique	86
M.	WELTI	Stéphane	Sciences végétales et fongiques	87
M.	YOUS	Saïd	Chimie thérapeutique	86
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques	85

Professeurs certifiés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
Mme	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	HUGES	Dominique	Anglais
Mme	KUBIK	Laurence	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeurs Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	DAO PHAN	Haï Pascal	Chimie thérapeutique	86
M.	DHANANI	Alban	Droit et Economie pharmaceutique	86

Maîtres de Conférences Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	COUSEIN	Etienne	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	
Mme	CUCCHI	Malgorzata	Biomathématiques	85
M.	DUFOSSEZ	François	Biomathématiques	85
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	85
M.	GILLOT	François	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	MITOUMBA	Fabrice	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	86
M.	PELLETIER	Franck	Droit et Economie pharmaceutique	86

Assistants Hospitalo-Universitaire (AHU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	BOUDRY	Augustin	Biomathématiques	
Mme	DERAMOUDT	Laure	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	
Mme	GILLIOT	Sixtine	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	

M.	GISH	Alexandr	Toxicologie et Santé publique	
Mme	NEGRIER	Laura	Chimie analytique	

Hospitalo-Universitaire (PHU)

	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	DESVAGES	Maximilien	Hématologie	
Mme	LENSKI	Marie	Toxicologie et Santé publique	

Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherche (ATER)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	BERNARD	Lucie	Physiologie	
Mme	BARBIER	Emeline	Toxicologie	
Mme	COMAPGNE	Nina	Chimie Organique	
Mme	COULON	Audrey	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	
M.	DUFOSSEZ	Robin	Chimie physique	
Mme	KOUAGOU	Yolène	Sciences végétales et fongiques	
M.	MACKIN MOHAMOUR	Synthia	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	

Enseignant contractuel

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
M.	MARTIN MENA	Anthony	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
Mme	NDIAYE-BOIDIN	Maguette	Anglais
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques

UFR3S-Pharmacie

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



REMERCIEMENTS

À ma Présidente de Jury,

Madame le Professeur Stéphanie POULAIN

*Professeur des Universités – Praticien Hospitalier
Laboratoire d'Hématologie, Centre Hospitalier Universitaire de Lille
Faculté de Pharmacie de Lille*

Je vous remercie de me faire l'honneur de présider ce jury de thèse, après m'avoir enseigné l'hématologie des lymphomes au cours de mon DES. Merci d'avoir toujours pris le temps de vous intéresser à mes projets professionnels, en cours ou futurs, depuis mon orientation en hématologie. Soyez assurée de ma reconnaissance et mon profond respect.

À mon assesseur,

Monsieur le Docteur Mathieu WEMEAU

*Praticien Hospitalier
Centre Hospitalier de Roubaix et Centre Hospitalier Universitaire de Lille*

Je vous remercie sincèrement pour le temps et l'attention que vous avez consacré à l'évaluation de mon travail. Votre expertise en médecine et vos observations précieuses représentent une véritable opportunité pour enrichir cette recherche. Votre participation à ce jury est un immense honneur, et je vous en suis très reconnaissant.

À mes directeurs de thèse,

Monsieur le Docteur Nicolas DUPLOYEZ

*Maitre de conférences hospitalo-universitaire
Laboratoire d'Hématologie, Centre Hospitalier Universitaire de Lille
Faculté de Médecine de Lille*

Je te remercie de m'avoir fait l'honneur d'accepter de m'encadrer pour ce travail. Ce fut un réel plaisir de découvrir la biologie moléculaire à tes côtés. Ton expérience et ton savoir m'ont beaucoup apporté, tant pour ce projet que pour approfondir mes connaissances en hématologie au cours de mon DES. Je tiens à te témoigner toute ma gratitude et mon profond respect.

Monsieur le Docteur Olivier NIBOUREL

*Praticien Hospitalier
Laboratoire d'Hématologie, Centre Hospitalier Universitaire de Lille*

Je te remercie pour la confiance que tu m'as accordée en me proposant ce travail sur un sujet qui te tient tant à cœur. Tu as toujours été disponible, bienveillant et de bons conseils tout au long de la réalisation de cette thèse. Merci pour ces nombreux zoom depuis Paris ou la Tunisie, à chaque fois je ressortais pleine de bonnes idées pour avancer et toujours motivée. Ce fut un véritable plaisir de travailler avec toi. Sois assuré de ma gratitude et de mon profond respect.

Merci au Dr Bitan, Dr Chkili, Dr Daniel, Dr Deschildt, Dr Dufosse, Dr Hardeman, Dr Wattebled et Dr Willaume de m'avoir permis d'accéder aux données patients des différents hôpitaux de la région. Un grand merci également au Dr Benhalima pour son aide précieuse dans la réalisation des statistiques de ma thèse.

Je dédie cette thèse (à beaucoup de monde et je m'excuse de la longueur mais j'ai beaucoup de chance d'être si bien entourée) :

À ma famille du Love,

À mes parents adorés, vous avez construit bien plus qu'une maison : un foyer d'amour, de débats passionnés, et de valeurs solides. Avec deux enseignants-chercheurs en mathématiques comme parents, il n'est pas étonnant que j'aie choisi l'hôpital public, la recherche, et j'espère un peu d'enseignement. Vos mots résonnent en moi : « Ce n'est pas facile de vieillir, pour se sentir bien, il faut pouvoir se retourner sur son passé et se dire qu'on a fait de son mieux." Cette phrase guide chacune de mes décisions.

Merci de m'avoir offert la meilleure sœur, Aïch'. Toujours là pour prolonger mes blagues, ou plutôt pour que je continue les tiennes. Ta réussite, tes doutes partagés, et ta passion pour l'écologie et la nature m'inspirent. Avec Marion, continuez à distribuer du 9/10 à chaque tour de table !

Naïmou, mon grand frère, compagnon d'enfance dans toutes les bêtises, philosophe (de gauche, of course !), mathématicien et footballeur (à la retraite, mais toujours le même mental). Tu as enrichi notre vie en nous présentant Lala, qui a trouvé une place précieuse parmi nous. Ensemble, vous avez offert à la famille deux petites merveilles, Ama et Yaya. Avec Aïch', nous vivons notre meilleure vie de Tata.

À mes grands-parents,

Api tu n'étais pas un voisin comme les autres, tu es dans mon cœur à chaque étape de ma vie. Mémé Lt'ifa, tu es pour moi l'image de ma Tunisie, mon deuxième pays. Ton indépendance et ta force de vivre ont fait de toi un pilier de la famille. A mes deux autres grands-parents que je n'ai pas eu la chance de connaître, Khalifa et Françoise.

À mes oncles, tantes, cousins, cousines et leurs enfants que j'aime si fort mais vous êtes bien trop nombreux pour que je vous cite, que ça soit du côté Ben Dhia ou Bonnet il nous faut des livres entiers pour faire entrer tout ce monde-là. Tous les moments à Saint-Bon, en Tunisie, à Breteuil sont pour moi parmi les plus grands moments de joie et des souvenirs indélébiles.

Merci aux Galzy de m'avoir bien souvent accueilli comme leur fille. A Réré&Susu et leurs enfants d'avoir été autant des amis que la famille. A ma tante Elisabeth, de m'avoir orienté vers la pharmacie pour faire de l'hématologie, et pour son amour contagieux du nord de la France. A Guigui du temps que tu consacres à chacun de nous, pour ta capacité à déconstruire et reconstruire. A ma tata Catherine, et tous ces fous rires avec toi et mes cousins adorés Elyes et Zach. Une pensée émue pour Catherine, Alain, Nadia, Ivan partis trop tôt.

Dédicaces spéciales :

Ma soso, ma meilleure amie, ma cousine, ma voisine, je t'aime. Tu es ma meilleure moitié, toujours là pour moi, brillante, drôle, engagée, tu forces mon admiration. Je vous souhaite à Jacques et toi le meilleur.

Ma Syrine, mon autre cousine chérie, tu es une force de la nature. On a passé tellement de nuits à refaire le monde, et malgré la distance tu sais tout de moi. Je t'aime plus que Baya aime Vaiana c'est dire ! Notre team de couz est solide : Lilia, Mymy, Aïch, Rymouch, toi et moi. Et à travers nous le lien très puissant de Sarah sera toujours présent.

À toi, Khalil,

Tu es mon pilier. Depuis les révisions de l'internat, tu m'as soutenue et aimée. La vie à tes côtés est douce et belle. Nous nous ressemblons, nous nous complétons, nous rions, et nous prenons soin l'un de l'autre. Je suis tellement reconnaissante de t'avoir à mes côtés.

Merci aussi à ta famille, Noureddine, Samia, Meryam et Sami, pour m'avoir si bien accueillie. Votre générosité est immense.

À mes ami(e)s,

Ceux de toujours, Six, ta gentillesse sans limite force mon admiration. Angie, ta droiture et ton intégrité m'inspirent un profond respect et la Team Grand Cœur : Anatole, Bruno, Charles, Isabelle, Gabriel, Nicolas, Savinien, Tiphaine, Eblé, Duruy puis maintenant le reste de la vie à vos côtés.

Merci aussi à Caco, Félix, Philou, Anthony, Gaspard, César, Nico, vous avez marqué mon histoire.

Celles et ceux qui ont rejoint ma vie plus tardivement, ma Popop's d'amour, ma Olivia Brooskette si parfaite, Alice ma grande gueule préf. Mais aussi à Aïmene, Adrien D, Shana, Appo, Max, Axel, David et tant d'autres, la P1 n'aurait jamais été aussi marrante sans vous.

En pharma je ne peux pas dire que j'ai vraiment cherché à rencontrer des gens et forcée de reconnaître que pourtant y avait vraiment la best team ! Le binôme, Sam et Dav, Rayan, mon petit chamallow algérien, Niss, mon Nietzsche préf.

A la team de Khal, Quentin, Les Solène, Danny-J, Lili, Théo, Brice, Cécile, Pierre Matthieu, Antoine, Marie, Jen, merci de m'avoir tendu les bras et intégrée dès le début.

À mes professeurs et enseignants, depuis la maternelle jusqu'à la faculté de Paris Descartes. Je vous suis reconnaissante de m'avoir accompagnée tout au long de mes années d'études. Une pensée particulière pour Madame Savelli, qui a su me comprendre et m'accepter avec mes qualités et mes défauts. Son regard bienveillant a marqué mon parcours.

Aux équipes des laboratoires de mes différents stages :

Un grand merci à l'équipe de l'HEGP en tant que FFI, j'ai pu poser mes premiers diagnostics d'hémopathies aux côtés d'une équipe de biologistes et de techniciennes compétente et bienveillante.

À l'équipe de microbiologie de l'hôpital de Lens, qui m'a accueillie en pleine crise COVID, je vous suis profondément reconnaissante. Passer du 7^{ème} arrondissement parisien aux terrils lensois aurait été bien plus difficile sans votre accueil chaleureux. Merci aux deux Sylvie, à Sarah, et à tous les techniciens qui apportent une ambiance joyeuse au laboratoire.

À l'équipe de biochimie du CHU de Lille, un grand merci de m'avoir permis de traverser ce semestre dans des conditions parfaites et d'appréhender la vie en CHU. Une mention spéciale pour l'équipe des Prot' : le ukulélé de Jaime et Lulu a enchanté ces six mois, tout comme la présence chaleureuse de Patrice.

À l'équipe d'immunologie du CHU de Lille, merci pour ce stage. Je crois qu'aucun de mes co-internes n'oubliera jamais les allergies croisées kiwi-latex !

À l'équipe d'hématologie de Lille, un grand merci à tous les biologistes : Alice, Christophe, Christine, Elise, Florent, Gauthier, Laurène, Nathalie, Nicolas, Olivier, Stéphanie et Valérie. Merci également à toute l'équipe d'hémostase, qui complète parfaitement ce laboratoire. Merci également au Professeur Preudhomme, qui, depuis le début de mon internat, me guide afin d'en tirer le meilleur. Un grand merci aux équipes techniques et informatiques (vous êtes si nombreux, mais tous dans nos cœurs, sans vous nos travaux seraient bien vides). Encore merci au Pr Salomon, qui m'a permis d'effectuer un master 2 dans d'excellentes conditions.

À l'équipe d'hématologie de l'hôpital Saint-Louis, vous avez enchanté mes cinq derniers mois. Travailler à vos côtés est une chance que je suis heureuse d'avoir eue. Merci au Pr Soulier et au Pr Clappier, qui m'ont si bien accueillie. Merci à toute l'équipe de biologie moléculaire : Rathana, Marie, Matthieu, Laureen. J'ai pu progresser à vos côtés tout en rigolant et en chantant, bien sûr. Merci aussi à l'équipe du labo de cyto/CMF : Clémentine, Lou, Stéphanie et Pierre, le temps passé avec vous a toujours été de grande qualité. Merci évidemment aux équipes techniques, qui viennent chaque matin avec le sourire.

À vous mes co-internes, comment parler de l'internat sans parler de vous,

Ilyes, mon petit chat, mon binôme, un phare dans l'obscurité. Merci pour tout ce que tu as fait pour moi, à commencer par les statistiques de cette thèse. La vie à Lille sans toi est inimaginable, en fait, la vie tout court. Mon Guillaume, tu es un être hors du commun, non seulement une star qui brille, mais qui fait briller nos vies, merci.

Ma Jojo, ta joie communicative est un enchantement pour tous ceux qui ont la chance de te croiser. Merci pour les (trop) nombreux goûters, depuis la biochimie jusqu'à mon départ pour Paris.

Merci à Wafa, Laure et Aurélien, vous étiez les premiers, et qu'est-ce qu'on a rigolé !

Super Mahdi, merci pour tout, tu es une source d'inspiration dans notre domaine, et bien plus encore. Merci à Adrien et Mara pour ces débats enflammés sur la route de Lens.

Être six néo-internes dans un PTI de biochimie fut une expérience inoubliable. Est-ce le talent de graphiste de Ludo, les chansons de Jojo, les débats animés avec Fanny, les thés avec Manon D, ou mes journées passées avec Sarah qui ont rendu ce stage si spécial ? Sans doute un peu de tout cela !

Ces six mois d'immuno ont été exceptionnels, quelle équipe de choc : Sean, Léa, Nico, Clément, Guigui, et bien sûr ma Chey chérie. Entre les barres de sneakers, le make-up, les pizzas/frites (beurk !), l'Eurovision, et bien sûr les AAN nous sommes vraiment allés au bout de notre savoir.

Merci à mes co-internes d'hémato du CHU : Manon P, Ilyes, Guillaume, Ines, Fanny, Zoé, Quentin, Paul, Gabriel, Lotfi, Anne-Claire, Sophie, Emma, Mélinda et mention spéciale pour Adrien D. Tes taquineries et tes petits cours d'hémato ont enrichi chacun de nous ! Ma super Manon D. Tu as été un pilier pour Ilyes, Mélinda et moi. Et bien sûr à ma tun préf, Nadine.

Aux co-internes parisien, Arnault, Irina, Juan, Thami et Zélie, merci pour tous ces fous rires, merci de me permettre de finir ma thèse dans les meilleures conditions possibles. Vous êtes une équipe de choc, hâte de vous retrouver en Guadeloupe.

Merci à mes presque chefs/co-internes : Romane et Augustin, vous êtes inspirants.

Merci à celles et ceux qui n'ont pas été mes co-internes mais qui ont ensoleillé le CBP : Amine, Benjamin, Denys, Loïc, Manon F, Marc, Mariem, Nolan, Pauline(s), Ronny, Thomas, Wissal et tous les autres.

Merci à mes amis lillois, enfin plutôt...mes amis rencontrés à Lille. Jérémy, Charles, du ski en passant par Paris vous nous avez accompagné partout et vous êtes entrés dans notre vie. Emma, merci de nous rappeler que même des sujets importants sont toujours plus facile à discuter à travers tes yeux de rêveuse. Alex B, Amélie, Anne-Laure, Dimitri, Claire, Margaux, Momo, Maxime, Valentine et Yasmine sans vous les verres à Wazemme, les diners de Ramadan, les aprem jeux de sociétés et autres, n'aurait pas eu la même saveur.

Pensée pour mes Yogi, Charlotte et Pauline nos moments privilégiés chez René ont été un vrai cadeau pour moi. Une pensée particulière pour Makiko, merci pour tout, le yoga, shiatsu, les échanges autour du thé dans ton salon, tu es une magnifique personne.

मम□□□□□□ □□□□□□□□, une pensée émue pour tous mes professeurs de yoga d'Inde, Paris et Lille. Merci particulièrement à Jérôme qui m'a accompagné pendant l'externat et Gibran qui continue de me former. Une mention toute particulière à René qui m'a vraiment permis de trouver une bulle d'oxygène à Lille. Merci pour tout ce que tu es, un tailleur de pierre et d'âme. Merci aussi à Xavier, un professeur de danse exceptionnel, qui a su créer un lieu unique et inspirant dans notre quartier parisien, où chacun pouvait s'exprimer librement. Merci aussi à Pierre Champagne, mon professeur de violoncelle. J'ai ri, appris, grandi à tes côtés, et même si je ne suis pas devenue une violoncelliste virtuose, j'ai adoré chaque instant. Ma famille, quant à elle, a beaucoup apprécié ma progression en chant.

À ma dream team :

Mon Charles chéri, depuis ce J1 en pharma, cette amitié me porte.

Mes deux Vic, un strike cette rencontre. L'une est une Schumacher toujours dispo pour couvrir ses proches de belles attentions, l'autre est une Rodin, pour qui ami rime vraiment avec famille.

Charlotte, tu es brillante, et fascinante, merci de nous réunir depuis toujours. Hâte de rencontrer ta petite Schtroumpfette.

Sarah, une évidence, trois heures ensemble en plein confinement auront suffi pour entrer dans la vie l'une de l'autre pour toujours. Tu as commencé en tant qu'amie de l'internat, tu es devenue une amie pour la vie. Merci d'avoir fait entrer le B dans ma vie, vous êtes le S.

Lucie avec toi je pleure de rire, j'oublie le reste du monde.

Romane, le collège, lycée, la P1 ensemble, puis on s'est séparé physiquement mais on n'a jamais cessé de tout se raconter, j'ai une confiance absolue que tu cherches toujours mon bonheur.

Mariounette, ma duchesse, que de beaux moments passés toutes les deux. Nous savons tout l'une de l'autre. J'ai hâte de rencontrer le nouveau membre du clan Rotondo-Pouget !

Ma Didouche tu es mon alter ego, je t'aime comme une autre sœur, ta fragilité me touche, ton humour me cloue au sol, ta force m'impressionne. T'avoir dans ma vie est un cadeau.

Vous êtes tous des pièces de mon puzzle géant du bonheur.

Merci.

Leila

Table des matières

REMERCIEMENTS	10
ABREVIATIONS.....	18
I. Introduction.....	19
A. Hématopoïèse normale	19
B. Les syndromes myéloprolifératifs.....	22
C. Les syndromes myéloprolifératifs : Aspects cliniques et biologiques.....	24
1. Généralités	24
2. Pronostic et évolution des SMP.....	38
3. Principes de traitements.....	45
D. Profil mutationnel des syndromes myéloprolifératifs.....	47
1. Mutations promotrices.....	48
2. Mutations additionnelles.....	55
3. SMP triple négatif	63
E. SH2B3	63
1. Gène	64
2. Mutations du gène <i>SH2B3</i>	69
3. Implication en oncologie	75
4. Prédispositions aux hémopathies malignes	77
II. Objectifs et rationnel du projet	78
III. Matériel et méthodes	79
A. Patients.....	79
B. Examens biologiques	81
C. Analyses des variants.....	82
IV. Résultats	85
A. Nombre de Variations et Fréquence par Rapport à Tous les NGS Analysés.....	85
B. Description de la Cohorte de Patients.....	86
1. Phénotype	86
2. Clinique	86
3. Données Biologiques	87
C. Localisation sur la Protéine	89
D. Description des Mutations	90
1. Type de mutation :	90
2. Redondance :	91
3. Caractère somatique ou constitutionnel :	91
E. Interprétation selon les normes et lignes directrices pour l'interprétation des variants de séquence dans le cancer selon l'AMP/ASCO/CAP.....	91
1. Tier I/II - (cf. Tableau 12) :	92
2. Tier III - signification indéterminée (cf. Tableau 13) :	94
F. Association des variations de <i>SH2B3</i> à d'autres mutations.....	96

1.	<i>SH2B3</i> associée à une mutation promotrice des SMP non LMC (cf. Tableau 11).....	96
2.	<i>SH2B3</i> associée à d'autres mutations.....	98
3.	<i>SH2B3</i> isolée	99
G.	Impact des variants de <i>SH2B3</i> sur le phénotype clinico-biologique	100
V.	<i>Discussion</i>.....	111
A.	Coexistence de mutations constitutionnelles et somatiques	111
1.	Discussion des profils de patients.....	111
2.	Hypothèse physiopathologique.....	111
B.	Association fréquente d'autres mutations	112
1.	<i>SH2B3</i> associée un mutation promotrice :	112
2.	<i>SH2B3</i> associée à d'autres mutations :.....	112
3.	<i>SH2B3</i> isolée	113
C.	Impact des variants de <i>SH2B3</i> sur les syndromes myéloprolifératifs : comparaison avec la littérature.....	114
D.	Cas d'interprétation difficile.....	115
1.	Compléter par la BOM	115
2.	Études familiales.....	115
3.	Constitution d'une banque nationale et participation aux RCP du FIM	116
E.	Proposition d'un arbre décisionnel de prise en charge.....	116
F.	Limites de l'étude	117
VI.	<i>Conclusion</i>	118
VII.	<i>Bibliographie</i>	121
VIII.	<i>ANNEXES</i>.....	133

INDEX DES TABLEAUX

Tableau 1 - Critères diagnostiques de la maladie de Vaquez selon l'OMS 2022	26
Tableau 2 - Critères diagnostiques de la thrombocythémie essentielle selon l'OMS 2016	29
Tableau 3 - Critères diagnostiques de la myélofibrose primitive selon OMS 2016 ^{16,35}	31
Tableau 4 - Critères diagnostiques de la myélofibrose préfibrotiques selon l'OMS 2016 ^{16,35}	34
Tableau 5 - Scores pronostiques dans la myélofibrose (hors scores avec mutations additionnelles).....	38
Tableau 6 - Nouveau score pronostique dans la myélofibrose primitive intégrant des données génétiques	41
Tableau 7 – Critères diagnostiques de l'IWG-MRT pour le diagnostic de myélofibrose post PV et post TE ⁵¹	43
Tableau 8 - Mutations somatiques dans les SMP BCR::ABL1 négatif d'après Tefferi et al. 2021, et D. Lupaz 2021 ^{167,168}	58
Tableau 9 - Résumé des mutations retrouvés dans la littérature de SH2B3/LNK	71
Tableau 10 - Classification des variants selon leur pathogénicité suspectée selon l'AMP/ASCO/CAP	83
Tableau 11 - Profil des patients mutés SH2B3 avec mutation d'un gène driver	102
Tableau 12 - Patients avec des mutations classées en Tier I/II.....	104
Tableau 13 - Patients avec des variations de signification indéterminée : Tier III.....	109

TABLE DES ANNEXES

ANNEXE 1 - Panel Twist et séquençage sur NovaSeq (Illumina)	134
ANNEXE 2 : Tableau des profils génétiques classé selon le profil mutationnel (variation de SH2B3 avec gène driver en vert, avec autres mutations en orange, isolée en bleu)	135
ANNEXE 3 - AVIS D'INTERPRETATION DE VARIANTS GENETIQUES ATYPIQUES (questionnaire du FIM)	138

ABREVIATIONS

AMM : Autorisation de mise sur le marché
ASCO : American Society of Clinical Oncology
BFU-E : Progéniteur érythroïde burst forming Unit
BOM : Biopsie ostéo-médullaire
CFU-E : Progéniteur érythroïde colony forming Unit.
C-ter : Extrémité carboxy-terminale
DD : Domaine de dimérisation
EPO : Erythropoïétine
FIM : France Inter groupe des syndromes Myéloprolifératifs
GEBOM : Groupe d'Étude des Biopsies Ostéo-Médullaires
GMP : Progéniteur granulo-monocytaire
JAK : Janus Kinases
LAM : Leucémie aiguë myéloïde
LMC : Leucémie myéloïde chronique
LMMC : Leucémie myélomonocytaire chronique
LMMJ : Leucémie myélomonocytaire juvénile
LT-HSC : Cellule souche hématopoïétique à long terme
MEP : Progéniteur érythro-mégacaryocytaire
MFP : Myélofibrose primitive
NFS : Numération formule sanguine
NGS : Séquençage de nouvelle génération
NMP : Néoplasmes myéloprolifératifs
Nter : Extrémité amino
OMS : Organisation mondiale de la santé
PH : Domaine d'homologie à la Pleckstrine
Ph- : Négatif pour le chromosome Philadelphie
préMFP : Myélofibrose préfibrotique
PV : Polyglobulie de Vaquez
RTK : Récepteurs membranaires à activité tyrosine kinase
SCF : Stem Cell Factor
SH2 : Domaine d'homologie à Src 2
SMD : Syndromes myélodysplasiques
SMP : Syndrome myéloprolifératif
SNP: Polymorphisme
SOCS: Suppressor Of Cytokines Signaling
STAT : Signal Transducers and Activators of Transcription
TE : Thrombocythémie essentielle
TPO : Thrombopoïétine

I. Introduction

A. Hématopoïèse normale

L'hématopoïèse est le mécanisme assurant la production constante et régulière des différentes cellules sanguines matures à partir de cellules souches. Les cellules souches se caractérisent par certaines capacités : l'auto-renouvellement¹, la quiescence, la migration, la différenciation. En temps normal, elles ont la capacité de restaurer entièrement la moelle osseuse après une agression. Ces différentes caractéristiques sont sous le contrôle de facteurs intra- et extra-cellulaires. Lorsqu'elle sort de son état de quiescence, la cellule souche se divise en donnant des cellules identiques (principe d'auto-renouvellement) ou des cellules s'engageant dans la différenciation cellulaire (progéniteurs multipotents² qui donneront des progéniteurs plus spécialisés). La régulation de l'hématopoïèse par le micro-environnement médullaire est un processus complexe et essentiel, impliquant plusieurs mécanismes interconnectés avec les cellules souches qui permettent une signalisation bidirectionnelle par le biais de facteurs de transcription intrinsèques, de chimiokines, de facteurs de croissance et de phénomènes épigénétiques.

Cette régulation s'opère via des interactions avec différentes cellules présentes dans la moelle osseuse, telles que les fibroblastes, les macrophages, les adipocytes et les myofibroblastes. Ces interactions cellulaires sont primordiales pour orchestrer les signaux nécessaires à la différenciation et à la maturation des cellules souches hématopoïétiques.³

En parallèle, le micro-environnement médullaire influence également l'hématopoïèse à travers des interactions avec la matrice extracellulaire, composée de protéines telles que la fibronectine, les laminines et les collagènes. Cette matrice fournit un support structural et biochimique nécessaire à la régulation de la prolifération et de la différenciation des cellules souches hématopoïétiques.⁴

De plus, les cytokines et les facteurs de croissance hématopoïétiques ont un rôle crucial dans la régulation de l'hématopoïèse en agissant comme des médiateurs des interactions entre les cellules souches et leur microenvironnement. Certaines cytokines, telles que le SCF (*stem-cell factor*)¹, le FLT3-L, le G-CSF (*granulocyte-colony stimulating factor*), le M-CSF (*macrophage-colony stimulating factor*) et l'EPO (*érythropoïétine*)⁵, TPO (*thrombopoïétine*)⁶ jouent un rôle essentiel en activant l'hématopoïèse et en stimulant la production de cellules

matures. Leur action peut être synergique, agissant sur plusieurs lignées cellulaires, ou spécifique à une seule, régulant ainsi différents processus de différenciation hématopoïétique. En revanche, certaines cytokines, comme le TNF α ou les interférons (INF)⁷, agissent comme des facteurs inhibiteurs, limitant la prolifération des cellules souches et la production de cellules matures.

En somme, la régulation de l'hématopoïèse est un processus sophistiqué impliquant une coordination précise entre les interactions cellulaires, la matrice extracellulaire, les cytokines et les voies de signalisation moléculaires.⁸

Le siège de l'hématopoïèse varie au cours de la vie. Elle démarre au niveau du tissu conjonctif embryonnaire chez le fœtus jusqu'au 2^{ème} mois, puis s'installe dans la rate et dans le foie fœtal de 2 à 6 mois. C'est au cours du 4^{ème} mois qu'elle débute dans la moelle osseuse (période coïncidant avec l'ébauche des os). A partir de la naissance, l'hématopoïèse normale est localisée quasi exclusivement au niveau médullaire^{9,10,2}.

La différenciation cellulaire est un processus clé au cours de l'hématopoïèse, où les progéniteurs cellulaires se spécialisent progressivement en différentes lignées cellulaires.²

Les trois voies majeures sont : l'érythropoïèse, la leucopoïèse et la mégacaryopoïèse appelé aussi thrombopoïèse.

- *Érythropoïèse* : processus conduisant à la formation des globules rouges ou érythrocytes, qui sont chargés de transporter l'oxygène dans tout le corps. Les érythrocytes matures sont caractérisés par l'absence de noyau et une forme biconcave qui favorise leur flexibilité lors de la circulation dans les vaisseaux sanguins.^{11,5}
- *Leucopoïèse* : phénomène englobant la formation des globules blancs ou leucocytes, qui sont des acteurs clés du système immunitaire. Les leucocytes se divisent en deux grandes lignées : myéloïde¹² et lymphoïde¹³, chacun jouant un rôle spécifique dans la réponse immunitaire.¹¹
- *Thrombopoïèse* : processus induisant la formation des plaquettes ou thrombocytes, qui sont essentielles à la coagulation sanguine. Les plaquettes sont des fragments cellulaires issus de la maturation des mégacaryocytes.¹¹

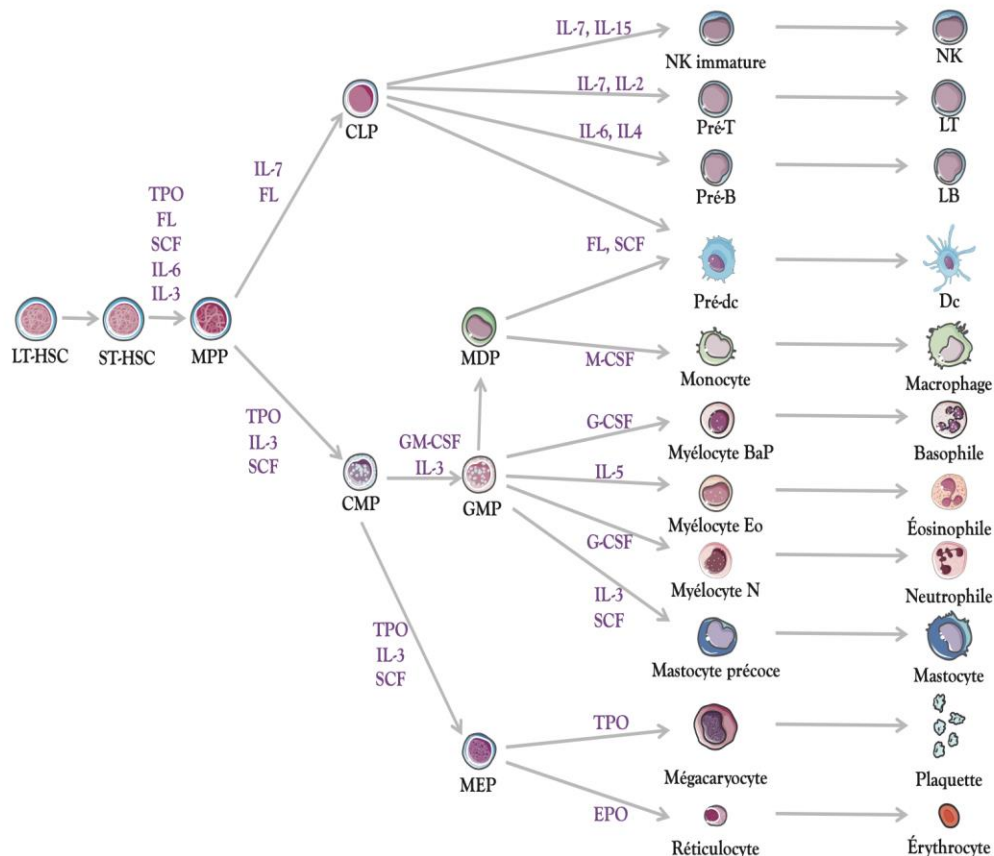


Figure 1 - Régulation de l'hématopoïèse définitive par les cytokines chez l'homme ^{11,14}

Les cellules souches hématopoïétiques à long-terme (LT-HSC) se divisent en cellules souches hématopoïétiques à court-terme (SH-HSC) qui forment des progéniteurs multipotents (MPP). Par la suite, les MPP donnent des progéniteurs lymphoïdes communs ¹³(CLP) qui se différencient en précurseurs lymphocytes B (pré-B), T (pré-T) et en « Natural killer » (NK) immatures. D'autre part, les MPP se différencient en progéniteurs myéloïdes communs ¹²(CMP) afin de produire des progéniteurs mégacaryocyte-érythrocytaires (MEP) et des progéniteurs monocyte-granulocytaires (GMP). Les MEP se différencient d'une part en mégacaryocytes puis plaquettes et d'autre part en réticulocytes puis érythrocytes. Les GMP se différencient en mastocytes, en myélocytes neutrophiles (N), éosinophiles (Eo) et basophiles (BaP) et en progéniteurs macrophage-dendritique (MDP). Les MDP se différencient en précurseurs dendritiques (pré-DC) et monocyte qui formeront des cellules dendritiques et des macrophages. D'après la banque d'images Servier Medical Art et le livre « Hematopoiesis – Science and Practice », chapitre « Mechanisms controlling hematopoiesis. ». SCF: Stem Cell Factor; TPO: Thrombopoïétine; FL: FLT3 ligand ; IL : Interleukine ; GM-CSF : Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor ; M-CSF : Macrophage Colony Stimulating Factor ; G-CSF : Granulocyte Colony Stimulating Factor ; EPO : Erythropoïétine. D'après la banque d'images Servier Medical Art et le livre « Hematopoiesis – Science and Practice », chapitre « Mechanisms controlling hematopoiesis » Issu de la these: Implication physiopathologique de l'adaptateur LNK: mécanismes d'action et perspectives thérapeutiques dans les Néoplasmes Myéloprolifératifs de A. Jungalee

La durée de vie et la quantité de cellules sanguines circulantes varient considérablement en fonction de leur type. Les globules rouges, par exemple, ont une durée de vie d'environ 120 jours. Avec une circulation moyenne de 2 000 milliards d'érythrocytes, cela implique une production quotidienne d'environ 200 milliards de globules rouges ¹⁵. Les polynucléaires neutrophiles (PNN) ont une demi-vie de seulement 6 heures, générant ainsi une production quotidienne d'environ 40 milliards. Les monocytes/macrophages, ainsi que les lymphocytes, ont une survie qui s'étend sur quelques mois à quelques années. Enfin, les plaquettes ont

une demi-vie d'environ 1 semaine, avec une production quotidienne de 200 milliards, bien que seulement 100 milliards soient en circulation à un moment donné, indiquant ainsi une consommation continue au cours de la journée. Cette diversité dans les durées de vie et les taux de production témoigne de la complexité du système hématologique, où chaque type cellulaire contribue de manière dynamique au maintien de l'équilibre et de la fonctionnalité du sang dans l'organisme.

Des dérégulations de l'hématopoïèse engendrent différentes hémopathies.

B. Les syndromes myéloprolifératifs

En France, les hémopathies malignes représentent 12% des cancers, soit 45 000 nouveaux cas par an. Environ deux tiers touchent la lignée lymphoïde et un tiers la lignée myéloïde. Les néoplasies de la lignée myéloïde sont classées en différents sous-groupes dont une entité est celle des syndromes myéloprolifératifs (cf. Figure 2).¹⁶

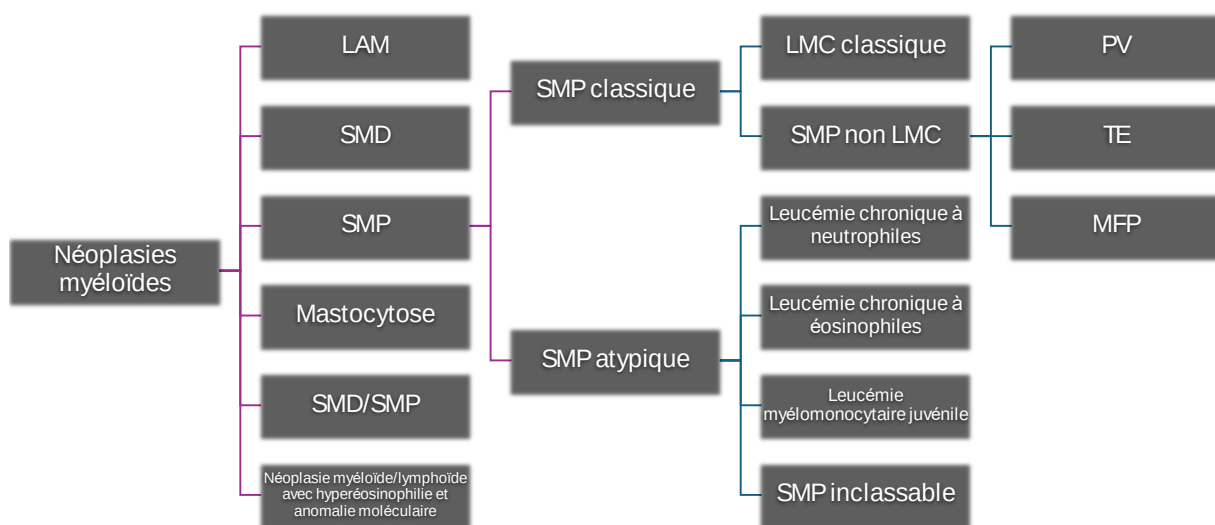


Figure 2 – Classification OMS 2022 des néoplasies myéloïdes – LAM : Leucémie aiguë, SMD : Syndrome myélodysplasique, SMP : Syndrome myéloprolifératif, LMC : Leucémie myéloïde chronique, PV : Polyglobulie de Vaquez, TE : Thrombocytemie essentielle, MFP : Myélofibrose primitive

Les syndromes myéloprolifératifs sont des hémopathies malignes myéloïdes liées à une anomalie clonale de la cellule souche hématopoïétique, dues à une ou plusieurs mutations dont la mutation promotrice est majoritairement identifiée chez les patients. Ils se caractérisent par une croissance excessive et anormale des cellules myéloïdes matures.

Les syndromes myéloprolifératifs majeurs trouvent leurs premières descriptions dans la seconde moitié du XIXe siècle. Parmi ces maladies figurent la leucémie myéloïde chronique (LMC), la myélofibrose primitive (MFP) aussi connue sous le nom de splénomégalie myéloïde, ainsi que la polyglobulie de Vaquez (PV). Ce n'est que plus tard, dans la première moitié du XXe siècle, que la thrombocythémie essentielle (TE) a été identifiée, et que le concept global de syndromes myéloprolifératifs (SMP) a été formalisé par William Dameshek¹⁷. Depuis, d'autres pathologies ont été décrites et sont classées dans les SMP selon l'OMS 2022 mais sont plus rares : la leucémie chronique à neutrophiles, la leucémie chronique à éosinophiles, la leucémie myélomonocytaire juvénile et les SMP inclassables.

La LMC est caractérisée par une anomalie génétique appelée translocation réciproque entre les chromosomes 9 et 22 (formant le chromosome Philadelphie)¹⁸ qui conduit à la fusion des gènes *BCR* (breakpoint cluster region) et *ABL1* (Abelson), formant un nouveau gène de fusion appelé *BCR::ABL1*¹⁹. Cette fusion génétique produit une protéine anormale à activité tyrosine kinase constitutive, ce qui stimule la croissance cellulaire non régulée.

Les autres syndromes myéloprolifératifs plus hétérogènes sont souvent catégorisés par la notion de SMP non LMC ou encore SMP Philadelphie négatif (Ph-). Selon la pathologie, cette croissance excessive peut prédominer dans une lignée cellulaire particulière : érythroblastique dans le cas de la polyglobulie de Vaquez et mégacaryocytaire dans celui de la thrombocythémie essentielle. La myélofibrose, quant à elle, est une maladie plus complexe qui associe une prolifération cellulaire à une fibrose de la moelle osseuse.

Cette prolifération cellulaire résulte d'une indépendance vis-à-vis des facteurs de croissance hématopoïétiques, qui peut être mise en évidence par la culture *in vitro* des progéniteurs hématopoïétiques, développée dans les années 1970²⁰. En 2005, la découverte de la mutation de *JAK2* V617F²¹ a considérablement enrichi notre compréhension de la physiopathologie des syndromes myéloprolifératifs et a modifié leur diagnostic. Les mutations de *MPL* en 2006^{22,23,24}, puis de *CALR* en 2013²⁵, offrent actuellement un marqueur moléculaire dans environ 90 % des cas de SMP Ph-. Ces mutations, qualifiées de promotrices ou encore driver, entraînent une activation constitutive de la signalisation *JAK2-STAT5*, conférant ainsi une autonomie au clone malin vis-à-vis des facteurs de croissance. En absence de mutations promotrices, il est important de distinguer l'origine primitive de la prolifération cellulaire afin d'exclure des causes dites réactionnelles.

C. Les syndromes myéloprolifératifs : Aspects cliniques et biologiques

1. Généralités

a) *Polyglobulie de Vaquez*

La polyglobulie de Vaquez (PV) est un SMP acquis caractérisé par une élévation de la masse absolue des globules rouges due à une production non contrôlée, souvent associée à une hyperproduction de leucocytes et des plaquettes. Selon le rapport de 2019 de Santé Publique France, les taux d'incidence standardisés monde (TSM) sont respectivement de 1,0 et 0,6 pour 100 000 personnes-années pour les hommes et les femmes (rapport hommes/femmes égal à 1,7). La prévalence de la maladie rapportée est très hétérogène, reflétant probablement une grande inégalité de dépistage en fonction des régions du monde, variant de 0,5 à 47 cas pour 100 000 habitants²⁶. L'âge médian des PV au diagnostic est de 68 ans chez l'homme et de 72 ans chez la femme.²⁷

Le diagnostic peut être fortuit au décours d'un hémogramme, ou à la suite de signes cliniques²⁸ révélateurs tels que des signes d'hyperviscosité sanguine : céphalées, étourdissements, vertiges, acouphènes, troubles visuels, hypertension artérielle, thromboses artérielles ou veineuses. Les thromboses peuvent concerner les membres inférieurs, provoquer des embolies pulmonaires ou des accidents vasculaires cérébraux. Elles peuvent également se localiser dans des sites plus inhabituels (thrombose splénique, hépatique et mésentérique). Un cas particulier est le syndrome de Budd-Chiari, qui se manifeste par une thrombose des veines sus-hépatiques et/ou de la veine cave inférieure.

Un autre signe possible est le prurit aquagénique^{29,30}, qui est évocateur mais non spécifique. On peut aussi observer une altération de l'état général et un amaigrissement. La splénomégalie est présente dans 70% des cas. L'érythrose cutanée, affectant le visage, les paumes, le lit des ongles, les muqueuses et les conjonctives, apparaît dans 80-85% des cas et peut s'accompagner de crises érythromélgiques. Enfin, des saignements, notamment gingivaux, des ecchymoses et des hémorragies digestives, peuvent également survenir.

A un stade en général avancé de la maladie, une myélofibrose et/ou une leucémie aiguë (LA) ou un syndrome myélodysplasique peuvent apparaître.

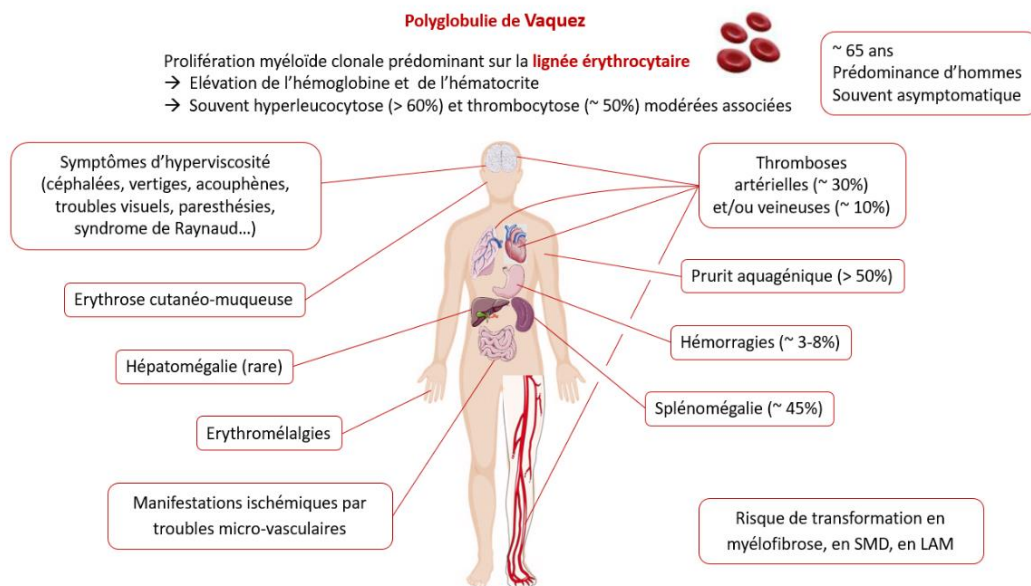


Figure 3- Résumé des manifestations cliniques, biologiques, et des complications de la polyglobulie de Vaquez. Schéma issu de la thèse de Fouquet G.³¹

Les critères diagnostiques de la maladie ont été redéfinis par l'OMS en 2008 à la suite de la découverte de la mutation *JAK2 V617F*^{21,32-34} en 2005 puis révisés en 2016¹⁶, et n'ont pas été modifiés par l'OMS 2022³⁵.

Tableau 1 - Critères diagnostiques de la maladie de Vaquez selon l'OMS 2022

CRITERE MAJEUR	1	Hb > 16,5g/dL (homme), Hb > 16g/dL (femme) Ou Hte > 49% (homme), Hte > 48% (femme) Ou une masse sanguine augmentée de plus de 25% par rapport à la valeur théorique normale (<i>retiré des critères en 2022</i>)
	2	BOM avec hypercellularité des trois lignées myéloïdes (panmyélose) et maturation mégacaryocytaire pléiomorphe
	3	Présence de la mutation JAK2V617F ou d'une mutation de l'exon 12 de JAK2 (<i>et selon l'ICC : recherche de mutations non canonique de JAK2</i>)
CRITERE MINEUR	1	Taux d'EPO subnormal dans le sérum
Le diagnostic de PV requiert les 3 critères majeurs ou les deux premiers critères majeurs avec le critère mineur		

Remarque : La biopsie ostéo-médullaire n'est pas requise en cas de polyglobulie avec hémoglobine > 18,5 g/dL chez homme (>16,5 g/dL chez la femme) ou hématocrite > 55% chez l'homme (> 49,5 chez la femme).

Le diagnostic passe par la réalisation de l'échographie à la recherche d'une splénomégalie infraclinique mais surtout de plusieurs examens biologiques :

- L'hémogramme de patients atteints de PV présente un hématocrite élevé (Hte > 49% chez l'homme, et Hte > 48% chez la femme), mais aussi fréquemment une hyperleucocytose modérée (souvent accompagnée d'une myélémie <10%), ainsi que d'une thrombocytose (plaquettes > 450G/L). Au frottis, les hématies sont normales et la présence de dacryocytes doit faire évoquer une transformation en myélofibrose secondaire.
- La biopsie ostéo-médullaire (BOM) a une place majeure dans le diagnostic, on observe une augmentation de la richesse du tissu hématopoïétique avec une hyperplasie des lignées érythroblastique et mégacaryocytaire. Il est parfois observé une augmentation de la fibrose réticulinique indiquant un risque plus élevé de transformation en LA³⁶. Le myélogramme n'a pas d'intérêt diagnostique, sauf en cas de suspicion d'acutisation.
- Le caryotype n'est réalisé que si un myélogramme a été prélevé, il ne doit pas retrouver de chromosome Philadelphie, et les anomalies augmentent avec l'évolution de la pathologie (20% des cas au diagnostic contre 80% des cas dans les MF-post PV). Les anomalies les plus fréquemment retrouvées sont la délétion 20q, la trisomie 8, la trisomie 9, la trisomie 1q, la délétion 13q, etc.³⁷

- Le dosage de l'EPO est soit normal soit abaissé chez les patients atteints de PV.³⁸
- La mesure de la masse globulaire (VG) par des hématies marquées au chrome 51 couplée à la masse isotopique du volume plasmatique (VP) par dilution d'albumine marquée à l'iode 125, est une technique fiable mais peu réalisée du fait de son coût. Il doit y avoir une augmentation de 25% de la masse sanguine par rapport à la valeur théorique de référence. Ce critère pour des raisons pratiques a donc été retiré des critères diagnostic par l'OMS en 2022.³⁵
- La culture des progéniteurs érythroïdes réalisée à partir de la moelle ou du sang périphérique peut être effectuée. En effet, on observe une pousse spontanée (en absence de facteur de croissance) des progéniteurs de la lignée des globules rouges. La découverte des mutations sur le gène *JAK2* a permis de limiter l'utilisation de cette technique. Elle n'est réalisée que dans certains laboratoires spécialisés (comme le CHU de Lille), elle a donc été retirée des critères mineurs mais garde une place qui doit être discutée dans des cas de PV difficiles à diagnostiquer tel que les patients porteurs de variants atypiques de *JAK2* ou dans le cas de polyglobulie dont la cause n'est pas identifiée, (par exemple certains patients porteurs mutés sur le gène *SH2B3* en absence de mutation promotrice définie).
- La recherche de la mutation *JAK2V617F*^{21,32,33,34} doit être effectuée ; si elle n'a pas été retrouvée, les mutations de l'exon 12 de *JAK2* puis de *MPL*^{22,23,24} et *CALR*²⁵ (dans des cas de diagnostics incertains) sont à rechercher. (Cf. I.D ci-dessous)

b) Thrombocythémie essentielle

La thrombocythémie essentielle est caractérisée par la prolifération cellulaire chronique non contrôlée sur la lignée mégacaryocytaire, avec des plaquettes > 450G/L ; cette anomalie du bilan sanguin est fréquemment rencontrée chez les patients, il est donc nécessaire d'avoir une démarche diagnostique claire. Selon le rapport de 2019 de santé publique France, le nombre de nouveaux cas de thrombocythémie essentielle (TE) est estimé à 2 057 cas incidents, 862 cas (42 %) chez l'homme et 1 195 cas chez la femme (58 %). Le taux d'incidence standardisé monde (TSM) est de 1,4 pour 100 000 personnes-années chez l'homme et de 1,5 chez la femme, soit un rapport hommes/femmes égal à 0,9. De même

que dans la PV, la prévalence est très hétérogène selon la région du monde variant de 11 à 43 pour 100 000 habitants.²⁶ L'âge médian des patients au diagnostic est de 69 ans chez l'homme et de 73 ans chez la femme, il existe cependant un pic de fréquence chez la femme vers 30 ans.^{27,39}

Comme pour la PV, le diagnostic est dans environ 50% des cas fortuit. Sinon il est généralement révélé par des complications thrombotiques artérielles ou veineuses^{40,41} mais aussi des signes hémorragiques^{41,39} ou des manifestations ischémiques par occlusion réversible de la microcirculation donnant lieu à des crises érythromélgiques, des manifestations neurologiques, oculaires ou coronariennes. La présence d'une splénomégalie est rare.

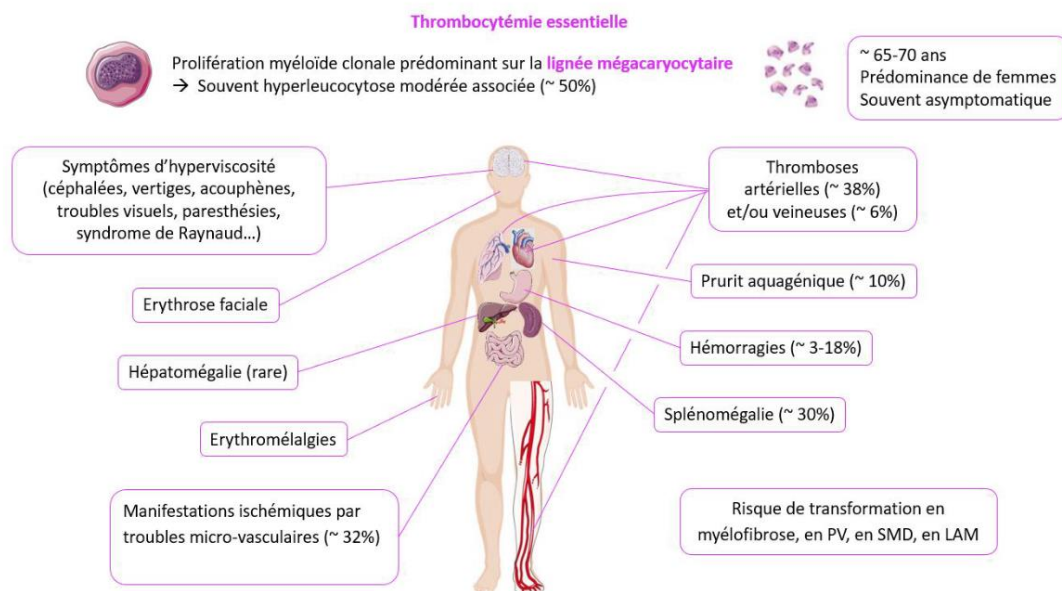


Figure 4 - Résumé des manifestations cliniques, biologiques, et des complications de la thrombocythémie essentielle. Schéma issu de la thèse de Fouquet G.³¹

Les critères diagnostiques ont été peu révisés par l'OMS en 2016.¹⁶ En plus de la mutation *JAK2*, les mutations *CALR* et *MPL* ont été ajoutées (Tableau 2).

Tableau 2 - Critères diagnostiques de la thrombocytémie essentielle selon l'OMS 2016

CRITERE MAJEUR	1	Plaquettes > 450G/L
	2	BOM avec prolifération mégacaryocytaire et augmentation du nombre de formes matures de grande taille au noyau hyperlobulé. Pas d'augmentation significative des autres lignées. Rarement densification minimale de la trame réticulinique (fibrose grade 1)
	3	Absence de critères OMS pour une LMC (<i>BCR::ABL1</i>), une PV, une MFP, un syndrome myélodysplasique ou une autre hémopathie myéloïde
	4	Présence d'une mutation de <i>JAK2</i> , <i>CALR</i> ou <i>MPL</i> , selon l'ICC (2022) : <i>recherche de mutation non canoniques de ces mêmes gènes</i>
CRITERE MINEUR	1	Présence d'un marqueur de clonalité ou absence d'étiologie pour une thrombocytose réactionnelle
Le diagnostic requiert les quatre critères majeurs ou les trois premiers et le critère mineur		

Le diagnostic repose donc sur un ensemble de critères biologiques nécessitant la réalisation d'analyses :

- L'hémogramme retrouve une hémoglobine généralement normale, avec parfois une tendance à l'anémie par carence martiale (due aux hémorragies), une numération leucocytaire normale, et une thrombose constante, plaquettes > 450G/L par définition, avec des plaquettes > 1000G/L dans 50% des cas au diagnostic, et la présence de macrothrombocytes au frottis sanguin.
- Le myélogramme permet un diagnostic d'exclusion (cf. d- Diagnostic différentiel) , ainsi que l'évaluation de la richesse médullaire normale ou légèrement augmentée, avec hyperplasie mégacaryocytaire, sans hyperplasie érythroïde (sauf en cas d'hémorragie récente) ou granulocytaire. Les mégacaryocytes sont de grandes tailles avec un cytoplasme mature et des noyaux hyperlobés en « bois de cerf », il est possible de voir des images d'empéripolèse⁴² qui sont non spécifiques de la maladie. Essentielle depuis 2008, la BOM est quant à elle davantage contributive et permet de distinguer une hyperplasie de la lignée mégacaryocytaire, les mégacaryocytes peuvent être dispersés ou en amas, ils sont polymorphes, matures et non dysplasiques. La BOM permet aussi l'évaluation du stade de fibrose de la moelle osseuse et d'exclure le diagnostic de MFP.⁴³
- Le caryotype est dans la plupart des cas normal. Les anomalies les plus souvent retrouvées sont peu spécifiques (anomalie des chromosomes 1, 5, 8, 9 et 20, caryotypes complexes) et sans valeur pronostique clairement établie dans la TE^{44,45}. Le caryotype peut permettre dans certains cas de mettre en évidence une anomalie clonale. De plus

l'absence de translocation entre les chromosomes 9 et 22 est nécessaire pour éliminer une forme « thrombocytemique » de la LMC.

- La culture de progéniteurs hématopoïétiques peut aussi compléter le bilan. Elle fait apparaître une croissance spontanée des progéniteurs érythroblastiques ou mégacaryocytaires pour environ 60 à 70% des TE contrairement aux thrombocytoses réactionnelles^{46,47}. Cependant, la croissance des BFU-E dans la TE est proche de celle dans la PV et ne permet pas le diagnostic différentiel^{48,49}.
- Comme dans la PV, la recherche des mutations *JAK2* V617F^{21,32,33,34}, *MPL*²³, et *CALR*²⁵ doit être effectuée. (Cf. partie C- Profil mutationnel des SMP)

c) Myélofibrose primitive

La myélofibrose primitive est une pathologie plus rare. En effet, selon le rapport de 2019 de Santé Publique France, le nombre de cas incidents de myélofibrose primitive (MFP) est estimé à 520 en 2018, dont 53% survenant chez l'homme. Le taux d'incidence standardisé monde est de 0,4 pour 100 000 personnes-années chez l'homme et de 0,3 chez la femme, soit un rapport hommes/femmes égal à 1,3. L'âge médian des patients au diagnostic est de 71 ans chez l'homme et de 72 ans chez la femme.^{27,26} Comme la PV et la TE, il s'agit d'un syndrome myéloprolifératif chronique non LMC, d'une plus grande complexité. En effet, la MFP associe une prolifération des lignées mégacaryocytaire et granulocytaire qui est liée aux stades fibrotiques à une augmentation polyclonale des fibroblastes responsables de la fibrose secondaire de la réticuline et/ou du collagène, de l'ostéosclérose et de ce fait de l'hématopoïèse extramédullaire.³⁵

La découverte de la pathologie se fait dans 1/3 des cas de manière fortuite (stade préfibrotique, anomalie isolée sur l'hémogramme de routine, splénomégalie détectée lors d'un examen clinique), mais parfois des signes cliniques évocateurs sont déjà présents : symptômes d'anémie (asthénie, dyspnée), des épisodes hémorragiques, des signes généraux (perte de poids, sueur nocturne, fièvre) ou une organomégalie sur les sites de l'hématopoïèse extramédullaire : la splénomégalie (>95% des cas) et l'hépatomégalie (50% des cas).

A des stades précoces, il est possible de retrouver une phase proliférative avec un hémogramme comportant une hyperleucocytose associée à une myélémie voire une blastose circulante et une thrombocytose. Les cytopénies sont la conséquence du développement de la fibrose médullaire. L'hématopoïèse extra-médullaire est responsable de la splénomégalie.⁵⁰ On distingue la myélofibrose primitive des myélofibroses secondaires, notamment post-PV et post-TE.⁵¹ Il n'existe pas de différence au niveau anatomo-pathologique entre les MFP et les myélofibroses post-TE ou post-PV et la prise en charge actuelle est identique mais le pronostic n'est pas semblable. La myélofibrose peut se compliquer de manifestations liées à l'insuffisance médullaire (hémorragies, infections), de manifestations thrombotiques (plus rares que dans la PV et la TE), ou d'hypertension portale. La MFP évolue en LAM dans 10 à 30% des cas avec un pronostic très défavorable.

La myélofibrose est classée en quatre stades selon le consensus européen⁴³ :

- MF0 : les fibres de réticuline linéaire dispersée sans intersection (moelle osseuse normale)
- MF1 : Réseau lâche de réticuline avec de nombreuses intersections, en particulier dans les zones périvasculaires
- MF2 : Augmentation diffuse et dense de la réticuline avec des intersections étendues, parfois avec seulement des faisceaux focaux de collagène et/ou ostéosclérose focale
- MF3 : Augmentation diffuse et dense de la réticuline avec des intersections étendues avec des faisceaux grossiers de collagène, souvent associées à une ostéosclérose importante

Dans la révision de la classification OMS de 2016 des néoplasies myéloprolifératives, le grade MF1 fait partie des myélofibroses préfibrotiques alors que la myélofibrose primitive dite avérée correspond uniquement aux cas de myélofibrose avec un grade de fibrose histologique MF2 ou MF3.^{52,16}

Au niveau moléculaire, les mutations de *CALR* retrouvées dans environ un tiers des cas, ont été ajoutées comme critère diagnostique majeur. En l'absence de mutation promotrice (*JAK2V617F*, *MPLW515K/L* ou *CALR* expn 9), soit environ 7% des cas, un marqueur de clonalité peut être mis en évidence.

Tableau 3 - Critères diagnostiques de la myélofibrose primitive selon OMS 2016^{16,35}

Critères Majeurs

Biopsie ostéo-médullaire avec prolifération et atypies mégacaryocytaires, accompagnée d'une fibrose réticulinique ou collagénique (grade 2 ou 3)
Absence de critères OMS pour une LMC (<i>BCR::ABL1</i>), une PV, une MFP, un syndrome myélodysplasique ou une autre hémopathie myéloïde
Présence d'une mutation de <i>JAK2</i> , <i>CALR</i> ou <i>MPL</i> Ou présence d'un marqueur de clonalité (par exemple mutation de <i>ASXL1</i> , <i>TET2</i> , <i>EZH2</i> , <i>IDH1/2</i> , <i>SRSF2</i> , <i>SF3B1</i>) Ou absence de cause réactionnelle fibrose médullaire *
Critères Mineurs
Anémie non liée à une comorbidité
Hyperleucocytose ≥ 11 G/L
Splénomégalie palpable
Augmentation des LDH (seuil variant selon le laboratoire)
Présence d'érythroblastes sanguins
Le diagnostic requiert les trois critères majeurs et au moins un critère mineur

* : fibrose due à infection, maladie auto-immune, hémopathie lymphoïde, métastases médullaires, cause toxique.

Le diagnostic nécessite dont un certain nombre d'analyses biologiques :

- L'hémogramme des patients présente à un stade préfibrotique une thrombocytose isolée. Tandis qu'au stade fibrotique est retrouvé une anémie normochrome, normocytaire et arégénérative, une hyperleucocytose modérée (10-30 G/L), une érythromyélie⁵³ témoignant de l'hématopoïèse extramédullaire, le taux de plaquettes est très variable (une thrombocytose ou une thrombopénie plus fréquemment retrouvé à des stades plus avancés dû à la fibrose de la MO), avec la présence fréquente de micromégacaryocytes, une blastose circulante est possible. Sur le frottis sanguin, une anisopoïkylocytose avec des dacryocytes est retrouvé.⁵⁴
- Le myélogramme est souvent peu contributif voire impossible à prélever à cause de la dureté de l'os et de la fibrose. La BOM, quant à elle, est indispensable au diagnostic. La moelle est dans un premier temps hyperplasique (au stade préfibrotique) avec une prédominance de la lignée mégacaryocytaire. Les mégacaryocytes sont dystrophiques, avec des mélanges de petits et grands mégacaryocytes regroupés en amas, denses, avec un rapport N/C anormal, un noyau hyperchromatique d'aspect « nuageux » ou aux

contours irrégulièrement folié. La myélofibrose réticulinique et/ou du collagène évolue en même temps que la moelle s'appauvrit. Le nombre et la taille des sinusoides avec des foyers d'hématopoïèse intravasculaire augmentent. A des stades plus avancés l'ostéomyélosclérose colonise la MO.⁵⁵

- Le caryotype est rarement possible sur le MO car le myélogramme est impossible à prélever. Il est donc réalisé sur sang. L'absence de chromosome Philadelphie est nécessaire pour éliminer la LMC. Les anomalies sont retrouvés dans 30% des cas au diagnostic : avec des del(20q), des trisomies 1q, des trisomie 8, des trisomies 9, des del(13q), del(5q), del(7q), des translocations t(1;6)(q21-23;p21.3), etc... aucune de ces anomalies ne sont spécifiques.
- Les LDH sont augmentées.⁵⁶
- Les cellules CD34+ circulantes sont augmentées (détectées par une technique de cytométrie en flux), qui sont un signe indirect de la myélofibrose et donc d'une hématopoïèse extramédullaire. La quantification de cellules CD34+ dans les MFP est équivalente à celle dans les MF post-PV et post-TE.⁵⁷
- L'histologie splénique après splénectomie retrouve une métaplasie myéloïde avec de nombreux mégacaryocytes, en particulier dans les sinusoides spléniques.^{50,58}
- Comme dans la PV et dans la TE, le diagnostic nécessite la recherche en biologie moléculaire des mutations *JAK2* V617F^{21,32,34,33} (avec une charge mutationnelle souvent élevée), *CALR* et *MPL*^{22,23,24}. La recherche de mutations additionnelles est nécessaire car ils peuvent avoir un intérêt en pronostic.

d) Myélofibrose préfibrotique ou myélofibrose précoce

En 2016 l'OMS reclasse les prémyélofibroses sous le terme de myélofibroses préfibrotiques, avec des critères histologiques mais aussi clinico-biologique (Tableau 4)¹⁶. La prémyélofibrose a été décrite dès 1999⁵⁹, il s'agit d'une entité intermédiaire entre la thrombocytémie essentielle et la myélofibrose, décrite initialement au niveau histologique. Les études sont en faveur d'une évolution plus majoritaire vers la myélofibrose « vraie » que dans les TE et semble avoir un pronostic plus défavorable.^{56,60,61} En revanche les patients atteints dans un premier temps de prémyélofibrose semble avoir un meilleur pronostic que ceux atteints de MFP d'emblée. Les critères diagnostiques de la myélofibrose préfibrotique

(préMFP) reprennent les critères de la myélofibrose primitive avérée (MFP) hormis l’histologie médullaire qui les différencie et le critère mineur des érythroblastes sanguins qui a été supprimé.

Tableau 4 - Critères diagnostiques de la myélofibrose préfibrotiques selon l’OMS 2016^{16,35}

Critères Majeurs
Biopsie ostéo-médullaire avec prolifération et atypies mégacaryocytaires, sans fibrose dépassant le grade 1, avec augmentation de la richesse, une prolifération granuleuse et souvent une diminution de l’érythropoïèse.
Absence de critères OMS pour une LMC (<i>BCR::ABL1</i>), une PV, une MFP, un syndrome myélodysplasique ou une autre hémopathie myéloïde
Présence d’une mutation de <i>JAK2</i> , <i>CALR</i> ou <i>MPL</i>
Ou présence d’un marqueur de clonalité (par exemple mutation de <i>ASXL1</i> , <i>TET2</i> , <i>EZH2</i> , <i>IDH1/2</i> , <i>SRSF2</i> , <i>SF3B1</i>)
Ou absence de cause réactionnelle fibrose médullaire *
Critères Mineurs
Anémie non liée à une comorbidité
Hyperleucocytose ≥ 11 G/L
Splénomégalie palpable
Augmentation des LDH (seuil variant selon le laboratoire)
Le diagnostic requiert les trois critères majeurs et au moins un critère mineur

e) Diagnostic différentiel

En absence des mutations *JAK2*V617F ou *JAK2* exon 12, *CALR* et *MPL*, il est important d’éliminer les différents diagnostics différentiels afin d’affirmer le diagnostic de SMP.

Sur l’hémogramme, il est possible de notifier des augmentations de l’hémoglobine et de l’hématocrite dans d’autres contexte que la PV :

- Les polyglobulies par hémococoncentration (ou fausses polyglobulies) sont retrouvées dans deux situations : d’une part les cas de déshydratation (chez les grands brûlés ou dans des cas de surdosage aux diurétiques, par exemple) ou d’autre part dans des cas de « syndrome de Gaisbock » encore appelé « polyglobulie de stress ». Cela

s'explique par diminution du volume plasmatique avec une augmentation modérée de l'hémoglobine.

- Les pseudo-polyglobulies microcytaires sont des cas de polyglobulie sans élévation du taux d'hémoglobine : c'est le cas des syndromes thalassémiques hétérozygotes (étude de l'Hb et dosage de l'HbA2 permet d'exclure ce diagnostic).

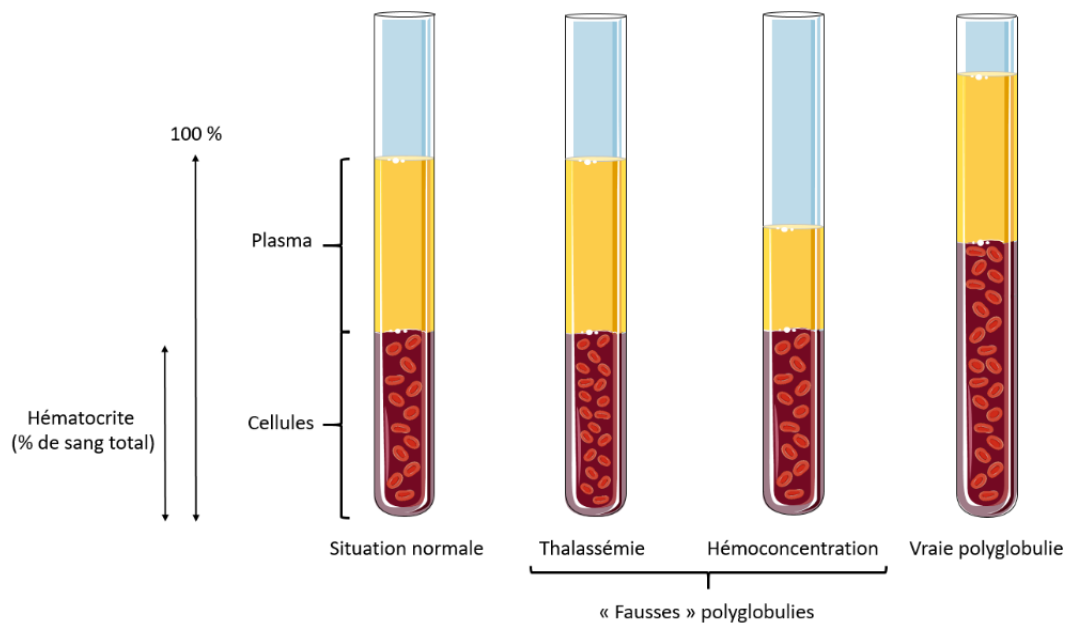


Figure 5 -Modifications de l'hématocrite lors de vraies ou "fausses" polyglobulies. Schéma issu de la thèse de Fouquet G.³¹

- Les polyglobulies secondaires compensatrices doivent être exclues par mesure de l'EPO. L'élévation du taux d'EPO secondaire à une hypoxie ou hypoxémie (étude de la pO_2 et/ou de la SaO_2 artérielle (altitude, hypoventilation chronique chez les BPCO par exemple, hémoglobinopathie avec augmentation de l'affinité de l'Hb pour l' O_2 , enzymopathie érythrocytaire par déficit en 2-3 DPG...) induit une fausse polyglobulie.
- Les polyglobulies secondaires liées à une sécrétion inappropriée d'EPO sont retrouvées dans des cancers rénaux, des cancers hépatiques, des syndromes de Budd-Chiari, des hémangioblastomes du cervelet, des fibromyomes utérins, et des endocrinopathies diverses...
- Des cas d'érythrocytose pure sont exceptionnellement décrits, c'est un diagnostic d'élimination de patients mutés sur le récepteur à l'EPO (EPOR) dans la majorité des cas. L'érythrocytose congénitale représente une entité clinique rare et hétérogène au

sein des érythrocytoses pures. La seule forme moléculairement caractérisée d'érythrocytose primaire congénitale est la polyglobulie primaire familiale et congénitale autosomique dominante. Elle est causée par des mutations de gain de fonction dans le gène *EPOR* (diagnostiquée dans seulement 30% des érythrocytoses familiales avec de faibles taux sériques d'EPO) avec des affinités normales pour l'oxygène de l'hémoglobine, pas de splénomégalie.^{62,63} En 2016, la polyglobulie primaire familiale et congénitale (PFCP pour *Primary Familial and Congenital Polycythemia*) touchaient 116 personnes, provenant de 24 familles. Si un variant pathogène de EPOR est identifié chez un membre de la famille affecté, des tests prénataux pour une grossesse à risque accru et des tests génétiques préimplantatoires pour PFCP sont possibles ; cependant les résultats des tests de génétique moléculaire ne peuvent pas prédire l'apparition ou la gravité de la maladie.⁶⁴

Dans la majorité des cas la mutation causale n'est pas connue, ces pathologies sont dites idiopathiques. Environ 160 anomalies ont été recensées à ce jour dont des mutations de gènes tels que : *SH2B3*, *JAK2*, *VHL*, *EGLN1*...⁶⁵⁻⁶⁷ Les mutations de *SH2B3* dans les cas d'érythrocytoses idiopathiques seront discutées par la suite.

De la même manière la thrombocytose n'est pas pathognomonique de la TE. On peut retrouver des plaquettes > 450G/L dans diverses circonstances, la réalisation du frottis sanguin peut s'avérer nécessaire afin d'éliminer des interférences au niveau de l'automate.

- Les thrombocytoses secondaires (réactionnelles)^{49,68,69} représentent 85% des cas d'augmentation de plaquettes.
 - Les thrombocytoses d'entraînement par stimulation médullaire sont plus souvent transitoires (8 à 10 jours), et dues au stress (post accouchement prolongé, chirurgie, activités physiques intenses, traumatismes importants...). On retrouve aussi des thrombocytoses dites de rebond (post-hémolyse aiguë, post hémorragique aiguë, sortie d'aplasie, ou régénération post thrombopénie aiguë d'origine virale ou en toxique, certains médicaments...)
 - Les thrombocytoses par carence martiale sont souvent plus modérées que les thrombocytoses clonales.

- Lors d'une stimulation de la mégacaryopoïèse par les cytokines pro-inflammatoires (IL-6)⁷⁰ dans les maladies inflammatoires chroniques, les cancers et les infections chroniques, une thrombocytose périphérique peut être retrouvée.
- Une diminution de l'élimination des plaquettes par hyposplénisme ou asplénisme à la suite d'une splénectomie, ou d'une asplénie constitutionnelle ou acquise sont aussi retrouvées.⁷¹
- Les thrombocytoses primitives sont aussi fréquentes dans des hémopathies autres que les TE :
 - Dans la majorité des syndromes myéloprolifératifs tels que LMC (exclue par la recherche du transcrit *BCR::ABL1*) ou les SMP non LMC (PV et MFP) dont les diagnostics différentiels peuvent parfois être plus difficiles à réaliser.
 - Chez des patients atteints de SMD/SMP avec sidéroblastes en couronne et thrombocytose (SMD/SMP avec *SF3B1* muté, selon l'OMS 2022), la présence fréquente de l'association des mutations *SF3B1* et *JAK2V617F* entraîne une thrombocytose.⁷²
 - Dans certains cas de syndromes myélodysplasiques :
 - SMD avec un taux bas de blaste et une del(5q) : anémie réfractaire macrocytaire avec thrombocytose
 - Les LAM avec anomalies cytogénétiques en 3q26 : t(3;3)(q21;q26), inv(3)(q21q26) : thrombocytose inconstante.
 - Et dans des cas rares de formes familiales de thrombocytoses, par mutation du gène de la TPO, *THPO*(3q26-3q27) ou de *MPL*(1p34)

La fibrose médullaire est quant à elle retrouvée dans diverses causes :

- Myélofibroses d'origines hématologiques :
 - Leucémies à tricholeucocytes
 - LAM7-FAB (myélofibrose aiguë)⁷³
 - Lymphomes (LNH, Lymphomes de Hodgkin)⁷⁴
 - SMD avec myélofibrose
 - Mastocytose systémique

- Myélofibroses d'origine non hématologique :
 - Métastase de cancers solides (seins, poumons, prostate, mélanome...)
 - Causes toxiques
 - Maladies inflammatoires chroniques, maladie auto-immune
 - Infections (VIH, tuberculose)

2. Pronostic et évolution des SMP

a) *Survie globale*

L'espérance de vie globale dans les populations atteintes de SMP est inférieure à celle de la population appariée en terme d'âge et de sexe.^{75,76} La polyglobulie de Vaquez et la thrombocytemie essentielle ont une évolution le plus souvent chronique avec une médiane de survie de l'ordre de 14 et 22 ans respectivement⁷⁵. Alors que la myélofibrose primitive a un pronostic plus péjoratif avec une médiane de de survie entre 13 mois et 11 ans en fonction des groupes^{77,78}

Dans une étude internationale portant sur 1545 patients atteints de PV, les facteurs de risque indépendants de la survie globale comprenaient la leucocytose⁷⁹, la thrombose veineuse et le caryotype anormal.⁷⁵ Dans la même étude,⁷⁵ le risque cumulatif de transformation leucémique était de 2,3 % à 10 ans et de 5,5 % à 15 ans ; les facteurs de risque de transformation leucémique comprenaient un âge avancé, un caryotype anormal, des leucocytes ≥ 15 G/L et l'exposition au pipobroman ou au P32/chlorambucil, mais pas à l'hydroxyurée (HU) ou au busulfan.

Des scores évaluent le pronostic dans la myélofibrose, les premiers ne considérant que des critères clinico-biologiques : Score de Lille⁷⁷, IPSS⁷⁸, DIPSS⁸⁰ et MYSEC-PM⁸¹ (Tableau 5).

Tableau 5 - Scores pronostiques dans la myélofibrose (hors scores avec mutations additionnelles)

Score	Score de Lille ⁷⁷ (Dupriez et al., 1996)	IPSS ⁷⁸ (Cervantes et al., 2009)	DIPSS ⁸⁰ (Passamonti et al., 2010)	MYSEC-PM ⁸¹ (Passamonti et al., 2017)
Paramètres et calcul du score	Myélofibrose primitive au diagnostic	Myélofibrose primitive au diagnostic	Myélofibrose primitive durant le suivi	Myélofibrose secondaire au diagnostic
	Anémie (10g/dL) 1pt	Anémie (10g/dL) 1pt	Anémie (10g/dL) 2pt	Anémie (11g/dL) 2pt
	Hyperleucocytose (>30G/L) ou Leucopénie (<4G/L) 1pt	Hyperleucocytose (>25G/L) 1pt	Hyperleucocytose (>25G/L) 1pt	
		Âge (>65ans) 1pt	Âge (>65ans) 1pt	Âge (0,15xâge pt)
		Signes généraux* 1pt	Signes généraux* 1pt	Signes généraux* 1pt

		Blastes sanguins (≥1%) 1pt	Blastes sanguins (≥1%) 1pt	Blastes sanguins (≥1%) 1pt
				Thrombopénie (<150G/L) 1pt
				CALR-non muté 2pt
Catégorie de risque	Faible (0pt) SM : 93 mois	Faible (0pt) SM : 135 mois	Faible (0pt) SM : non atteinte	Faible (<11pt) SM : non atteinte
	Intermédiaire (1pt) SM : 26 mois	Int-1 (1pt) SM : 95 mois	Int-1 (1-2pt) SM : 170 mois	Int-1 (11-14pt) SM : 112 mois
		Int-2 (2pt) SM : 48 mois	Int-2 (3-4pt) SM : 48 mois	Int-2 (14-16pt) SM : 53 mois
	Elevée (2pt) SM : 13 mois	Elevée (>2pt) SM : 27 mois	Elevée (>4pt) SM : 18 mois	Elevée (>16pt) SM : 24 mois

*IPSS : International Prognostic Scoring System ; DIPSS : Dynamic International Prognostic Scoring System ; MYSEC-PM : Myelofibrosis Secondary to PV and ET-Prognostic Model ; SM : survie médiane ; Int : Intermédiaire ; *: perte de poids >10% dans l'année ou fièvre inexpliquée ou sueurs nocturnes persistante plus d'un mois*

D'autres études ont montré que la charge allélique *JAK2V617F* >50 %⁸⁰, la présence de fibrose de la moelle osseuse au moment du diagnostic^{82,36} et la leucocytose persistante été associées à un risque accru de transformation vers de stades fibrotiques. Des études sur la PV ont confirmé l'impact défavorable sur la survie, indépendamment de l'âge, du caryotype, de la leucocytose et de certaines mutations non-*JAK2*, notamment *SRSF2* et *IDH2*^{83,84}. Plus de 50 % des patients atteints de PV présentent des variants/mutations de séquence d'ADN autres que *JAK2* (cf. 2-Mutations additionnelles). La prévalence combinée des mutations défavorables (*SRSF2*, *IDH2*, *RUNX1*, *U2AF1* par exemple) pour la survie globale, sans leucémie ou sans myélofibrose dans la PV, a été estimée à 5–10 %⁸⁴.

Ces observations ont conduit au développement d'un modèle intégré de risque de survie clinique et génétique, appelé modèle pronostique international amélioré (par les mutations), MIPSS70⁸⁴. Il intègre le taux d'hémoglobine, de leucocytes, de plaquettes, la blastose circulante, des signes généraux de l'altération de l'état général (AEG), et des critères génétiques. Les deux critères génétiques sont : les mutations drivers (*JAK2*, *CALR*, *MPL*), la présence de mutations de haut risque moléculaire (HMR pour *high molecular risk*) sur les gènes *ASXL1*, *SRSF2*, *EZH2* et *IDH1/2*. Un score MIPSS70+ a permis de mieux redéfinir les anomalies du caryotype et d'ajouter au groupe des mutations de haut risque la mutation *U2AF1Q157*⁸⁵. Le GIPSS (genetic-basedpronostic scoring system)⁸⁶ est un autre score qui associe de la même manière que le MIPSS70, les facteurs cliniques, hématologiques et cytogénétiques, à des critères moléculaires (Tableau 6).

Tableau 6 - Nouveau score pronostique dans la myélofibrose primitive intégrant des données génétiques

Score		MIPSS70 ⁸⁴		MIPSS70+ ⁸⁵ 19/11/2024 17:53:00		GIPSS ⁸⁶
		Variables génétiques	Variables cliniques et biologiques	Variables génétiques	Variables cliniques et biologiques	Variables génétiques
Paramètres et calcul du score		1 mutation de haut risque 1pt	Anémie (<10g/dL) 1pt	Caryotype de très haut risque ⁸⁷ 4pt	Anémie sévère (<8g/dL chez la femme et <9g/dL chez l'homme) 2pt	Caryotype de très haut risque ⁸⁷ 2pt
		2 ≥ mutation de haut risque 2pt	Hyperleucocytose (>25G/L) 2pt	Caryotype défavorable ⁸⁷ 3pt	Anémie modérée (8-9,9g/dL chez la femme et 9-10,9g/dL chez l'homme) 1pt	Caryotype défavorable ⁸⁷ 1pt
		Mutation de de <i>CALR-like</i> de type 1 absente 1pt	Thrombopénie (<100G/L) 2pt	2 ≥ mutation de haut risque 3pt	Blastes sanguins (≥2%) 1pt	Mutation de de <i>CALR-like</i> de type 1 absente 1pt
			Blastes sanguins (≥2%) 1pt	1 mutation de haut risque 2pt	Signes généraux* 2pt	Mutation de <i>ASXL1</i> 1pt
			Signes généraux* 1pt	Mutation de de <i>CALR-like</i> de type 1 absente 2pt		Mutation de <i>SRSF2</i> 1pt
			Fibrose (≥MF2) 1pt			Mutation de <i>U2AF1Q157</i> 1pt
Catégorie de risque	Très Faible risque (médiane de survie)			0pt (non atteint)		
	Faible risque (médiane de survie)	0-1 pt (non atteint)		1-2 pt (16,4 ans)		0pt (26,4 ans)
	Risque Intermédiaire-1 (médiane de survie)					1pt (8 ans)
	Risque Intermédiaire (médiane de survie)	2-4 pt (6,3 ans)		3-4 pt (7,7 ans)		
	Risque Intermédiaire-2 (médiane de survie)					1pt (4,2 ans)
	Haut risque (médiane de survie)	≥ 5 pt (3,1 ans)		5-8 pt (4,1 ans)		≥ 3 pt (2 ans)
	Très Haut risque (médiane de survie)			≥ 9 pt (1,8 ans)		

Les mutations de haut risque sont : *ASXL1*, *SFSR2*, *EZH2*, *IDH1/2* et en plus dans MIPSS70+ et GIPSS : *U2AF1Q157*

b) Évènement thrombotique

Les patients atteints de néoplasies myéloprolifératives ont un risque accru de développer des thromboses veineuses et artérielles⁷⁶ par rapport à une population appariée en termes d'âge et de sexe. La morbi-mortalité associée à ces maladies est principalement liée à des évènements hémostatiques. Les thromboses sont les complications les plus fréquentes et sont responsables de 45% des décès dans les SMP.⁸⁸ Bien que les thromboses touchent

préférentiellement le territoire artériel, des localisations moins courantes sont également observées, telles que les thromboses splénique, hépatique et mésentérique et le syndrome de Budd-Chiari. Le mécanisme de ces thromboses n'est pas entièrement compris mais plusieurs facteurs semblent jouer un rôle, notamment les globules rouges, les plaquettes, les leucocytes, la rhéologie sanguine, les facteurs plasmatiques et les cellules endothéliales^{89,90}. De plus, le type de mutation promotrice semble influencer le risque thrombotique.⁹¹

Dans la PV, 26% des patients présentent des événements thrombotiques sur une durée médiane de 20 ans⁹². L'âge et les antécédents thrombotiques sont les deux principaux facteurs de risque utilisés pour la stratification du risque en pratique clinique. Les patients âgés de > 60 ans et/ou ayant des antécédents de thrombose artérielle ou veineuse associée à la PV sont considérés comme présentant un « risque élevé » de thrombose, tandis que ceux de ≤ 60 ans sans antécédents thrombotiques associés à la PV sont classés comme « à faible risque ».^{93,94,95,96} Cependant, il est important de prendre également en compte les facteurs de risque cardiovasculaire (tabagisme, diabète sucré, hypertension artérielle, hypercholestérolémie), la présence de leucocytose et les signes cliniques généraux associés à la PV pour orienter la stratification du risque et la prise en charge thérapeutique ultérieure.^{94,95}

Dans la TE, environ 40% des patients présentent au moins un épisode thrombotique, dans la moitié des cas, il s'agit du signe évocateur de la maladie et dans l'autre moitié des cas l'événement survient après le diagnostic.^{97,98} Le score traditionnel des risques de thrombose est le score IPSET (International Prognostic Score of thrombosis in Essential Thrombocythaemia)⁹⁹, avec comme critères : la présence de mutation *JAK2V617F*⁹¹, la thrombose, l'âge et le risque cardiovasculaire qui a été revisité avec le poids de la charge allélique de la mutation *JAK2V617F*.¹⁰⁰ La discrimination de ce score a été réévaluée dans une cohorte de la Mayo Clinic.¹⁰¹

Des manifestations hémorragiques sont aussi décrites de manière moins fréquente, 3 à 8% dans la PV et de 3 à 18% dans la TE,¹⁰² et souvent liée à une altération de l'hémostase primaire. Une thrombocytose >1500G/L associée à la prise d'antiagrégant plaquettaire, dans la TE, semble être corrélée à une augmentation du risque hémorragique.^{39,68}

c) Évolution hématologique

Les patients atteints de PV et de TE évoluent fréquemment vers des stades de myélofibrose : MF-post PV et MF-post TE. Le diagnostic est établi selon les critères de l'International Working Group for Myeloproliferative Neoplasm Research and Treatment (IWG-MRT) :

Tableau 7 – Critères diagnostiques de l'IWG-MRT pour le diagnostic de myélofibrose post PV et post TE⁵¹

Critères Majeurs
Diagnostic avéré au préalable de PV ou de TE selon les critères de l'OMS 2016
Développement d'une fibrose médullaire de grade 2-3 (ou 3-4, selon l'échelle)
Critères Mineurs
Leuco-érythroblastose dans le sang circulant
Augmentation de la splénomégalie
Apparition d'au moins un signe général pour la polyglobulie de Vaquez (PV) et/ou la thrombocytemie essentielle (TE)
Anémie de novo non liée au traitement ou réduction des saignées pour la PV
Anémie et diminution du taux d'hémoglobine d'au moins 2 g/dL par rapport à la valeur de référence, ainsi qu'augmentation des taux de lactate déshydrogénase sérique pour la TE
Augmentation des LDH dans le sérum pour la TE
Le diagnostic requiert les deux critères majeurs et au moins deux critères mineurs

La morbidité et la mortalité de la PV et de la TE chez les patients non traités sont principalement liées aux complications thrombotiques. Chez les patients traités, l'augmentation du risque de décès est liée à l'évolution hématologique de la pathologie. En effet il existe un continuum entre différentes maladies hématologiques. La TE peut évoluer en PV dans environ 5% des cas et ce, principalement dans les deux premières années suivant le diagnostic, cela indique bien un chevauchement de ces entités.¹⁰³ La transformation en myélofibrose secondaire est possible pour la PV et la TE avec des incidences cumulées de 9 à 21% en 10 ans pour la PV et de manière significativement plus faible dans les TE de l'ordre de 4%.¹⁰⁴ La réalisation de saignées seules est à risque d'accélérer la transformation en myélofibrose dans la PV. En revanche, dans la TE, les facteurs prédictifs de cette

transformation sont mal connus : aucun traitement ou anomalie cytogénétique particulière n'ont été mis en cause.¹⁰⁵

Une étude du Polycythemia Vera Study Group (PVSG) a examiné des biopsies médullaires répétées chez des patients atteints de polyglobulie de Vaquez, documentant les mécanismes de la myélofibrose secondaire.¹⁰⁶ Cette myélofibrose commence par une sclérose des parois des sinus médullaires, suivie d'une densification de la trame réticulinique, évoluant vers une fibrose collagène. La prolifération initiale de la lignée érythroïde s'étend aux trois lignées myéloïdes, avec des anomalies de forme et une fibrose diffuse envahissant les logettes médullaires remplaçant les zones d'hématopoïèse, où seuls les mégacaryocytes sont préservés, mais sous forme de cellules dispersées et dystrophiques.¹⁰⁷ La myélofibrose est secondaire et due à des fibroblastes polyclonaux stimulés par des facteurs de croissance locaux libérés par le clone myéloïde prolifératif. Une entité appelée "pré-fibrose" se caractérise par une hypercellularité médullaire et une prolifération mégacaryocytaire, souvent confondue avec la thrombocythémie essentielle (TE). Cette pré-fibrose a un risque élevé d'évoluer vers une myélofibrose, affectant le pronostic des patients. Il est donc important de les différencier.¹⁰⁸ La transformation en syndrome myélodysplasique (SMD) et leucémie aiguë myéloïde (LAM) est moins fréquente dans la PV et la TE que dans la MFP. Dans la PV, la progression en LAM est de 2% à 10 ans et de 6% à 15 ans chez les patients^{109,110}, et dans la TE d'environ 4% à 10 ans et de 3,5 à 15% en 15 ans¹⁰⁴, alors qu'elle est de 12 à 31% à 10 dans les MFP (Figure 6) Le pronostic de survie dans les LAM post SMP est très péjoratif : de l'ordre de quelques mois.

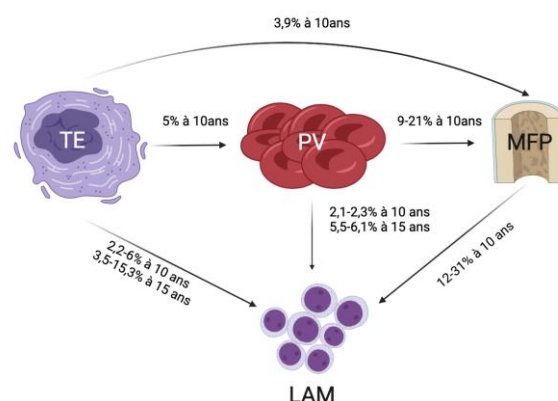


Figure 6 - Évolution hématologique des syndromes myéloprolifératifs et incidences cumulées^{75,104,109,111} (généré avec BioRender®)

Dans les formes fibrotiques, l'aggravation des cytopénies est un enjeu majeur avec des conséquences telles que des infections, des hémorragies et une augmentation du besoin transfusionnel.

3. Principes de traitements

A court et moyen terme, les objectifs de traitement dans les syndromes myéloprolifératifs visent à réduire le risque de thrombose. Par la suite l'objectif est d'éviter les évolutions vers des stades fibrotiques/ou leucémiques.

1- Traitements symptomatiques

Cela passe par le traitement systématique des patients porteurs d'une PV par d'acétylsalicylate de DL-lysine (aspirine) à faible dose et des mesures de préventions des risques cardio-vasculaires qui doivent être dépistés et corrigés (hypertension artérielle, diabète, tabagisme, surpoids...). En cas d'antécédent de thrombose, le traitement peut évoluer vers la prise d'anticoagulants qui seront poursuivis au long cours selon la localisation de la thrombose et l'évaluation du rapport bénéfice/risque.

La prise d'aspirine systématique a montré un bénéfice réel dans les PV diminuant le risque de thrombose de 15% à 6,5% en comparaison du placebo.¹¹²

En revanche, dans la TE, la place des antiagrégants plaquettaires n'a jamais été prouvée dans une étude randomisée. Dans les données rétrospectives¹¹³⁻¹¹⁵, il n'existe pas de différence significative en termes de thrombose ou d'accident hémorragique entre le bras hydroxyurée et aspirine de l'étude PT-1¹¹⁶ et le bras hydroxyurée seule de l'étude ANAHYDRET¹¹⁷. De nouvelles données suggèrent que l'aspirine à faible dose une fois par jour est insuffisante pour produire une suppression adéquate de la synthèse plaquettaire du thromboxane A₂, en raison du renouvellement accéléré des plaquettes dans la thrombocytemie essentielle. Toutefois, l'aspirine deux fois par jour entraîne une suppression efficace.^{118,119} Des études ont montré que chez des patients de haut risque cardiovasculaire et/ou mutés *JAK2V617F* l'introduction de l'aspirine réduit les risques de thromboses.^{120,121} En revanche chez des patients de faible risque (âge < 60 ans et mutation de *CALR*), le traitement par aspirine n'influence pas la survenue de thromboses mais est associé à un risque accru de complications hémorragiques¹¹³, en cas de symptomatologie importante, l'introduction d'une dose par jour peut être discutée chez ces patients.

Dans certaines situations à risque hémorragique le traitement anticoagulant peut être suspendu.

2- Les traitements myélosuppresseurs

Dans la polyglobulie de Vaquez, l'objectif thérapeutique est de maintenir un hématokrite inférieur à 45%, car une étude clinique randomisée a montré que cette cible plus stricte réduit la mortalité liée aux événements cardiovasculaires et aux thromboses.¹²² Le traitement d'urgence implique des saignées pour diminuer rapidement l'hématocrite, mais en raison de leur mauvaise tolérance et de la carence en fer qu'elles provoquent, des médicaments cytoréducteurs sont souvent utilisés à long terme. Dans la thrombocythémie essentielle, un traitement cytoréducteur est recommandé pour les patients à haut risque, avec l'hydroxyurée et l'interféron- $\alpha 2$ pégylé comme options principales. L'hydroxyurée agit en inhibant la synthèse d'ADN, tandis que l'interféron- $\alpha 2$ a des effets immunomodulateurs et agit directement sur le clone tumoral.

Le traitement par l'interféron- $\alpha 2$ pégylé a montré son efficacité dans les syndromes myéloprolifératifs (SMP), réduisant la charge allélique de la mutation *JAK2V617F* et ayant un impact sur le compartiment des cellules souches.^{123,124} L'interféron- $\alpha 2$ a également montré une efficacité chez les patients avec mutation de *CALR*, bien que les réponses moléculaires soient moins fréquentes comparées à celles avec la mutation *JAK2V617F*.¹²⁵ Bien que l'interféron- $\alpha 2$ ne soit pas encore approuvé en France, il est souvent utilisé en première ligne pour les patients jeunes. Le pipobroman est réservé aux traitements des patients très âgés ou en cas d'échec des autres cytoréducteurs en raison du risque leucémogène associé à son utilisation¹²⁶, ce qui n'est pas le cas pour l'interféron- $\alpha 2$.¹²⁷

Le traitement de la myélofibrose est symptomatique, avec des transfusions et de l'érythropoïétine pour les formes avec insuffisance médullaire, et des traitements cytoréducteurs pour les formes hyperleucocytaires. La greffe de moelle allogénique reste le seul traitement curatif, envisageable pour les patients avec un score de risque intermédiaire ou élevé. Le développement de nouvelles thérapies ciblant les protéines JAK1 et JAK2, comme le ruxolitinib, a amélioré la gestion de la myélofibrose, réduisant les signes cliniques et améliorant la qualité de vie.^{128,129} Le ruxolitinib est efficace également dans la polyglobulie

de Vaquez et a une AMM pour la myélobfibrose et en seconde ligne pour la polyglobulie de Vaquez résistante ou intolérante à l'hydroxyurée. Des essais cliniques explorent actuellement des combinaisons de ruxolitinib avec d'autres agents thérapeutiques. Le fédératinib est le 2ème représentant de la classe des inhibiteurs de Janus kinase indiqué dans le traitement de la splénomégalie ou des symptômes liés à la maladie chez les patients adultes atteints de myélobfibrose primitive, de myélobfibrose secondaire à une polyglobulie de Vaquez ou une thrombocythémie essentielle qui sont naïfs d'inhibiteur de JAK ou qui ont été préalablement traités par le ruxolitinib.¹³⁰

D. Profil mutationnel des syndromes myéloprolifératifs

La découverte de mutations somatiques dans les années 2000 à considérablement modifié la compréhension des syndromes myéloprolifératifs. En effet les trois mutations promotrices retrouvées dans la grande majorité des syndromes myéloprolifératifs, *JAK2*, *CALR* et *MPL*, sont devenues des critères majeurs dans la classification OMS 2016 comme vu dans les parties précédentes. La fréquence de répartition de ces mutations promotrices est représentée dans la Figure 7. De plus, le séquençage de nouvelle génération (NGS) a permis d'identifier de nombreux autres gènes pouvant être mutés dans les SMP. Des techniques comme le single-cell ont permis de mettre en évidence l'importance de l'architecture clonale. En effet, l'ordre d'apparition des mutations semble être déterminant pour définir le phénotype de la pathologie.

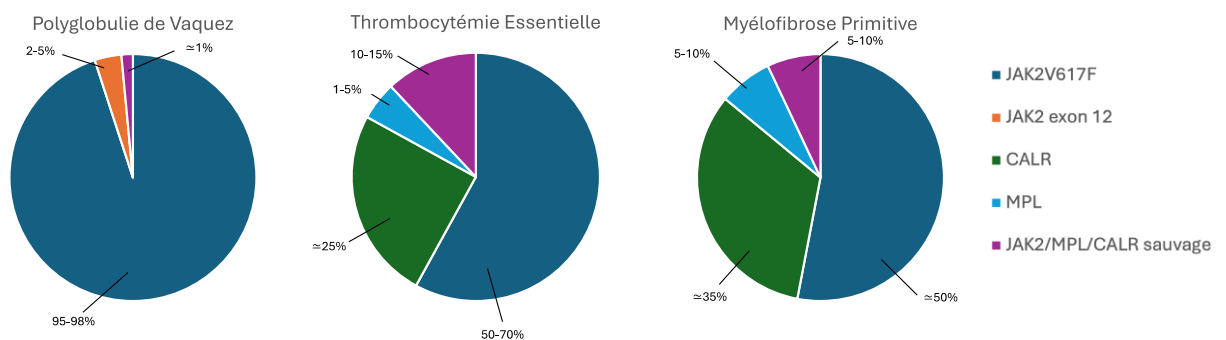


Figure 7 - Mutations activatrices de la voie JAK/STAT dans les syndromes myéloprolifératifs BCR::ABL1 négatifs

1. Mutations promotrices

a) JAK2

1- La voie JAK/STAT

La famille des protéines Janus Kinase est composée de quatre entités JAK1, 2, 3 et TYK2. JAK3 est exprimé dans la moelle osseuse et le système lymphatique, ainsi que dans les cellules endothéliales et les cellules musculaires lisses vasculaires, alors que les autres sont exprimées dans presque toutes les cellules. Elles ont toutes une activité kinase médiée par la fixation d'un ligand à son récepteur.

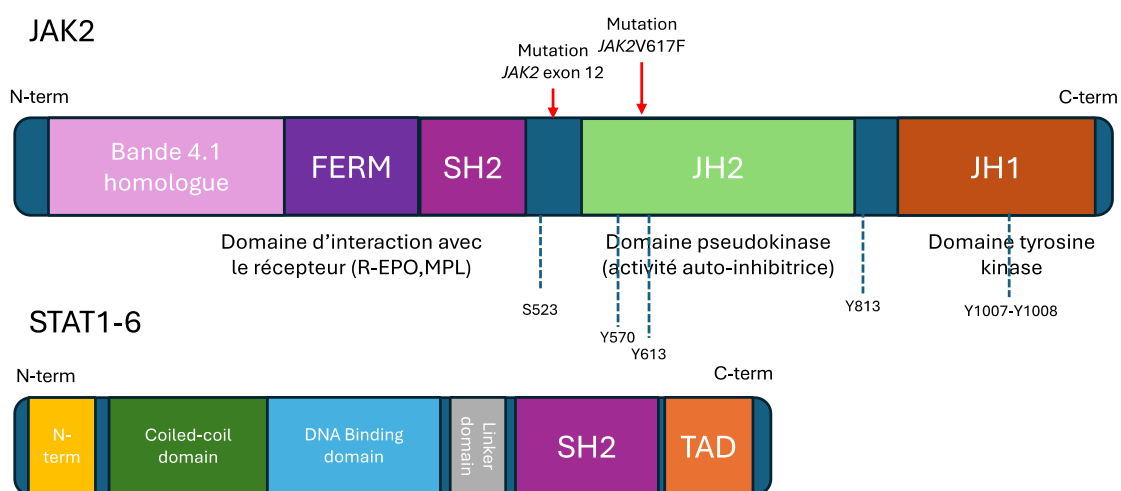


Figure 8 - Schéma du gène de JAK2 et protéines STAT1 à 6 : Les kinases JAK sont composées de quatre domaines fonctionnels : FERM, SH2-like, le domaine pseudokinase et enfin le domaine kinase. Représentation des principaux résidus sérine (S) et tyrosine (Y) important pour l'activation et la fonction de JAK2. Structure générale des protéines STAT : la région N-terminale (N-ter), le domaine coiled-coil, le domaine de liaison à l'ADN (DBD), le domaine linker, le domaine d'homologie à Src2 (SH2) et le domaine de transactivation (TAD). Extrémité N-terminale (N) et C-terminale (C)

Le gène JAK2 est situé sur le chromosome 9 en 9p24.1 chez l'homme et contient 28 exons. La protéine JAK2 possède deux domaines d'homologie : JH1 qui confère l'activité tyrosine kinase et JH2 qui est une pseudokinase qui joue un rôle négatif sur l'activité kinase de JH1. Le domaine FERM en N-terminal permet la liaison intracytoplasmique de JAK2 aux domaines intracellulaires de récepteurs aux cytokines (cf. Figure 8). Le domaine FERM est associé au récepteur à l'EPO, EPO-R (qui ne possède pas d'activité kinase intrinsèque), au récepteur à la thrombopoïétine, MPL encore appelé TPO-R et au récepteur de croissance des granuleux, CSF3R (également connu sous le nom de G-CSFR).

L'activation physiologique de la voie JAK2 est un processus complexe et bien régulé, impliquant plusieurs molécules clés à différentes étapes. Elle est activée par la liaison de ligands spécifiques, tels que des cytokines (par exemple, l'érythropoïétine, la thrombopoïétine, les interleukines) ou des facteurs de croissance (comme le GM-CSF), à leurs récepteurs membranaires respectifs. La liaison du ligand induit la dimérisation (ou oligomérisation) des récepteurs, rapprochant ainsi les domaines intracellulaires associés aux molécules JAK2. Cette proximité permet la transphosphorylation des molécules JAK2 sur des résidus tyrosine spécifiques. Les principales tyrosines phosphorylées sur JAK2 incluent Y1007 et Y1008, essentielles pour son activité kinase maximale. Les JAK2 activées phosphorylent ensuite plusieurs tyrosines sur le récepteur cytoplasmique, créant des sites de liaison pour les protéines de signalisation en aval. Les protéines STAT (Signal Transducer and Activator of Transcription) se lient aux tyrosines phosphorylées sur le récepteur via leurs domaines SH2. JAK2 phosphoryle alors les STAT liées, provoquant leur dissociation du récepteur. Les STAT phosphorylées (comme STAT3 et STAT5) se dimérisent via leurs domaines SH2 et migrent dans le noyau cellulaire. Dans le noyau, les dimères STAT se lient à des séquences spécifiques de l'ADN, appelées éléments de réponse aux STAT, et régulent la transcription de gènes cibles impliqués dans la prolifération cellulaire, la différenciation, et la survie. Des gènes typiquement activés incluent BCL-XL (anti-apoptotique), c-Myc (prolifération cellulaire), et la cycline D1 (cycle cellulaire).

D'autres voies sont également activées par les récepteurs couplés à JAK2 : la voie MAPK/ERK et PI3K/AKT.¹³¹ EPO-R active majoritairement STAT5 (signal transducer and activator of transcription), MPL active STAT1, 3 et 5, et G-CSF-R active STAT1 et 3. (cf. Figure 9)

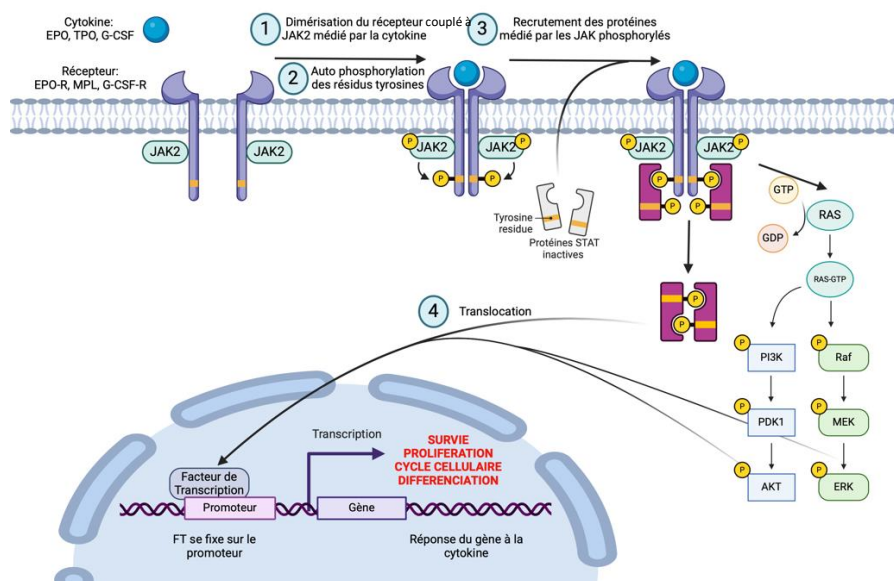


Figure 9 - Activation de la voie de signalisation JAK/STAT. (Crée avec BioRender.com d'après JAK/STAT in leukemia : a clinical update. Dong Liang¹³²)

2- Inhibition de la voie JAK/STAT

La voie JAK2 est régulée négativement par plusieurs mécanismes pour prévenir une activation excessive. Cela intervient principalement par l'inactivation des récepteurs et des molécules intermédiaires de signalisation via leur internalisation, dégradation ou déphosphorylation. Ce processus est initié par le recrutement de protéines adaptatrices inhibitrices, essentielles pour moduler la réponse quantitative et qualitative des voies de signalisation. Les phosphatases de la famille SHP (famille des PTP pour PhosphoTyrosine Phosphatase) et les E3 ligases de la famille Cbl sont deux classes principales de ces adaptateurs avec activité enzymatique. SHP-1 et SHP-2 jouent un rôle crucial en déphosphorylant les protéines de signalisation, SHP-1 étant un régulateur négatif et SHP-2 un régulateur positif. Les protéines Cbl régulent négativement les voies activées par les tyrosine kinases, en ciblant les protéines pour l'ubiquitination et la dégradation.^{133,134}

Les protéines adaptatrices dépourvues de fonction catalytique, comme les familles SOCS et LNK, utilisent des domaines fonctionnels pour réguler les voies de signalisation. Elles peuvent être transmembranaires ou cytoplasmiques, et leur recrutement à la membrane leur permet d'exercer leur fonction dans des compartiments intracellulaires. Les adaptateurs négatifs agissent par inhibition directe des tyrosine kinases, blocage des associations entre kinases et substrats, ou en ajoutant des signaux pour leur dégradation (tel qu'un signal d'adressage au protéasome). Les protéines SOCS, notamment SOCS1 et SOCS3, inhibent

directement l'activité des kinases JAK en se liant aux résidus tyrosine phosphorylés et en masquant les sites d'interaction des substrats. Elles recrutent aussi des protéines pour former des complexes E3 ligases, conduisant à l'internalisation et à la dégradation des récepteurs et kinases cibles, contribuant ainsi à la régulation des réponses immunitaires et au développement des organismes.¹³⁵ Le fonctionnement de la famille LNK est développé dans la partie I.E.1.b) Fonction de SH2B3.

Tandis que la protéine PIAS (Protein Inhibitor of Activated STAT) inhibe l'activité des STAT dans le noyau.¹³²

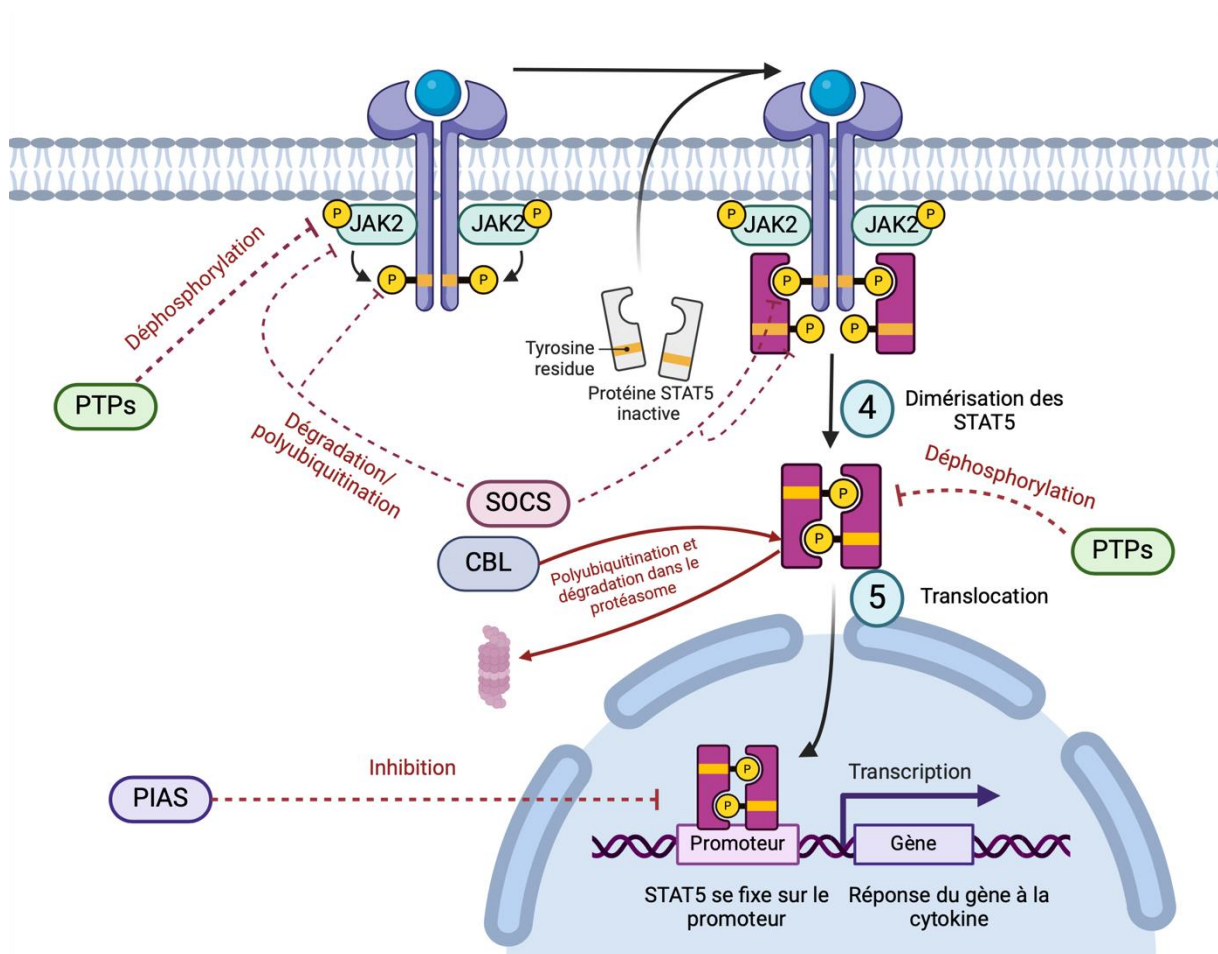


Figure 10 - Schéma de l'inhibition de la voie JAK/STAT. PTP (PhosphoTyrosine Phosphatase): SHP 1 et 2 déphosphorylent les protéines de signalisation; par la protéine Cbl qui ubiquitine les protéines phosphorylées et les adresse au protéasome et les protéines de la famille des SOCS qui inhibent par masquage des sites d'intérêts et par ubiquitination. SH2B3 sera représenté ultérieurement. (Réalisé avec BioRender)

3- Mutation du gène JAK2

Les mutations fréquemment retrouvées dans les bases de données sont situées sur l'acide aminé en position 617 de la protéine JAK2 remplaçant une valine par une phénylalanine. Elle

résulte de la modification d'une guanine par une thymidine en position 1849 du gène *JAK2*. Le codon en position 617 est localisé à l'interface entre les domaines SH1 et SH2, la modification de cette acide aminé entraîne une levée de l'inhibition de JH2 sur JH1, cela induit une activation constitutive de *JAK2*. La protéine mutée *JAK2* engendre donc une activation permanente des voies en aval (STAT5, MAPK et PI3K) et cela en absence de cytokine (type EPO). Cela induit un signal cellulaire de différenciation, de prolifération et de survie avec l'expression de protéines anti-apoptotiques. Des études ont démontré que la mutation de *JAK2*V617F entraîne une augmentation de la dimérisation des récepteurs aux cytokines.¹³⁶ La pathologie la plus couramment associée à cette mutation est la polyglobulie de Vaquez, située dans l'exon 14. Cependant, environ 2-5% des patients atteints de PV qui n'ont pas cette mutation présentent le plus fréquemment des mutations dans l'exon 12. Ces mutations sur l'exon 12 sont spécifiques à la polyglobulie de Vaquez, ce qui suggère qu'elles jouent un rôle particulier dans cette maladie. L'exon 12 du gène *JAK2* ne code pas pour une partie critique du domaine pseudokinase, mais modifie sa structure de manière semblable à la mutation V617F. De la même manière, les mutations dans cette région peuvent provoquer une activation constitutive de la protéine *JAK2*. Les mutations les plus courantes dans l'exon 12 de *JAK2* chez les patients atteints de polyglobulie de Vaquez sont des mutations faux-sens, des duplications et des petites délétions/insertions, il existe un hotspot entre les résidus 536 et 547. En général les patients présentent un âge plus jeune, un taux d'hémoglobine plus élevé que dans les V617F avec des leucocytes et plaquettes le plus souvent normaux ou subnormaux.¹³⁷ En revanche, le pronostic est similaire entre ces deux entités.¹³⁸ D'autres mutations peuvent être retrouvées dans les SMP dit triple négatif, majoritairement dans le domaine kinase ou pseudokinase mais aussi le domaine FERM.

Dans la polyglobulie de Vaquez (PV), la charge mutationnelle de *JAK2*V617F est généralement élevée, souvent supérieure à 50%, ce qui est associé à une augmentation significative de la production de globules rouges. En revanche, dans la thrombocythémie essentielle (TE), la charge mutationnelle de *JAK2*V617F est habituellement plus faible, souvent inférieure à 25%, et est liée à une augmentation des plaquettes sans polyglobulie marquée. Si la charge mutationnelle est > 25% il est intéressant d'envisager une BOM ou la mesure du volume globulaire et plasmatique. Pour la myélofibrose (MFP), la charge mutationnelle peut varier considérablement, mais les patients présentant une charge élevée de *JAK2*V617F tendent à avoir une maladie plus agressive avec une fibrose médullaire

avancée et une splénomégalie. Ces variations dans la charge mutationnelle de *JAK2V617F* contribuent aux différences phénotypiques et peuvent influencer le pronostic et les décisions thérapeutiques dans les SMP.¹³⁹

b) MPL

Le gène *MPL* (pour myeloproliferative leukemia) est situé sur le chromosome 1, code pour le récepteur à la thrombopoïétine (TPO), qui est la principale cytokine responsable de la mégacaryopoïèse. Les mutations dans le gène *MPL* ont été découvertes en 2006 juste après celles sur *JAK2*, qui ont donné l'idée de rechercher des mutations sur les gènes codants les récepteurs associés à *JAK2* et qui sont responsables de TE et MFP.^{22,23} Le hotspot de la mutation se situe sur le tryptophane en position 515, à la jonction du domaine transmembranaire et cytoplasmique. Deux mutations gain-de-fonction ont été décrites en premier (W515L, W515K) puis de nombreuses autres. Retrouvées dans 5 à 10% des MFP et 1 à 5% des TE, elles entraînent l'activation du récepteur à la thrombopoïétine en absence de ligand.²² Les différentes mutations en position 515 ne semblent pas être liées à des pronostics différents.^{109,140}

En 2015, des séquençages d'exomes de patients atteints de thrombocythémie essentielle triple négative, ont révélé des variants rares de *MPL*. Pour certains de ces variants, tels que S204P, Y591D, et Y591N, des études fonctionnelles ont démontré leur pathogénicité, montrant une activation dérégulée de la voie *JAK2-STAT5* et une indépendance ou une hypersensibilité vis-à-vis de la TPO.^{141,142}

Certains variants peuvent être à l'origine de thrombocytoses familiales (notamment du variant dit 'Baltimore' K39N, ou encore P106L)^{143,144}, d'autres peuvent être retrouvés à la fois à l'origine de variants constitutionnels et de variants somatiques (S505N).¹⁴⁵⁻¹⁴⁷

c) CALR

Après la découverte des mutations de *JAK2* et *MPL*, de nouvelles mutations ont été décrites en 2013 grâce aux séquençages d'exome dans le gène de *CALR*, qui code pour la calréticuline.^{25,148} Les mutations de *CALR* sont retrouvées dans 35% des myélofibroses primitives et 25% des thrombocythémies essentielles au diagnostic.

La calréticuline est une protéine de 46 kDa qui réside dans la lumière du réticulum endoplasmique (RE). Elle se compose de trois domaines structuraux et fonctionnels distincts: le domaine N-terminal est hautement conservé entre les espèces et joue un rôle de protéine chaperonne, le domaine P est riche en proline et participe également à l'activité de chaperonne, et le domaine C-terminal est responsable de l'activité tampon du calcium.¹⁴⁹ Ce site de liaison du Ca²⁺ à haute capacité et faible affinité réside dans la région carboxyl-terminale de la protéine.¹⁴⁹ Dans la lumière du RE, la calréticuline interagit avec la calnexine et ERp57.¹⁵⁰ Le cycle calréticuline/calnexine garantit que la conformation correcte des glycoprotéines nouvellement synthétisées est atteinte avant qu'elles ne soient sécrétées vers leurs emplacements désignés.¹⁵¹

Les mutations de *CALR* sont retrouvées au sein de l'exon 9, il s'agit principalement de délétions et/ou d'insertions, aboutissant au décalage du cadre de lecture. Cela induit une protéine CALR incomplète, sans motif protéique KDEL et présentant une séquence peptidique carboxy-terminale commune. Les insertions/délétions décrites sont nombreuses (plus de cinquante) mais deux sont majoritairement retrouvées. Le type I correspond à délétion de 52 pb (53% des cas) et il est prédominant dans les MFP par rapport aux TE et de meilleur pronostic dans les MFP que les autres mutations retrouvées; le type II quant à lui implique une insertion de 5 pb (31% des cas) et inversement il prédomine dans les TE.^{25,152} La nature des acides aminés insérés ou perdus influe sur le point isoélectrique de la protéine, en fonction de cela les mutations sont classées de type I-like (65%) ou de type II-like (32%) ou dans une catégorie autres types (3%).¹⁵³

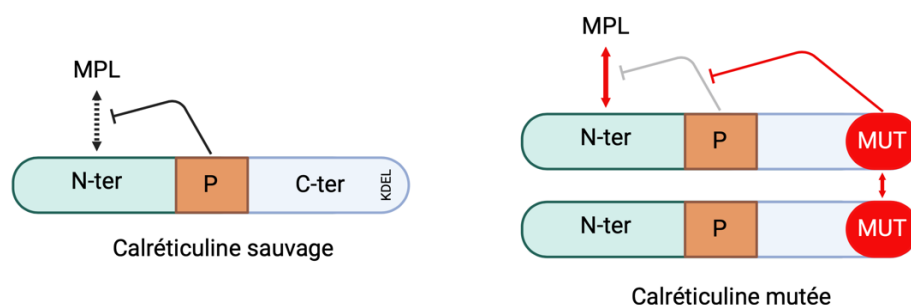


Figure 11 - Mécanisme de l'interaction entre MPL et la calréticuline mutée (d'après Araki et al. 2016)¹⁵⁴ Modèle hypothétique : En condition sauvage, le domaine riche en proline (P) de la calréticuline inhibe la liaison entre son domaine N-terminal (N-ter) et le récepteur à la thrombopoïétine (MPL). En condition muté, l'homodimérisation du domaine C-terminal lève l'inhibition induite par le domaine P et entraîne une activation constitutive de MPL.

Globalement, la déficience en calréticuline altère le contrôle de la qualité des protéines et des glycoprotéines, causant l'accumulation et l'exportation de protéines mal repliées.¹⁵⁵

Dans le cadre de la TE, la migration en surface de MPL sur lequel est fixé CALR muté induit l'activation de MPL de manière constitutive avant même son arrivée à la membrane (Figure 12 - Impact des mutations de CALR).

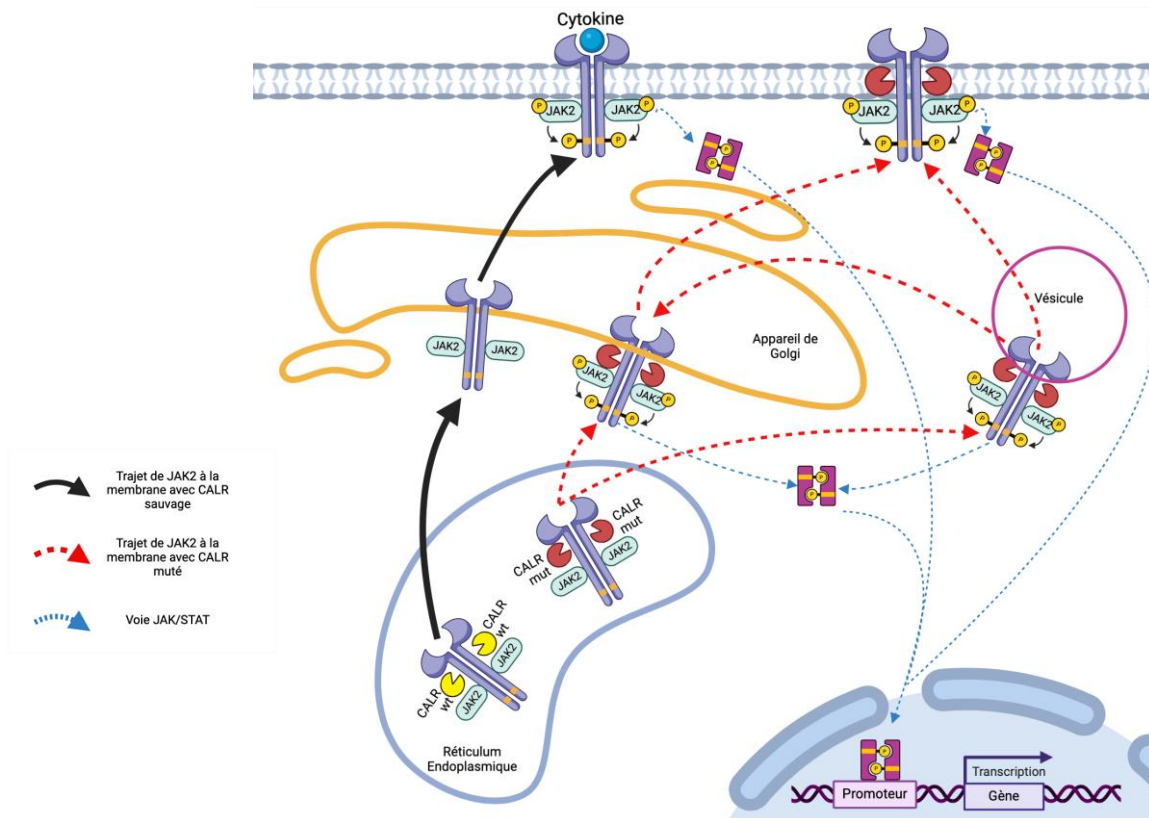


Figure 12 - Impact des mutations de CALR : Récepteur MPL de la thrombopoïétine (TPO) avec CALR Sauvage (wt pour wild-type) et CALR muté (mut). Lorsqu'il y a une mutation de CALR : le couple JAK2 s'active avant la rencontre avec son ligand ce qui active STAT5 qui va entrer dans le noyau sans rencontre avec des cytokines (BioRender)

2. Mutations additionnelles

Les anomalies additionnelles peuvent affecter des gènes de la signalisation intracellulaire (*NRAS*, *KRAS*, *PTPN11*, *NF1*, *CBL*...), de la régulation épigénétique (*ASXL1*, *EZH2*, *TET2*, *IDH1/2*...), de l'épissage des ARNm (*SRSF2*, *U2AF1*...), ou des gènes suppresseurs de tumeurs (*TP53*). Les mutations des voies de signalisation sont présentes dans les gènes codant pour des molécules impliquées dans la régulation négative de la voie JAK/STAT, notamment la ligase E3 Casitas B-lineage lymphoma (CBL), les protéines Suppressor of Cytokine Signaling 1 et 3 (SOCS1/3), l'adaptateur LNK et bien d'autres gènes.

Ces anomalies dites additionnelles ont d'abord été mises en évidence par des approches de SNP array avec l'étude de régions avec une perte d'hétérozygotie ou une zone minimale délétée. C'est par cette approche que les mutations de *TET2*, *CBL*¹⁵⁶ ou d'*EZH2* ont été suspectées puis mises en évidence.^{157,158} Par la suite le NGS a permis de découvrir de nombreux autres gènes mutés dans les hémopathies myéloïdes tel que les syndromes myéloprolifératifs.

Les études ont démontré le rôle pronostic de certaines co-mutations.¹⁵⁹ Dans une cohorte de 483 patients atteints de myélofibrose primitive (MFP) européens, avec validation dans un groupe américain, les mutations *ASXL1*, *EZH2* et *SRSF2* prédisaient de manière indépendante une survie réduite. Les mutations de *IDH1/2* ou de *SRSF2* étaient associées à une progression leucémique dans ces cohortes, avec une forte association de *TP53* dans une autre cohorte.^{160,161} L'impact pronostique négatif de *ASXL1* semble évident lorsqu'il est présent avec une autre mutation à haut risque, mais pas seul.¹⁶² Dans une grande étude portant sur 2035 patients, huit sous-groupes génomiques ont été identifiés dans le spectre des néoplasies myéloprolifératives, chacun reflétant une proportion différente de patients atteints de polyglobulie de Vaquez, de thrombocythémie essentielle et de MFP, avec des risques variables de transformation leucémique ou fibrotique et de survie globale. Les facteurs génétiques, notamment les mutations *TET2*, *SRSF2* et *ASXL1*, ont contribué à plus de 50 % des facteurs de risque de transformation fibrotique à partir de la PV ou de la TE. De même, plus d'un tiers du risque de transformation leucémique était attribuable à des facteurs génétiques, dont la mutation *TP53*.¹⁶³

- Mutations et Signalisation Cellulaire

Les mutations affectent principalement les voies de signalisation des récepteurs aux cytokines, incluant les récepteurs C-KIT, la voie JAK-STAT, et sa régulation via LNK et CBL. Elles peuvent aussi toucher d'autres voies de signalisation comme la voie RAS-MAPK (NRAS, NF1).

- Mutations et Épigénétique

L'épigénétique régule l'expression des gènes sans altérer les séquences nucléotidiques, via des mécanismes comme la méthylation de l'ADN et les modifications post-traductionnelles des histones. La méthylation de l'ADN, médiée par les DNA méthyltransférases (DNMT), réprime la transcription en ciblant les îlots CpG sur les promoteurs des gènes. La

déméthylation, nécessitant les enzymes TET comme TET2, utilise des co-facteurs produits par les enzymes IDH1 et IDH2.¹⁶⁴

Les mutations affectant l'épigénétique incluent celles de *TET2*, découvertes en 2009¹⁵⁷, et d'*IDH1/2*, ciblant des résidus arginines spécifiques et conduisant à une hyperméthylation de l'ADN. Les mutations d'*IDH* conduisent à l'accumulation de 2-hydroxyglutarate à effet leucémogène.

Les modifications des histones, influençant la compaction de la chromatine, comprennent l'acétylation qui active la transcription et la méthylation qui peut réprimer ou activer selon les résidus modifiés. Les complexes Polycomb, tels que PRC1 et PRC2, maintiennent certains gènes réprimés via des méthylations spécifiques. Les mutations d'*EZH2* et *ASXL1*¹⁶⁵, impliquées dans les hémopathies myéloïdes, altèrent ces processus, souvent conduisant à une perte de fonction et une diminution de la triméthylation de H3K27.¹⁵⁸

- Mutations et Épissage

L'épissage est crucial pour la maturation des ARN messagers, orchestré par le spliceosome qui reconnaît les sites donneurs et accepteurs d'introns. Les mutations des gènes du spliceosome, récurrentes dans les hémopathies, perturbent l'épissage normal, provoquant des transcrits alternatifs et des anomalies comme la rétention d'introns ou le saut d'exons.

Ces anomalies contribuent à la leucémogenèse en dérégulant des fonctions clés comme le métabolisme, l'apoptose et l'épigénétique. Par exemple, les mutations de *SRSF2* induisent des anomalies dans la méthylation des histones, ce qui peut mener à des myélodysplasies.

Enfin, certaines anomalies épigénétiques et d'épissage coopèrent dans la leucémogenèse, comme démontré pour les mutations combinées d'*IDH2* et de *SRSF2*.¹⁶⁶ Le Tableau 8, ci-dessous reprend les mutations retrouvées dans les SMP.

Tableau 8 - Mutations somatiques dans les SMP BCR::ABL1 négatif d'après Tefferi et al. 2021, et D. Lupaz 2021^{167,168}

Mutations	Locus	Fonction	Détail de la fonction	Localisation des mutations	Types de mutations	Fréquence dans les SMP				Impact pronostic
						PV	TE	MFP	LAM post SMP	
JAK2	9p24	Signalisation	Activation constitutive de la voie JAK/STAT5	Hotspot V617F et exon 12 Mais mutations sur tous exons (en particulier SMP triples -)	Substitutions et InDel infame	96	55	65	-	Non détaillé ici cf.I.D.1.a) JAK2
MPL	1p34	Signalisation	Récepteur à la TPO. Activation constitutive de la voie JAK/STAT5	Exon 10 Mais mutations sur tous exons (en particulier SMP triples -)	Substitutions	0	3	10	-	Non détaillé ici cf.I.D.1.b) MPL
CALR	19p13.2	Protéine chaperonne	Activation constitutive de la voie JAK/STAT5	Exon 9	Délétion et insertion	0	20	25	-	Non détaillé ici cf.I.D.1.c) CALR

LNK tel que SH2B3	12p24.12	Signalisation	Régule négativement la voie de JAK2	Tous exons mais hotspot exon 2	Substitution et Frameshifts	1	3	5	11	Non détaillé ici cf.I.E.2 Mutation du gène SH2B
RAS KRAS HRAS NRAS	- 12p12.1 11p15.5 1p13.2	Signalisation	Signalisation ERK/MAPK. Protéines à activité GTPase	Hotspots acides aminés G12, G13 et Q61	Substitutions	rare	1	5	9	Pronostic défavorable dans tous les SMP (Grinfeld, NEJM 2018)
CBL	11q23.3	Signalisation	Ubiquitine ligase régulation négative JAK2	Hotspot exons 8-9	Mutation de type perte de fonction	2	2	6	4	Pronostic défavorable dans tous les SMP (Grinfeld, NEJM 2018)
NF1	17q11	Signalisation	GTPase régulant négativement voie RAS	Tous exons	Tous types	3	0	2	7	-
ASXL1	20q11.1	Régulation épigénétique	Modifications des histones. Rôle de coactivateur de facteurs de transcription et de répresseurs de la transcription	Tous exons mais hotspot exon 12	Frameshift et nonsense	-	3	13	18	Pronostic défavorable dans la MFP (Vannucchi Leukemia 2013 and Gugliemelli JCO 2018) et dans tous les SMP (Grinfeld, NEJM 2018)

EZH2	7q36.1	Régulation épigénétique	Méthylation Histone H3K27 (enzyme de PRC2)	Tous exons	Tous types	1	1	7	11	Mutation avec rôle suppresseur de tumeur. Pronostic défavorable dans la MFP (Vannucchi Leukemia 2013 and Gugliemelli JCO 2018) et dans tous les SMP (Grinfeld, NEJM 2018)
KMT2C	7q36	Régulation épigénétique	Méthylation Histone H3K4	Tous exons	Nonsense et frameshift	rare			-	-
IDH1	2q33.3	Régulation épigénétique	Production de l'αKT (co- facteur TET2). Néo-enzymes mutées produit 2-HG	R132 hotspot	Substitutions	2	1	4	13	IDH muté induit la perte de l'activité de conversion de l'isocitrate en 2-KG et le gain de conversion du 2-KG en 2-HG Pronostic défavorable dans la MFP (Vannucchi Leukemia 2013 and Gugliemelli JCO 2018) et dans tous les SMP (Grinfeld, NEJM 2018)
IDH2	15q26.1			R140 and R172 hotspots		2	1	4	15	
TET2	4q24	Régulation épigénétique	Hydroxylation des 5-me-cytosines	Tous exons	Tous types	16	5	17	17	Absence d'impact pronostique dans la littérature. Les mutations d'IDH et de TET2 pourraient partager un effet pathogénique commun
DNMT3A	2p23	Régulation épigénétique	Méthylation des cytosines	Tous les exons et R882 hotspot	Tous types	7	2	8	14	Essentiel pour établir et maintenir les motifs de méthylation de l'ADN chez les mammifères.

SRSF2	17q25.1	Épissage ARNm	Fixation sur site accepteur 3'	P95 hotspot	Substitutions	rare		17	20	Muté, induit des épissages alternatifs. Pronostic défavorable dans la MFP (Vannucchi Leukemia 2013 and Gugliemelli JCO 2018) et dans tous les SMP (Grinfeld, NEJM 2018)
SF3B1	2q33.1	Épissage ARNm	Fixation sur site de branchement de l'intron	Exon 14 - 16 hotspots	Substitutions	3	rare	5	12	Pronostic défavorable dans la TE (Tefferi, Blood Advances 2016)
U2AF1	21q22.3	Épissage ARNm	Fixation sur site de branchement de l'intron	S34 et Q157 hotspots Tous types	Substitutions	rare		16	8	Pronostic défavorable dans la MFP (Tefferi, JCO 2018) et dans tous les SMP (Grinfeld, NEJM 2018)
NFE2	12q13	Facteur de transcription	Régulation différenciation des lignées érythroïdes et mégacaryocytaires	E261Afs*3 hotspot Tous exons	Tous types	2	2	-	-	Pronostic défavorable dans les SMP (Marcault, Blood 2021)
TP53	17p13.1	Cycle cellulaire	Facteur de transcription en réponse aux dommages de l'ADN	Exon 2 à 12	Tous types	rare (très faible VAF)		16 à 50		Pronostic défavorable dans tous les SMP avec un risque accru de transformation en LAM (Grinfeld, NEJM 2018) Impact inconnu des mutations de faible charge allélique
CHEK2	22q12	Cycle cellulaire	Kinase activant p53	Tous exons	Tous types	rare				-
PPM1D	17q23	Cycle cellulaire	Phosphatase régulant négativement p53	Exon 6 hotspot	Nonsense et frameshift	1	1	-	-	-

PB : Phase blastique, PC : Phase Chronique.

L'architecture clonale étudiée par des techniques de « single-cell » a révélé la complexité de la hiérarchie clonale, qui reste cependant plus simple que dans les leucémies aiguës myéloïdes (LAM), mais plus complexe dans les hématopoïèses clonales de signification indéterminée (CHIP). Cette complexité clonale est souvent associée à des formes à haut risque d'évolution vers des pathologies fibrotiques et/ou blastiques.

De plus, l'impact de l'ordre d'acquisition des mutations dans les maladies myéloprolifératives est un sujet d'étude depuis plusieurs années. Comprendre comment les mutations s'accumulent et influencent la progression de la maladie est essentiel. À cet égard, l'article de D. Luque Paz (2023) apporte un éclairage précieux en identifiant quatre profils distincts de patients selon l'ordre d'acquisition des mutations.

Le profil 1 est caractérisé par la présence de mutations supplémentaires, principalement dans des clones différents. Dans ce cas, il s'agit généralement de thrombocythémie essentielle. Ici, les mutations de *JAK2* coexistent avec d'autres mutations, mais dans des clones séparés, ce qui suggère une interaction limitée entre *JAK2* et les mutations additionnelles. Cette séparation clonale peut influencer la progression de la maladie de manière distincte comparée aux autres profils.

Le profil 2 est caractérisé par une mutation *TET2* qui survient souvent après celle de *JAK2*, et ce scénario est principalement observé dans la PV. L'ordre d'acquisition de ces mutations semble jouer un rôle clé dans le développement et l'évolution clinique de la PV.

Le troisième profil montre que la mutation de *TET2* est généralement acquise avant celle de *JAK2*. Ce profil est principalement associé à la TE et, dans une moindre mesure, à la myélofibrose. L'ordre d'apparition des mutations dans ce contexte peut affecter la biologie clonale de la maladie et son évolution.

Le dernier profil est le plus hétérogène et inclut la présence de gènes retrouvés dans les SMD, des SMD/SMP ou les leucémies aiguës. Ce profil est principalement associé à la MF, suggérant une pathogénèse plus complexe et un potentiel évolutif plus agressif. Les interactions entre les mutations dans ce groupe peuvent être plus variées, reflétant une diversité de trajectoires évolutives et des besoins thérapeutiques plus spécifiques..^{159,169}

3. SMP triple négatif

En l'absence de mutation promotrice (*JAK2V617F*, *MPLW515L/K* ou *CALR* exon 9) on parle de SMP triple négatif. Dans les TE, cela correspond à environ 15% des cas¹⁷⁰. Le critère mineur est requis pour ces TE triples négatives, il peut consister en la mise en évidence d'un marqueur de clonalité ou l'absence de cause réactionnelle à la thrombocytose. Le marqueur de clonalité peut être une anomalie cytogénétique clonale (rare) ou une anomalie moléculaire somatique autre que les mutations promotrices décrites ci-dessus (cf.I.D.2). Ces mutations sont similaires aux mutations additionnelles (cf.Tableau 8). Chez les patients triples négatifs il a été montré que la voie JAK/STAT était activée en absence de mutation sur les trois gènes principalement impliqués dans les SMP.¹⁷¹

Dans les MFP parmi les gènes les plus souvent mutés sont retrouvés *TET2*, *ASXL1* et *DNMT3A* qui sont présents chez plus de la moitié des patients atteints de SMP. Les mutations affectant les régulateurs d'épissage (*SRSF2*, *SF3B1*, *U2AF1*) et d'autres régulateurs de la structure de la chromatine, des fonctions épigénétiques et de la signalisation cellulaire (par exemple *EZH2*, *IDH1*, *IDH2*, *CBL*, *KRAS*, *NRAS*, *STAG2*, *TP53*) sont moins courantes dans les SMP. Ces mutations supplémentaires sont plus fréquentes dans les cas des MFP et dans les cas de maladies avancées que dans les cas de PV et de TE, et certaines sont connues pour être corrélées à un risque pronostique plus sombre³⁵. Toutefois, ces gènes ne sont pas spécifiques de la MFP car ils sont aussi fréquemment mutés dans les SMD, les formes mixtes SMD/SMP et plus rarement dans les autres syndromes myéloprolifératifs, ce qui impose toujours l'élimination des diagnostics différentiels (critère majeur 2 - Tableau 3). Un gène fréquemment muté dans ces SMP triples négatifs ou parfois co-muté avec des mutations promotrices est le gène *SH2B3*, pour lequel de nombreux variants n'ont pas encore été testés fonctionnellement et ne permettent donc pas d'affirmer leur pathogénicité.

E. SH2B3

SH2B3, qui code pour la protéine adaptatrice LNK (lymphocyte adaptor protein), joue un rôle crucial en tant que régulateur négatif de l'hématopoïèse normale. Des variants génétiques de *SH2B3*, qu'elles soient acquises ou héritées, ont récemment été identifiées dans les

syndromes myéloprolifératifs (SMP), les leucémies lymphoïdes, ainsi que dans d'autres maladies hématologiques non malignes, démontrant l'importance de LNK dans ces processus pathologiques.

1. Gène

a) Généralités

Le gène SH2B3 (OMIM 605093) est situé sur le chromosome 12q24.12 et se compose de huit exons. Il code pour la protéine LNK, qui partage des domaines d'homologie avec les deux autres membres de la famille SH2B/LNK : APS (Adaptor Protein with PH and SH2 Domains, également connu sous le nom de SH2B2) et SH2-B (appelé aussi SH2B1). Ces protéines possèdent toutes trois domaines fonctionnels :

- DD : domaine de dimérisation et des motifs riches en prolines en N-terminal
- PH : domaine central Pleckstrin d'homologie, important pour la liaison aux phospholipides membranaires, permettant ainsi la localisation intracellulaire des protéines de signalisation et facilitant leur interaction avec les complexes de signalisation.
- SH2 : domaine Src homologie 2, essentiel pour les interactions protéine-protéine en reconnaissant spécifiquement les résidus tyrosine phosphorylés, jouant un rôle clé dans la propagation des signaux activés par les protéines tyrosine kinases.

On retrouve des motifs riches en prolines entre le domaine de dimérisation et le domaine PH, ainsi que des tyrosines et sérines pouvant être phosphorylées.^{172,173}

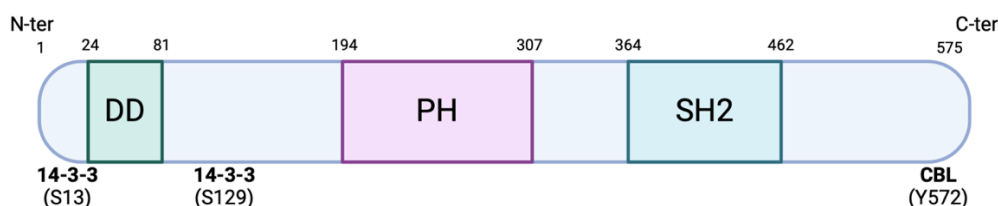


Figure 13 - Représentation de la protéine LNK avec ses trois domaines fonctionnels DD (domaine de dimérisation), PH (domaine central Pleckstrin d'homologie), SH2 (domaine Src homologie 2) et ses sites de fixation aux protéines CBL et 14-3-3.

Entre le domaine de dimérisation et le domaine PH, on retrouve des motifs riches en prolines ainsi que des résidus tyrosine et sérine qui peuvent être phosphorylés. Pour simplifier la terminologie dans cette thèse, la protéine sera désignée par LNK, tandis que le

gène sera appelé *SH2B3*. LNK est une protéine de 63 kDa, composée de 575 acides aminés, dont plusieurs résidus sérine et tyrosine répartis sur toute la protéine et pouvant être phosphorylés *in vivo*.^{172,174} Bien que son expression ait été observée dans les neurones et les cellules endothéliales, LNK est principalement exprimée dans les cellules et tissus hématopoïétiques, y compris les cellules souches hématopoïétiques (CSH), les progéniteurs lymphoïdes et myéloïdes, ainsi que dans certains tissus non hématopoïétiques tels que les testicules, les muscles et le cerveau. Contrairement à LNK, les autres membres de la famille (APS et SH2-B) présentent une expression plus ubiquitaire avec plusieurs isoformes résultant d'épissages alternatifs : deux isoformes pour APS et quatre pour SH2-B.¹⁷²

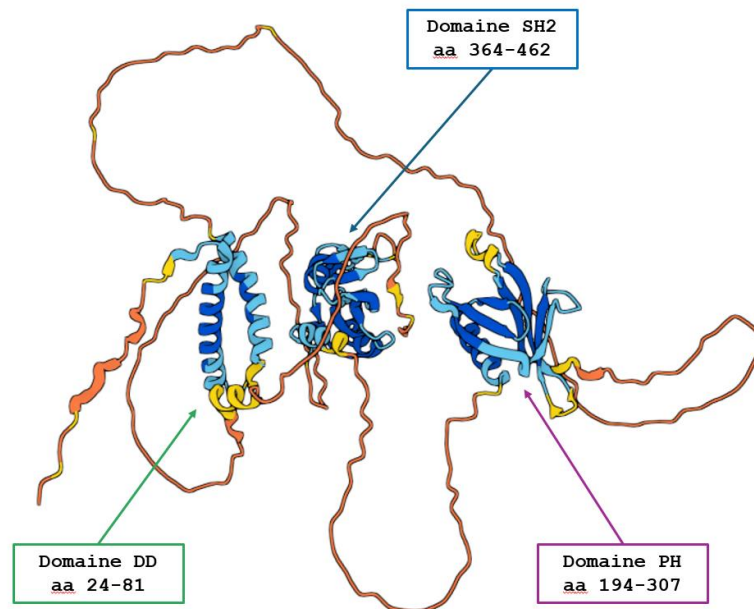


Figure 14 - Structure de LNK (*SH2B3*). L'architecture des domaines de LNK complet (prédiction d'AlphaFold) comprend trois domaines fonctionnels. Le premier est un domaine de dimérisation (DD), un domaine central d'homologie de pleckstrine (PH) et un domaine SH2 C-terminal (SH2).

b) Domaines fonctionnels

1- Région N-terminale :

La région N-terminale de LNK est la moins conservée parmi les protéines de la famille. Des études de cristallographie sur APS et SH2-B ont montré que le domaine de dimérisation (DD) situé en N-terminal est essentiel pour l'homodimérisation et l'hétérodimérisation des protéines, ce qui module l'activité tyrosine kinase. Bien que LNK puisse également

s'homodimériser, cela n'a été observé que dans des modèles surexprimés et sa pertinence fonctionnelle n'est pas encore claire.¹⁷⁵ Ce domaine représente environ 60 acides aminés. Les études biochimiques et d'imagerie ont révélé qu'une petite portion de LNK se localise à la membrane plasmique, tandis que la majorité de la protéine reste dans le cytoplasme, en particulier dans la région périnucléaire. La région N-terminale joue un rôle clé non seulement dans la dimérisation, mais aussi dans l'interaction et la régulation de partenaires tels que la kinase JAK2 et le récepteur EPOR.¹⁷⁶ Les motifs riches en proline de cette région permettent également l'interaction avec d'autres protéines contenant des domaines SH3, comme celles impliquées dans la régulation du cytosquelette d'actine.¹⁷⁷

2- Domaine PH

Le domaine PH est composé d'environ 120 acides aminés et montre une forte homologie avec APS. Ce domaine se lie aux groupes chargés des polyphosphoinositides spécifiques, ce qui régule la localisation intracellulaire des protéines de signalisation à la membrane plasmique, facilitant leur interaction avec les complexes de signalisation. Il est donc crucial pour la liaison de ces adaptateurs à la membrane plasmique.¹⁷⁸ Des études *in vitro* ont montré que la suppression du domaine PH entraîne une localisation exclusivement cytoplasmique de LNK.¹⁷⁹ *In vivo*, des mutations dans le domaine PH (telles que W191A ou W270A) affectent sa capacité à réguler négativement les voies de signalisation activées par la TPO, l'EPO et le SCF, ainsi que la prolifération des progéniteurs mégacaryocytaires primaires.¹⁸⁰ Des anomalies génétiques dans ce domaine ont été identifiées dans des hémopathies myéloïdes et lymphoïdes, confirmant son rôle crucial dans la fonction régulatrice de LNK.

3- Domaine SH2

Ce domaine d'environ 100 acides aminés joue un rôle essentiel dans les interactions protéine-protéine, spécifiquement dans la signalisation dépendante des protéines tyrosine kinases, en reconnaissant les résidus tyrosine phosphorylés. Le domaine SH2 identifie des motifs courts autour d'un résidu tyrosine phosphorylé, permettant une spécificité pour différentes cibles phosphorylées. Par exemple, le domaine SH2 de LNK reconnaît spécifiquement la séquence autour de la tyrosine phosphorylée p.Y567 du récepteur

tyrosine kinase Kit, inhibant la voie SCF/Kit, tout en jouant un rôle similaire dans la voie JAK/STAT en interagissant avec p.Y813 de JAK2. Ainsi, LNK agit comme un inhibiteur des voies de signalisation, régulant négativement la prolifération et la survie cellulaire.

4- Les résidus tyrosine et sérine

La protéine LNK possède plusieurs sites de phosphorylation sur des résidus tyrosine, sérine et, plus rarement, thréonine. Ces sites sont cruciaux pour sa fonction régulatrice, servant d'ancrage aux effecteurs impliqués dans les complexes de signalisation. Un résidu tyrosine conservé (Y536) en C-terminal est phosphorylé après interaction avec le récepteur Kit activé par SCF dans les mastocytes, jouant un rôle dans la prolifération cellulaire et l'érythropoïèse, bien que cette phosphorylation ne soit pas essentielle pour toutes les voies de signalisation.

¹⁸¹⁻¹⁸³ Il a été montré que LNK est phosphorylé sur deux résidus sérine (S13 et S129) servant de sites de liaison pour 14-3-3, ce qui inhibe l'interaction LNK-JAK2 et maintient LNK inactif modulant l'activité de LNK dans la voie de la TPO.¹⁸⁴ Les autres membres de la famille SH2B sont phosphorylés sur des résidus différents, ce qui renforce l'idée que, bien qu'ils partagent une structure commune et des rôles similaires, leurs fonctions restent distinctes.

c) Fonctions de la protéine LNK dans le système hématopoïétique versant myéloïde

LNK agit comme un régulateur négatif des voies de signalisation intracellulaires activées par les cytokines et les facteurs de croissance qui stimulent la voie JAK/STAT.^{6,185,186} Des études sur des modèles de souris *Lnk*^{-/-} ont montré que l'absence de LNK conduit à une expansion anormale des cellules souches et progénitrices hématopoïétiques (CSH).¹⁸⁷ une sensibilité accrue aux cytokines, et une activation altérée de la voie Ras/MAPK. Ces souris présentent également des signes de splénomégalie, d'hématopoïèse extramédullaire, et d'hyperplasie des mégacaryocytes, des caractéristiques qui ressemblent aux désordres myéloprolifératifs humains. LNK régule particulièrement les voies de signalisation induites par les récepteurs TPO/MPL et EPO/EPOR, qui sont souvent altérées dans les néoplasmes myéloprolifératifs.^{6,185,186}

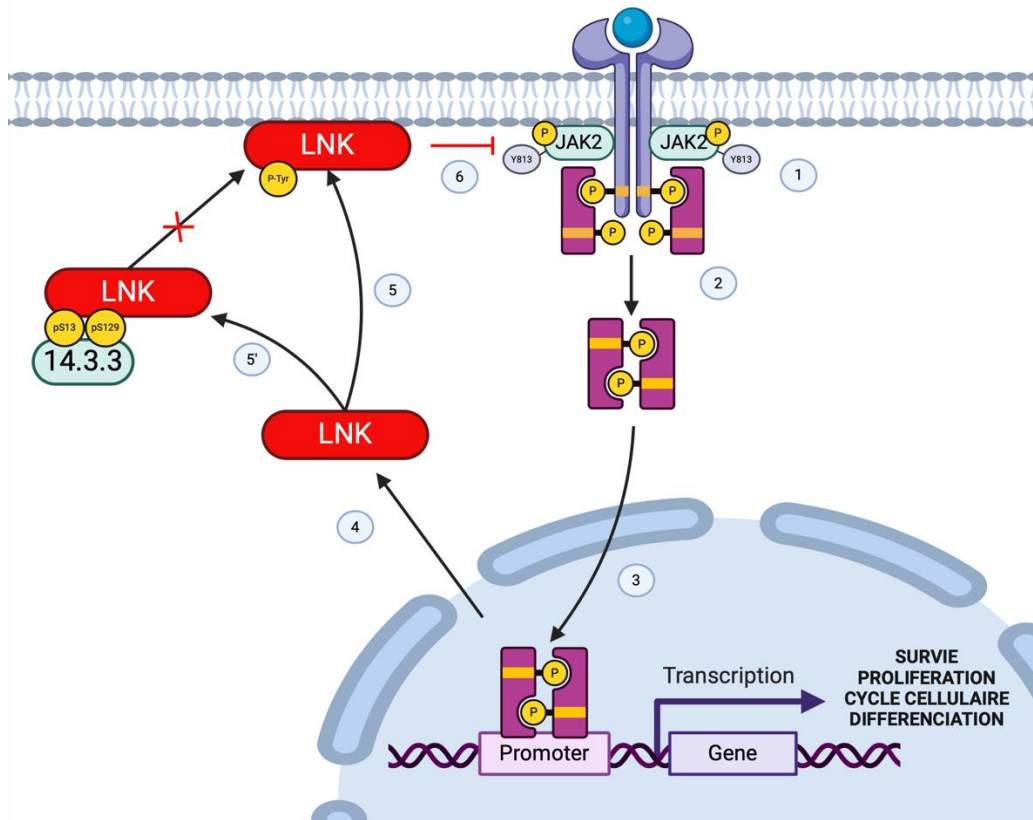


Figure 15 - Schéma simplifié du rôle de LNK dans les voies de signalisation JAK2/STAT. Régulation de la voie de signalisation JAK-STAT par LNK. (1) La liaison de cytokine à leurs récepteurs induit l'activation des kinases JAK2 attachées au récepteur. (2) JAK2 actif phosphoryle les facteurs de transcription STAT. (3) Les homodimères STAT se déplacent dans le noyau et induisent la transcription d'un certain nombre de gènes qui stimulent la prolifération, la différenciation et la survie des cellules. (4) STAT stimule également l'expression de LNK. (5) LNK se localise sur la face interne de la membrane cellulaire via l'interaction du domaine PH avec les lipides membranaires du phosphatidylinositol. Cela permet la liaison du domaine SH2 à JAK2, inhibant ainsi la cascade. (6) un blocage de l'activité LNK par liaison avec la molécule inhibitrice 14-3-3. JAK2 : Janus kinase 2 ; STAT : transducteur de signal et activateur de transcription ; LNK : protéine adaptatrice des lymphocytes ; pS13 : phosphosérine 13 ; pS129 : phosphosérine 129. Figure créée avec BioRender.com.

1- La voie de signalisation TPO/MPL

LNK est un régulateur négatif clé de la voie de signalisation de la TPO via son récepteur MPL, essentielle pour le développement des CSH et des progéniteurs myéloïdes, ainsi que pour la lignée mégacaryocytaire. Les souris déficientes en LNK montrent des anomalies dans ces lignées cellulaires, confirmant le rôle inhibiteur de LNK dans cette voie. LNK régule l'auto-renouvellement, la quiescence, la prolifération et l'apoptose des CSH stimulées par la TPO.

^{185,186} L'absence de LNK entraîne une augmentation du nombre de CSH et de leur capacité de reconstitution du pool hématopoïétique. De plus, LNK inhibe l'activation des voies JAK2/STAT5, AKT, et Bcl-xL, tout en modulant négativement p38 MAPK dans la lignée mégacaryocytaire. La voie TPO/MPL/JAK2 induit l'expression de LNK, ce qui entraîne une

rétro-régulation négative de cette voie. LNK s'associe à JAK2 et MPL activés, principalement via les résidus Y813 (et Y613) dans le domaine pseudokinase de JAK2, ce qui induit sa phosphorylation et son interaction régulée avec JAK2 est contrôlée par la protéine 14-3-3, qui empêche l'activation excessive de JAK2.¹⁸⁴

2- La voie EPO/EPOR

LNK est également un régulateur négatif essentiel de la voie de signalisation de l'EPO et de son récepteur EPOR, qui joue un rôle fondamental dans l'érythropoïèse. Les souris dépourvues de LNK présentent une hyperprolifération des progéniteurs érythroïdes dans la moelle osseuse et la rate, en raison d'une hypersensibilité à l'EPO.^{182,188} Cependant, leur hémocrite reste normal, ce qui suggère un mécanisme compensatoire par d'autres membres de la famille LNK. LNK inhibe la signalisation via EPOR en diminuant l'activation des voies JAK2/STAT5, MAPK, et AKT, ce qui modère la prolifération érythroïde.¹⁸² Le domaine SH2 de LNK est indispensable pour cette régulation, tandis que les domaines PH et les résidus tyrosine conservés en C-terminal ne sont pas essentiels. Après stimulation par l'EPO, LNK s'associe au complexe de signalisation via JAK2, ce qui entraîne sa phosphorylation et l'inhibition ultérieure des voies de signalisation activées.

3- Rôle entre CBL et LNK

Une étude a révélé que LNK agit comme un adaptateur entre CBL et JAK2, facilitant l'ubiquitination et la dégradation de JAK2. Ce complexe CBL-LNK-JAK2 joue un rôle crucial dans la régulation de la stabilité et de l'activité de JAK2, confirmant l'implication de LNK dans la modulation de la signalisation oncogénique. La phosphorylation de LNK et son interaction avec JAK2 améliore l'inhibition de JAK2 médiée par CBL, suggérant un rôle direct de LNK dans la régulation de la signalisation JAK/STAT.¹⁷⁵

2. Mutations du gène *SH2B3*

La plupart des mutations identifiées dans *SH2B3* sont des mutations faux-sens affectant divers exons, particulièrement l'exon 2 qui code pour le domaine PH. Ces mutations peuvent

être hypomorphes (réduisant le niveau d'activité de la protéine) ou perte de fonction, comme le suggèrent les analyses structurelles et les prédictions bioinformatiques. Elles sont présentes dans tous les sous-types de syndromes myéloprolifératifs, indiquant leur rôle potentiel dans l'initiation ou la progression de ces maladies. Les mutations de *SH2B3* peuvent coexister avec des mutations dans des gènes conducteurs tels que *JAK2*, *MPL*, et *CALR*, ainsi qu'avec d'autres mutations dans des gènes comme *TET2* et *CBL*, suggérant une coopération pour induire un phénotype de néoplasme myéloprolifératif.

Des études, comme celle d'Oh et al., ont identifié les premières mutations de *SH2B3* chez des patients atteints de néoplasmes myéloprolifératifs sans la mutation *JAK2V617F*, révélant l'importance de *SH2B3* dans ces contextes. Ils ont montré que ces mutations peuvent apparaître ou augmenter lors de la progression de la maladie, suggérant un rôle potentiel dans la transformation leucémique des syndromes myéloprolifératifs. D'autres études résumées dans le Tableau 9 ont également identifié des mutations de *SH2B3* chez des patients atteints de SMP, souvent accompagnées de la mutation *JAK2V617F*, en contraste avec les découvertes initiales d'Oh et al. où les mutations *SH2B3* étaient présentes en l'absence de *JAK2V617F*. Ces mutations sont généralement somatiques, et elles peuvent être acquises seules ou séquentiellement dans le même clone cellulaire que le clone muté avec une mutation driver. Enfin, une étude a identifié plusieurs nouvelles mutations *SH2B3* parmi une cohorte de patients atteints de SMP, avec certaines mutations présentes à des fréquences alléliques suggérant une possible origine constitutionnelle. Dans une autre étude, 320 patients MPN ont été examinés, révélant un taux de mutations de *SH2B3* de 6,9 %, souvent en association avec des mutations dans les gènes *JAK2*, *CALR* et *MPL*.^{189,190}

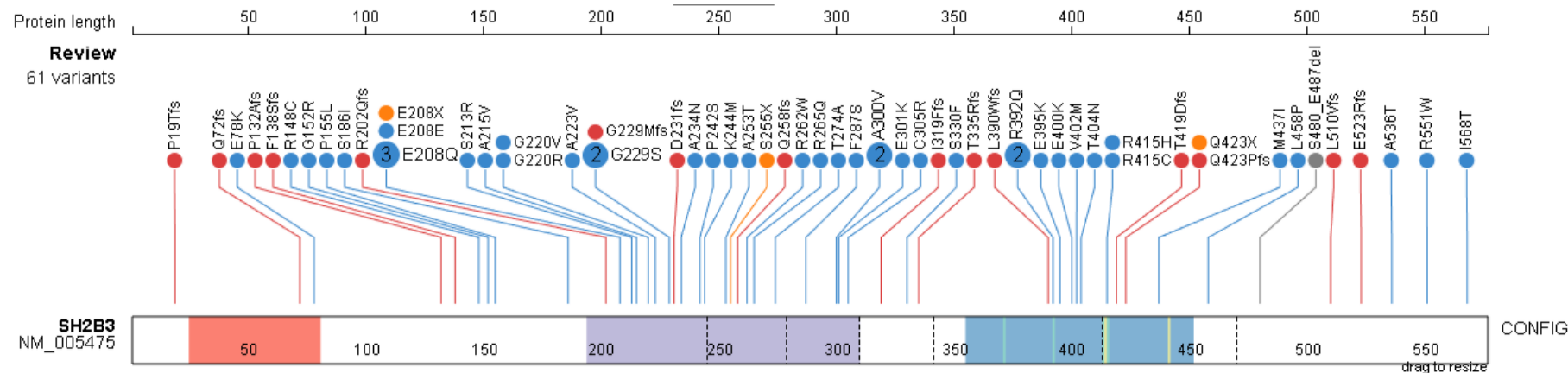
Tableau 9 - Résumé des mutations retrouvés dans la littérature de SH2B3/LNK

Domaine	Exon	Colonne1	Mutation	Type de mutation	Position structurale	Pathologie	Mutation driver	Références
DD	2	c.55_163del	P19Tfs*142	Frameshift	ND	TE	MPLW515K	(Maslah et al., 2017)
	2	1 bp del	Q72fs	Frameshift	FZ	LMMC	Nég	(Oh et al., 2010)
N-ter	2	c.232G>A	E78K	Faux-sens	FZ	EI	Nég	(McMullin et al., 2011)
	2	c.393dupG	P132Afs*40	Frameshift	ND	préMF	Nég	(Feldpausch et al., 2018)
	2	c.413_419 delITTCGCCG	F138Sfs*57	Frameshift	ND	MFP	JAK2V617F	(Maslah et al., 2017)
	2	c.442C>T	R148C	Faux-sens	ND	MFP	JAK2V617F	(Maslah et al., 2017)
	2	c.456A>G	G152R	Faux-sens	ND	TE	Nég	(Baran-Marszak et al., 2010)
	2	c.464C>T	P155L	Faux-sens	ND	EI	Nég	(Spolverini et al., 2013)
	2	c.558G>T	S186I	Faux-sens	ND	MFP/LMMC	Nég	(Oh et al., 2010)
	2	c.603_607 delGCGCT	R202Qfs*64	Frameshift	ND	MFP	Nég	(Oh et al., 2010)
	2	c.622G>C	E208Q	Faux-sens	$\beta 1$ – $\beta 2$ loop	TE/EI/LMMC	Nég	(Oh et al., 2010) (Spolverini et al., 2013)
	2	c.622G>C	E208Q	Faux-sens	$\beta 1$ – $\beta 2$ loop	MFP	CALRmut	(Oh et al., 2010) (Spolverini et al., 2013)
PH	2	c.622G>C	E208Q	Faux-sens	$\beta 1$ – $\beta 2$ loop	TE/PV	JAK2V617F	(Lasho et al., 2010)
	2	c.622G>T	E208X	Non-sens	$\beta 1$ – $\beta 2$ loop	EI	Nég	(Lasho et al., 2010)
	2	c.622G>A	E208E	Silencieuse	$\beta 1$ – $\beta 2$ loop	PV/LAM	JAK2V617F	(Pardanani et al., 2010)
	2	c.639C>A	S213R	Faux-sens	$\beta 1$ – $\beta 2$ loop	EI/ MF post PV	Nég	(Spolverini et al., 2013)
	2	c.644C>T	A215V	Faux-sens	$\beta 1$ – $\beta 2$ loop	EI/MFP/LAM	Nég	(Lasho et al., 2010) (Pardanani et al., 2010)
	2	c.658G>A	G220R	Faux-sens	$\beta 2$ strand	MFP	JAK2V617F	(Pardanani et al., 2010)
	2	c.658G>T	G220V	Faux-sens	$\beta 2$ strand	MFP	Nég	(Pardanani et al., 2010)

PH-SH2	2	c.668C>T	A223V	Faux-sens	β 2 strand	MFP/LAM	Nég	(Pardanani et al., 2010)
	2	c.685G>A	G229S	Faux-sens	β 2– β 3 loop	MFP/LAM	JAK2V617F	(Pardanani et al., 2010)
	2	c.685_691 delGGCCCCG	G229Mfs*47	Frameshift	β 2– β 3 loop	PV/LAM EI	JAK2V617F	(Lasho et al., 2010) (Pardanani et al., 2010)
	2	c.685G>A	G229S	Faux-sens	β 2– β 3 loop	MFP/LAM	JAK2V617F	(Pardanani et al., 2010)
	2	c.690_691 insGGCCCCG	D231fs*38	Frameshift	β 2– β 3 loop	TE-like	Nég	(Soderquist et al., 2015)
	2	c.700G>A	A234N	Faux-sens	β 2– β 3 loop	MFP/LAM	Nég	(Pardanani et al., 2010)
	2	c.724 C>T	P242S	Faux-sens	β 2– β 3 loop	NMP	Nd	(Ha and Jeon, 2011) (Chen et al., 2016)
	2	c.731 A>T	K244M	Faux-sens	β 4 strand	MFP	JAK2V617F	(Maslah et al., 2017)
	2	c. 757G>A	A253T	Faux-sens	β 4 strand	TE	JAK2V617F	(Maslah et al., 2017)
	2	c.764_765 delInsG	S255X	Frameshift	ND	MFP	JAK2V617F	Newton-Cheh C et al. 2009
	2	c.772delC	Q258fs*20	Frameshift	β 5 strand	MFP	JAK2V617F	(Maslah et al., 2017)
	2	c.784 T>C	R262W	Faux-sens	β 5 strand	TE/MFP	Pos et Nég	(Lesteven et al., 2014) (Ha and Jeon, 2011)
	3	c.794G>A	R265Q	Faux-sens	β 5 strand	MFP	JAK2V617F	(Maslah et al., 2017)
	3	c.820A>G	T274A	Faux-sens	β 6 strand	EI	Nég	(Spolverini et al., 2013)
	4	c.860T>C	F287S	Faux-sens	β 7 strand	PV	JAK2V617F	(Hurtado et al., 2011)
	4	c.899C>T	A300V	Faux-sens	α -Helix	PV	Nég	(Chen et al., 2016)
	4	c.899C>T	A300V	Faux-sens	α -Helix	TE	JAK2V617F	(Chen et al., 2016)
	4	c.901G>A	E301K	Faux-sens	α -Helix	EI	Nég	(Camps et al., 2016)
	4	c.913T>C	C305R	Faux-sens	α -Helix	MFP	JAK2V617F	(Maslah et al., 2017)
	5	c.955_delA	I319Ffs	Frameshift	ND	PV/LAM	JAK2V617F	(Pardanani et al., 2010)
SH2	5	c.989C>T	S330F	Faux-sens	ND	PV	JAK2V617F	(Maslah et al., 2017)
	5	c.1004_1005del	T335RfsX4	Frameshift	ND	EI	Nég	(Vermeersch et al., 2023)
	6	c.1168delC	L390Wfs*21	Frameshift	ND	MFP	CALRmut	(Maslah et al., 2017)

C-ter	6	c.1175G>A	R392Q	Faux-sens	βB strand	MFP	JAK2V617F	(Maslah et al., 2017)
	6	c.1175G>A	R392Q	Faux-sens	βB strand	MF post TE	MPLW515K	(Maslah et al., 2017)
	6	c.1183GWA	E395K	Faux-sens	βB strand	TE	MPLW515K	(Maslah et al., 2017)
	6	c.1198G>A	E400K	Faux-sens	βC strand	EI	Nég	(McMullin et al., 2011)
	6	c.1204G>A	V402M	Faux-sens	βC strand	TE/MFP	JAK2V617F	(Chen et al., 2016)
	6	c.1211C>A	T404N	Faux-sens	βC strand	MFP	Nég	(Maslah et al., 2017)
	6	c.1243C>T	R415C	Faux-sens	βC strand	EI	Nég	(Camps et al., 2016)
	6	c.1244G>A	R415H	Faux-sens	βC strand	PV	JAK2V617F	(Chen et al., 2016)
	7	c.1254dupG	T419Dfs*37	Frameshift	ND	MFP	CALRmut	(Maslah et al., 2017)
	7	c.1267dupG	Q423Pfs*33	Frameshift	ND	MF post TE	Nég	(Maslah et al., 2017)
	7	c.1267C>T	Q423X	Non-sens	ND	TE	JAK2V617F	(Ha and Jeon, 2011)
	7	c.1311G>A	M437I	Faux-sens	αB helix	TE	Nég	(Maslah et al., 2017)
	7	c.1373T>C	L458P	Faux-sens	ND	MF post PV	JAK2V617F	(Hurtado et al., 2011)
	7	c.1566dupC	E523RfsX23	Frameshift	ND	MFP	Nég	(Hurtado et al., 2011)
	7	c.1795_1818del	S480_E487del	Frameshift	ND	MFP	Nég	(Hurtado et al., 2011)
	8	c.1884_1885insG(+) 1885C>T	L510VfsX35(+) L510F/CT	Frameshift	ND	TE	Nég	(Hurtado et al., 2011)
	8	c.1606G>A	A536T	Faux-sens	ND	PV	Nd	(Ha and Jeon, 2011)
	8	c.1651C>T	R551W	Faux-sens	ND	MFP	JAK2V617F	(Ha and Jeon, 2011)
	8	c.1703T>C	I568T	Faux-sens	ND	PV	JAK2V617F	(Ha and Jeon, 2011)

DD (domaine de dimérisation), dup (duplication), EI (érythrocytose idiopathique), fs (décalage de cadre), FZ (fermeture éclair en phénylalanine), JAK2 (kinase 2 activée par Janus), LMMC (leucémie myélomonocytaire chronique), MF (myélofibrose), MFP (myélofibrose primitive), ND (pas fait), NT (extrémité amino-terminale), pb (paire de bases), PH (homologie Pleckstrin), PV (polyglobulie vraie), SH2 (homologie Src 2), TE (thrombocytémie essentielle).



LEGEND

PROTEIN

- Phe_ZIP Phenylalanine zipper [CDD](#) [Pfam](#)
- PH_SH2B_family SH2B adapter protein 1, 2, and 3 Pleckstrin homology (PH) domain [CDD](#)
- SH2_SH2B3 Src homology 2 (SH2) domain found in SH2B adapter proteins (SH2B1, SH2B2, SH2B3) [CDD](#)
- other phosphotyrosine binding pocket [polypeptide binding]
- other hydrophobic binding pocket [polypeptide binding]

▼ add protein domain

Review

Mutation 42 MISSENSE 15 FRAMESHIFT 3 NONSENSE 1 PROTEINDEL

Figure 16 - Résumé des mutations retrouvées dans la littérature de LNK (PeCan – St Jude)

3. Implication en oncologie

1- Myéloïde

Des mutations de *SH2B3* ont été rapportées chez 5 % à 7 %¹⁹¹ des patients atteints de néoplasmes myéloprolifératifs, incluant environ 13 % de cas transformés en leucémie aiguë myéloïde (LAM), ainsi que chez les patients présentant une érythrocytose idiopathique (EI) avec des taux d'érythropoïétine inférieurs à la normale et dans les syndromes myélodysplasiques/myéloprolifératifs (SMD/SMP) tels que la leucémie myélomonocytaire chronique (LMMC). Ces mutations peuvent être somatiques ou germinales, souvent monoalléliques, mais parfois bialléliques avec des pertes de fonction de LNK.¹⁷²

Les premières études sur LNK ont montré une expression accrue des cellules CD34+ et des plaquettes des patients SMP. LNK interagit avec JAK2 de type sauvage et JAK2V617F via son domaine SH2 et son domaine N-terminal, et cette interaction est renforcée par la mutation *JAK2V617F*. Fonctionnellement, LNK inhibe la signalisation de JAK2V617F dans les cellules hématopoïétiques de manière dose-dépendante, suggérant que des altérations simultanées de *JAK2* et *SH2B3* peuvent favoriser la transformation des cellules mutantes, comme observé dans des modèles murins de PV *JAK2V617F*. Les souris déficientes en LNK montrent une hyperactivation des voies de signalisation et une expansion des progéniteurs myéloïdes, conduisant à des SMP potentiellement plus agressifs. LNK se lie également aux récepteurs MPL mutés (MPLW515L) et inhibe l'activation de JAK2, STAT3, ERK, et AKT, démontrant son rôle de suppresseur de tumeur en empêchant la transformation oncogénique dans les SMP.

Des mutations de LNK sont plus fréquentes dans les transformations leucémiques post-SMP¹⁹² et dans certaines érythrocytoses idiopathiques. Par exemple, le variant LNK-E208Q inhiberait partiellement la prolifération cellulaire activée par des cytokines en présence de JAK2 de type sauvage, mais pas avec JAK2V617F, indiquant une coopération possible dans les SMP familiaux. La découverte de mutations de *SH2B3* dans l'érythrocytose idiopathique (EI) est significative, car cette maladie non maligne se caractérise par une augmentation des globules rouges sans preuve de néoplasme myéloprolifératif. Tefferi et al. ont d'abord

identifié des mutations de LNK dans l'EI, notamment une mutation non-sens (p.E208X) et une mutation faux-sens (p.A215V), d'origine acquise.

Des études supplémentaires ont révélé des mutations dans des cohortes plus larges, notamment des mutations dans le domaine PH (p.E208Q) et le domaine SH2 (p.E400K) de LNK. Bien que certaines mutations, comme p.E400K, montrent une fonction normale de LNK in vitro, ces études ne suffisent pas à exclure un impact fonctionnel potentiel. Une étude récente a identifié plusieurs variants de LNK (p.E208Q, p.E400K, p.E78K, p.E301K et p.R415C) chez des patients de divers pays, mais l'absence de tests ADN germinaux empêche de déterminer si ces variants sont des SNPs ou des mutations acquises (absente des cellules CD3+).

2- Lymphoïde

Dans les néoplasmes lymphoïdes, tels que la leucémie aiguë lymphoïde (LAL), des mutations de *SH2B3* ont également été identifiées, bien que plus rarement. Ces mutations somatiques, souvent tronquantes, indiquent un rôle de LNK dans la régulation de la signalisation des récepteurs de cytokines, influençant la prolifération et la différenciation des cellules B. Les souris déficientes en LNK ont révélé une expansion sélective des cellules B due à une hypersensibilité au SCF et à l'interleukine-7 (IL-7), régulée négativement par LNK.¹⁹³⁻¹⁹⁴

3- Tumeurs solides

Les mutations de *SH2B3*/LNK, bien que principalement étudiées dans le contexte des SMP et d'autres cancers hématologiques, ont également des implications dans les cancers non hématologiques. LNK régule négativement les voies de signalisation impliquées dans la croissance et la survie cellulaire, telles que les voies JAK-STAT, MAPK, et PI3K-AKT. Lorsque *SH2B3* subit des mutations inactivantes, ces voies peuvent devenir hyperactives, contribuant à une prolifération cellulaire incontrôlée et à une résistance à l'apoptose, caractéristiques des cancers. Dans les cancers solides comme le cancer du sein, du poumon, et colorectal, les altérations de *SH2B3* sont associées à une progression tumorale plus agressive et à un pronostic défavorable. Cela suggère que LNK pourrait agir comme un suppresseur de tumeur dans divers contextes cellulaires, et sa dysfonction pourrait faciliter l'évasion des mécanismes de régulation normaux de la croissance et de la survie cellulaire.

4. Prédispositions aux hémopathies malignes

Les articles examinant les altérations génétiques germinales du gène *SH2B3* mettent en évidence leur rôle potentiel dans la prédisposition aux hémopathies malignes, bien que plusieurs de ces associations n'aient pas encore été formellement démontrées.

Perez-Garcia et al. rapportent des mutations germinales bialléliques de *SH2B3* chez deux enfants, frère et sœur, issus d'une famille consanguine. Dans cette famille, la perte homozygote de *SH2B3* semblait associée à un retard de développement, un retard de croissance et une hépatite chronique. De plus, l'un des enfants a développé une thyroïdite de Hashimoto, une maladie auto-immune typiquement observée chez les femmes adultes d'âge moyen, à l'âge de 4 ans, ainsi qu'une leucémie aiguë lymphoblastique B (LAL-B) à 18 mois. Chez d'autres patients atteints de LAL ainsi que chez des souris transgéniques, il est mis en avant un potentiel rôle coopératif de la signalisation *NOTCH1* et de la perte de *SH3B2* dans la pathogenèse de la LAL-T.¹⁹⁵

Arfeuille et al. décrivent des mutations germinales bialléliques de *SH2B3*, telles que p.P231Gfs*39 et p.T401H, qui semblent prédisposer les individus à une maladie ressemblant à la leucémie myélomonocytaire juvénile (LMMJ). Bien que les observations cliniques montrent une corrélation entre ces mutations et une prolifération myéloïde anormale, la preuve formelle de causalité reste à établir. Ces mutations entraînent une perte de fonction de la protéine LNK, mais le mécanisme exact par lequel elles pourraient provoquer une pathologie similaire à la LMMJ n'a pas été complètement élucidé. Tous les patients ont présenté une résolution clinique spontanée partielle ou complète, mais l'apparition ultérieure de thrombocytémie et de troubles immunitaires demeure une préoccupation.¹⁹⁶

L'étude de Blombery et al. identifie des mutations germinales bialléliques telles que p.R148Pfs*40 et p.V402M dans le gène *LNK*, entraînant une perte de fonction de la protéine LNK. Ces mutations sont associées à un syndrome similaire aux maladies myéloprolifératives et à une dysimmunité multisystémique. Un des patients étudiés a également présenté des événements thrombotiques. Bien que ces mutations aient été retrouvées chez plusieurs familles présentant des phénotypes cliniques similaires, la causalité n'a été formellement

démontrée que par l'utilisation d'un modèle animal, le poisson-zèbre, génétiquement modifié par la technique CRISPR-Cas9, qui a permis de reproduire le phénotype observé chez les patients.¹⁹⁷

Ces différentes études mettent en avant le lien probable entre des mutations germinales et le développement de maladie auto-immune ainsi qu'à des prédispositions à différentes hémopathies myéloïdes.

II. Objectifs et rationnel du projet

LNK est impliqué dans la régulation négative de la voie JAK/STAT5. Les mutations de cette voie sont fréquemment retrouvées dans les syndromes myéloprolifératifs (SMP) non liés à la leucémie myéloïde chronique (LMC). Il est donc important d'examiner les mutations du gène *SH2B3* comme potentielles responsables de divers néoplasmes myéloprolifératifs chez l'adultes, notamment dans la myélofibrose primaire et la thrombocythémie essentielle, ainsi que dans l'érythrocytose idiopathique, en l'absence des mutations promotrices bien connues de *JAK2V617F*, *MPLW515K/L* et *CALR* exon 9.

L'implication des variants du gène *SH2B3* dans les syndromes myéloprolifératifs est discutée dans diverses études. Cette recherche vise à analyser une cohorte de patients pour lesquels des variants ont été détectés au CHU de Lille entre 2021 et 2023.

L'objectif principal de cette thèse est de recenser les variants du gène *SH2B3* et de proposer une aide à leur interprétation. Pour atteindre cet objectif, plusieurs objectifs secondaires ont été définis :

- 1- **Identifier et caractériser les mutations du gène *SH2B3*** dans une cohorte de patients pour lesquels des recherches de mutations dans le cadre de diagnostic de polyglobulie de Vaquez, de thrombocythémie essentielle et de myélofibrose primitive ou secondaire ont été faites.
- 2- **Évaluer la fréquence et l'impact** de ces mutations sur le phénotype clinique et biologique des patients.
- 3- **Analyser par des techniques *in silico*** si l'impact de ces mutations de *SH2B3*.

- 4- **Comparer les mutations de *SH2B3*** trouvées dans les SMP avec celles identifiées dans la littérature.

En combinant des approches cliniques, génétiques et biologiques, cette étude vise à approfondir notre compréhension des rôles des variants de *SH2B3* dans les SMP et à identifier leur pathogénicité.

III. Matériel et méthodes

A. Patients

Dans le cadre de cette étude, les données de séquençage proviennent de 4 580 échantillons de patients de la région Nord et Pas-de-Calais pour lesquels un NGS a été demandé dans le cadre de suspicion de syndromes myéloprolifératifs, la population étudiée se compose de 4162 patients d'individus uniques. En effet parmi ces échantillons, 418 ont été exclus de l'analyse, soit parce que le NGS avait été réalisé à la fois sur la moelle osseuse et le sang du même patient, soit parce qu'il avait été effectué à deux moments distincts pour un même patient.

Sur les 4 162 NGS restants, environ la moitié ($n = 2\,010$) ont révélé des variations du gène *SH2B3*. Cependant, 1 954 de ces variations ont été exclues de l'analyse en raison de leur identification comme SNP (Single Nucleotide Polymorphism), dont 1 695 fois le variant p.W262R. Par conséquent, 61 échantillons ont été retenus pour l'analyse statistique, parmi lesquels 15 patients porteurs d'une mutation promotrice seront étudiés séparément. La technique de séquençage utilisée à Lille (système TWIST par capture séquence uniquement les régions codantes et les sites canoniques d'épissage, elle ne permet pas l'analyse de régions introniques incluant les régions régulatrices. La Figure 17 résume les patients retenus et exclus.

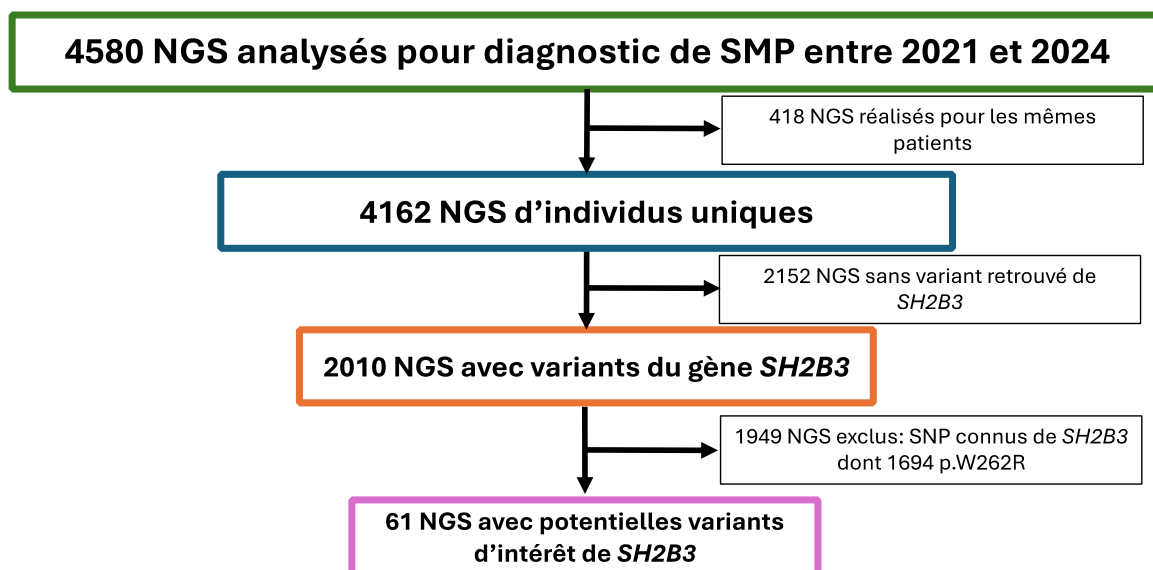


Figure 17 - Flow-chart résumant les échantillons retenus pour l'analyse.

La cohorte finale étudiée se compose donc de 61 patients uniques présentant une variation du gène *SH2B3*, dont 57 % (n=35) sont des femmes et 43 % (n=26) des hommes. L'âge moyen au moment du diagnostic, estimé à partir de la date de réalisation du séquençage de nouvelle génération (NGS), est de 59 ans avec une médiane à 64 ans (21-85), la répartition par tranche d'âge est représentée sur la Figure 18.

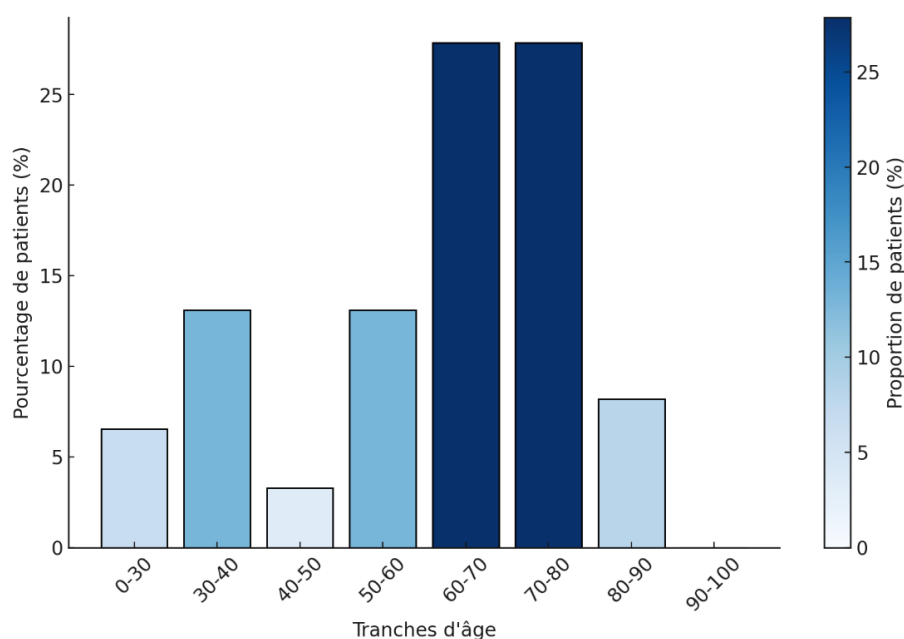


Figure 18 - Distribution des patients par tranche d'âge au diagnostic, avec représentation en pourcentage.

B. Examens biologiques

Hémogramme : Les paramètres de l'hémogramme ont directement été évalués par les centres respectifs. Pour les patients issus du CHU de Lille, l'hémogramme a été prélevé sur des tubes EDTA et réalisé sur des automates XN-9100 SYSMEX®.

Myélogramme : Les myélogrammes ont directement été analysés par les centres respectifs.

Dosage de l'érythropoïétine : Le dosage d'EPO est réalisé au CHU par une technique standard d'immunochimiluminescence.

Fibrose : Le degré de fibrose est établi par les anatomopathologistes des différents centres selon les recommandations officielles selon le consensus européen.

NGS : Le séquençage NGS était réalisé au laboratoire d'Hématologie du CHU de Lille à l'aide d'un design couvrant l'ensemble des exons de 90 gènes d'intérêt sélectionnés pour leur fréquence de mutation dans les syndromes myéloprolifératifs ou leur rôle dans les hémopathies myéloïdes (cf. Annexe 1). Le panel comprend l'étude de SH2B3 (exon 2 à 8), JAK2 (exons 3 à 25), MPL (exons 1 à 12), CALR (exon 9).

Les matrices utilisées sont majoritairement des prélèvements de sang sur tube EDTA, mais parfois de moelle osseuse ou encore des biopsies ostéo médullaires. Les échantillons de sang sur EDTA sont centralisés au laboratoire d'hématologie cellulaire du CHU de Lille. Une fois l'isolement des cellules par technique de lyse réalisée, l'ADN est extrait par technologie Qiagen® et dosé sur TapeStation et Bioanalyseur (Agilent®). La préparation de la librairie pour séquençage comporte une étape de fragmentation aléatoire de l'ADN, de purification par billes magnétiques, ligations d'amorces 55 universelles, enrichissement des régions d'intérêt par capture ou amplification par PCR, normalisation et « poolage » des ADN. Le séquençage à haut débit a ensuite été réalisé sur plateforme NovaSeq (ILLUMINA®) avec un enrichissement préalable par capture TWIST®.

Les fichiers BCL ont été démultiplexés en utilisant bcl2fastq pour les convertir en format FASTQ. Ensuite, fastp a été appliqué pour le trimming et le nettoyage des fichiers FASTQ. Les données ont été alignées sur le génome de référence Hg19 à l'aide de BWA, générant des fichiers BAM. Les logiciels Mutect2 et VarDict (20) ont été utilisés pour détecter les variants ponctuels et créer des fichiers VCF. Les fichiers VCF ont été combinés et annotés avec Anatole pour enrichir les informations.

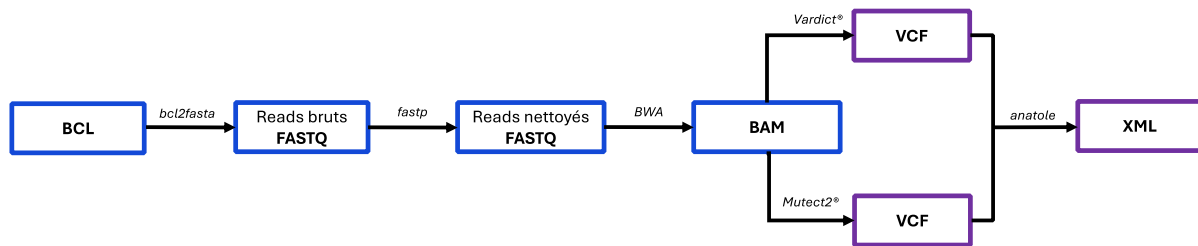


Figure 19 - Vue d'ensemble du pipeline bio-informatique

Les variants sont rendus avec une fréquence allélique (VAF) limite d'environ 1%, soit un minimum de 30 « read » mutés pour une profondeur de séquençage d'au moins 3000 « reads » par gène.

C. Analyses des variants

Annotation du Variant : Le variant génétique identifié, noté selon la nomenclature HGVS comme NM_005896.2.395G>T, a été annoté en utilisant Variant Validator pour confirmer sa validité.

Vérification dans les Bases de Données : Le variant a été vérifié dans les bases de données suivantes :

- ClinVar : Pour déterminer si le variant est répertorié et connaître son interprétation clinique.
- COSMIC (Catalogue Of Somatic Mutations In Cancer) : Pour vérifier la présence du variant dans les tumeurs.

Prédiction des Effets Fonctionnels : Les outils et scores prédictifs suivants ont été utilisés pour évaluer l'impact fonctionnel du variant :

- AlphaMissense : Prédit que le variant est pathogène.
- REVEL : Un score de 0.85 a été obtenu, indiquant que le variant est probablement pathogène.
- CADD-Phred : Un score de 23.5, ce qui suggère un impact élevé sur la fonction de la protéine.

Analyse de l'Épissage :

- SpliceAI : Les scores d'épissage ont été évalués pour déterminer les impacts potentiels du variant sur l'épissage des ARNm.

Caractérisation du Domaine Protéique : Le variant a été localisé dans le domaine fonctionnel de la protéine afin de comprendre son impact potentiel sur la fonction protéique.

Prédiction de la Structure Protéique :

- AlphaFold : Utilisé pour prédire la structure tridimensionnelle de la protéine.

Fréquence Allélique

- VAF (Variant Allele Frequency) : La fréquence allélique du variant a été déterminée pour évaluer sa présence dans la population.

- MAF (Minor Allele Frequency) : La fréquence de l'allèle mineur a été obtenue à partir de la base de données gnomAD pour évaluer la rareté du variant dans différentes populations.

Le type de mutation a été classifié comme suit :

- Substitution faux sens
- Non-sens
- Insertion/délétion avec ou sans décalage du cadre de lecture appelé frameshift lorsqu'il y a un décalage du cadre de lecture
- Mutation d'épissage

Les variants sont ensuite classés selon un niveau de pathogénicité potentiel selon le Tableau 10

Tableau 10 - Classification des variants selon leur pathogénicité suspectée selon l'AMP/ASCO/CAP

Tier I/II (clinical significance)	- Mutations perte de fonction (frameshift ou non-sens ou anomalies d'épissage) ou activatrices (souvent faux-sens) - VAF généralement < 40% (à ne pas considérer si variants germlines possibles) - Base de population saine (GnomAD) : MAF = absent ou très faible (<0.1%) - Base de variants somatiques (COSMIC) : présence probable - Base de variants constitutionnels (ClinVar) : présence ou non - Prédictions in silico (REVEL/Alphamissens...) : généralement délétère - Publications (études fonctionnelles, études cas-témoins...) : preuve irréfutable pour le Tier I (reconnue par la communauté scientifique) ou convaincantes Tier II (ex : plusieurs cas reports)
Tier III (unknown clinical significance)	- Souvent faux-sens ou insertion/délétion sans décalage du cadre de lecture « <i>in frame</i> » - Quelle que soit la VAF - Base de population saine (GnomAD) : MAF = absent ou très faible (<0.1%) - Base de variants somatiques (COSMIC) : absence ou présence sans association avec un type particulier de tumeur (VSI germline potentiels) ou présence à très faible effectif - Base de variants constitutionnels (ClinVar) : présence ou non - Prédictions in silico (REVEL/Alphamissens...) : variable - Publications (études fonctionnelles, études cas-témoins...) : absence de données ou données discutables (biais, case report isolé sans étude approfondie)

MAF: Minor Allele Frequency (selon gnomAD); VAF: Variant Allele Frequency; SNP: single-nucleotide polymorphism

Pour l'interprétation des variants génétiques identifiés dans cette étude, nous avons utilisé les Standards and Guidelines for the Interpretation and Reporting of Sequence Variants in Cancer, publiés conjointement par l'Association for Molecular Pathology (AMP), l'American Society of Clinical Oncology (ASCO) et le College of American Pathologists (CAP). Ces recommandations établissent un cadre précis pour classer les variants en différentes

catégories : pathogène, probablement pathogène, de signification incertaine, probablement bénin, et bénin.

Ce système de classification est largement utilisé pour l'analyse des variants dans le domaine de l'oncologie, car il permet une évaluation standardisée et reproductible des mutations. Cela garantit que les résultats de cette étude peuvent être interprétés de manière cohérente et comparés avec d'autres études similaires.

Les critères utilisés pour classer les variants incluent des éléments (cf. Tableau 10) tels que la fréquence du variant dans la population, les données fonctionnelles, les prédictions *in silico*. Cette approche systématique permet une interprétation robuste et rigoureuse des mutations identifiées, en particulier celles du gène *SH2B3*, dans le contexte des hémopathies malignes.

IV. Résultats

A. Nombre de Variations et Fréquence par Rapport à Tous les NGS Analysés

Dans notre étude, nous avons analysé un total de 4162 échantillons via séquençage de nouvelle génération (NGS). Parmi eux, 61 échantillons présentent des variants dans le gène *SH2B3*. La fréquence des variants de *SH2B3* parmi tous les NGS analysés est donc de 1,5 %. Ces variants ont été répartis en 44 variants distincts, identifiés pour la plupart à différents loci du gène.

Seules les variants de *SH2B3* n'étant pas clairement définis comme des polymorphismes ont été retenus pour l'analyse.

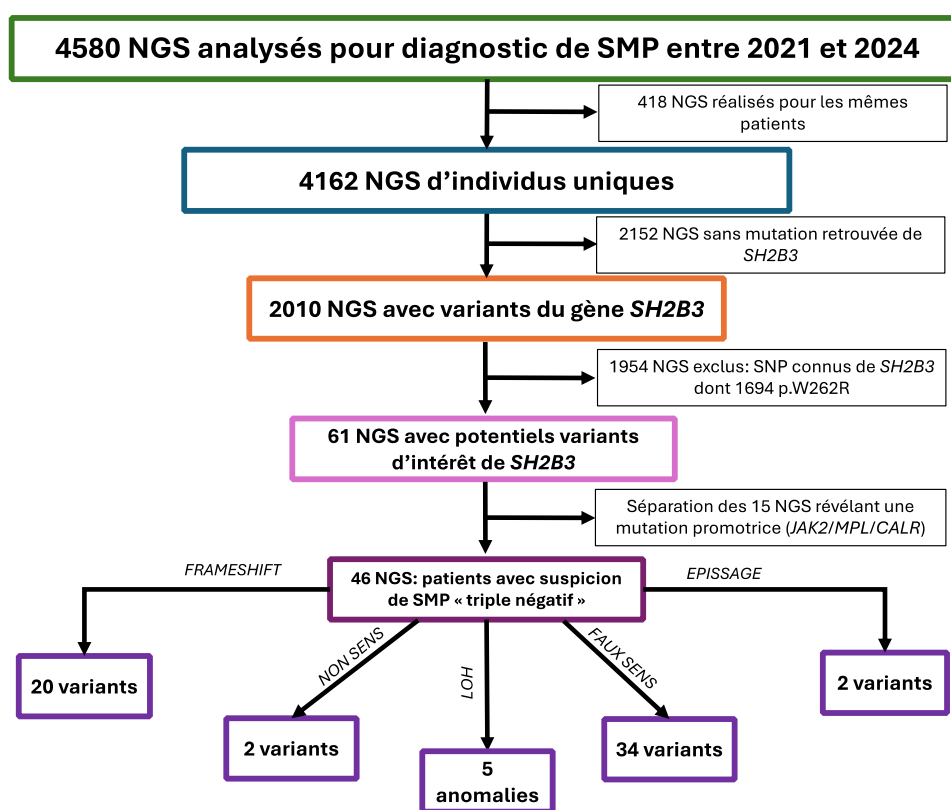


Figure 20 – Flow-chart résumant les échantillons retenus pour l'analyse avec le type de mutation ; LOH (loss of heterozygosity) : anomalie du nombre de copie + unidisie parentale ; NGS : New Generation Sequencing ; SMP : Syndrome Myéloprolifératif. Les mutations triples négatifs excluent les mutations *JAK2V617F*, *MPLW515K/L* et *CALR* exon 9.

B. Description de la Cohorte de Patients

1. Phénotype

La cohorte étudiée comprend 61 patients présentant une variété de phénotypes cliniques et dont les suspicions de pathologies pour lesquelles le NGS a été demandé incluent :

- 26 cas de thrombocyémie essentielle (TE),
- 24 cas de polyglobulie de Vaquez (PV),
- 4 cas de myélofibrose primitive (MFP).
- 2 cas de myélofibrose post-TE ou post PV (MF)
- 5 cas de bilan de thrombose

2. Clinique

Sur le plan clinique, les signes observés chez les patients symptomatiques pour lesquels une polyglobulie de Vaquez est suspectée incluent l'acrosyndrome, l'érythrose faciale, les sueurs nocturnes et la splénomégalie. En revanche, chez les patients suspectés de thrombocyémie essentielle, les signes incluent la thrombose, les sueurs nocturnes, les frissons et la splénomégalie. Pour les six patients atteints de MF primitive ou secondaire, sont décrits des signes d'anémie dont 3 patients au moins nécessitent d'être transfusé régulièrement, ils présentent tous des signes adénopathies et une splénomégalie. Une patiente atteinte de MFP a évolué vers une LAM depuis la date de son NGS.

Tous les patients avec un bilan de thrombose sont des cas de survenue spontanée de phlébite et/ou d'embolie pulmonaire, sans facteur déclenchant.

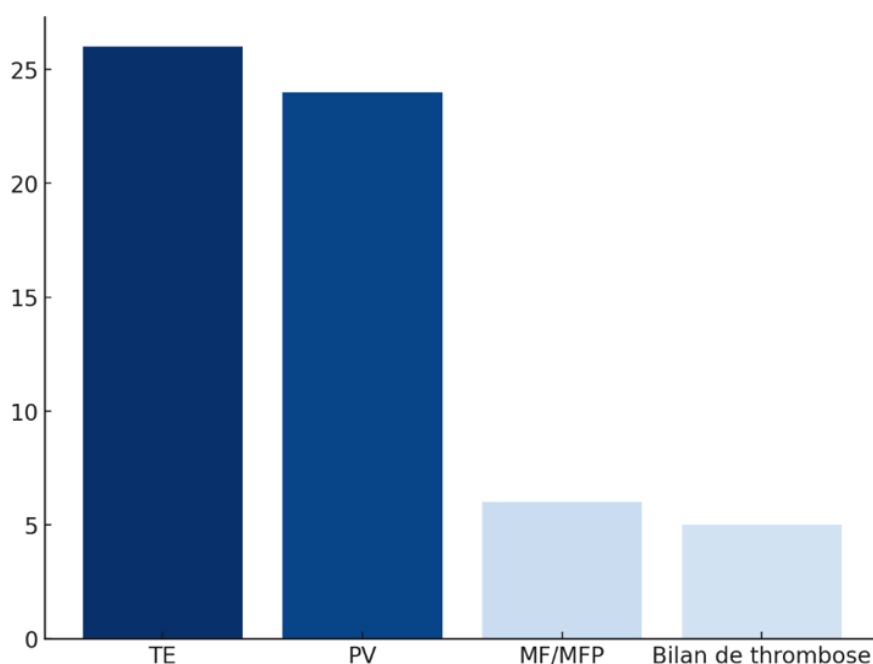


Figure 21 - Distribution des patients selon l'indication de l'analyse NGS. Les indications comprennent la Polyglobulie de Vaquez (PV), la Thrombocythémie Essentielle (TE), la Myélobiose primitive (MFP), et la Myélobiose post-TE ou post-PV (MF).

3. Données Biologiques

Les patients ne provenant pas tous du CHU de Lille, toutes les données clinico-biologiques ne sont pas disponibles pour l'ensemble de la cohorte.

a) Hémogramme

Parmi les 44 patients pour lesquels un hémogramme a été renseigné par les différents centres lors du recueil, la concentration moyenne en hémoglobine est de 14,2 g/dL, avec une médiane à 13,9 g/dL, un minimum à 8 g/dL, et un maximum à 19,4 g/dL. La numération plaquettaire moyenne est de 372 G/L, avec une médiane à 285 G/L, un minimum à 62 G/L, et un maximum à 807 G/L. La numération leucocytaire moyenne est de 9,5 G/L, avec une médiane à 7,9 G/L, un minimum à 1,4 G/L, et un maximum à 44 G/L.

Chez les patients présentant une suspicion de polyglobulie de Vaquez, la concentration moyenne en hémoglobine est de 17 g/dL (n=19), avec une moyenne de 17,2 g/dL pour les hommes (n=16) et de 16,8 g/dL pour les femmes (n=3). La concentration moyenne en érythropoïétine (EPO) pour les patients avec des suspicions de PV est de 8,7 mUI/mL (norme

: 3,5 à 11 mUI/mL), avec une médiane à 7,5 mUI/mL, un minimum de 3,7 mUI/mL, et un maximum de 15,9 mUI/mL (n=13), car pour 4 patients nous n'avons pas l'information).

De la même manière la numération plaquettaire moyenne chez les patients avec suspicion de thrombocythémie essentielle est de 587 G/L, avec une médiane à 515 G/L (n=16).

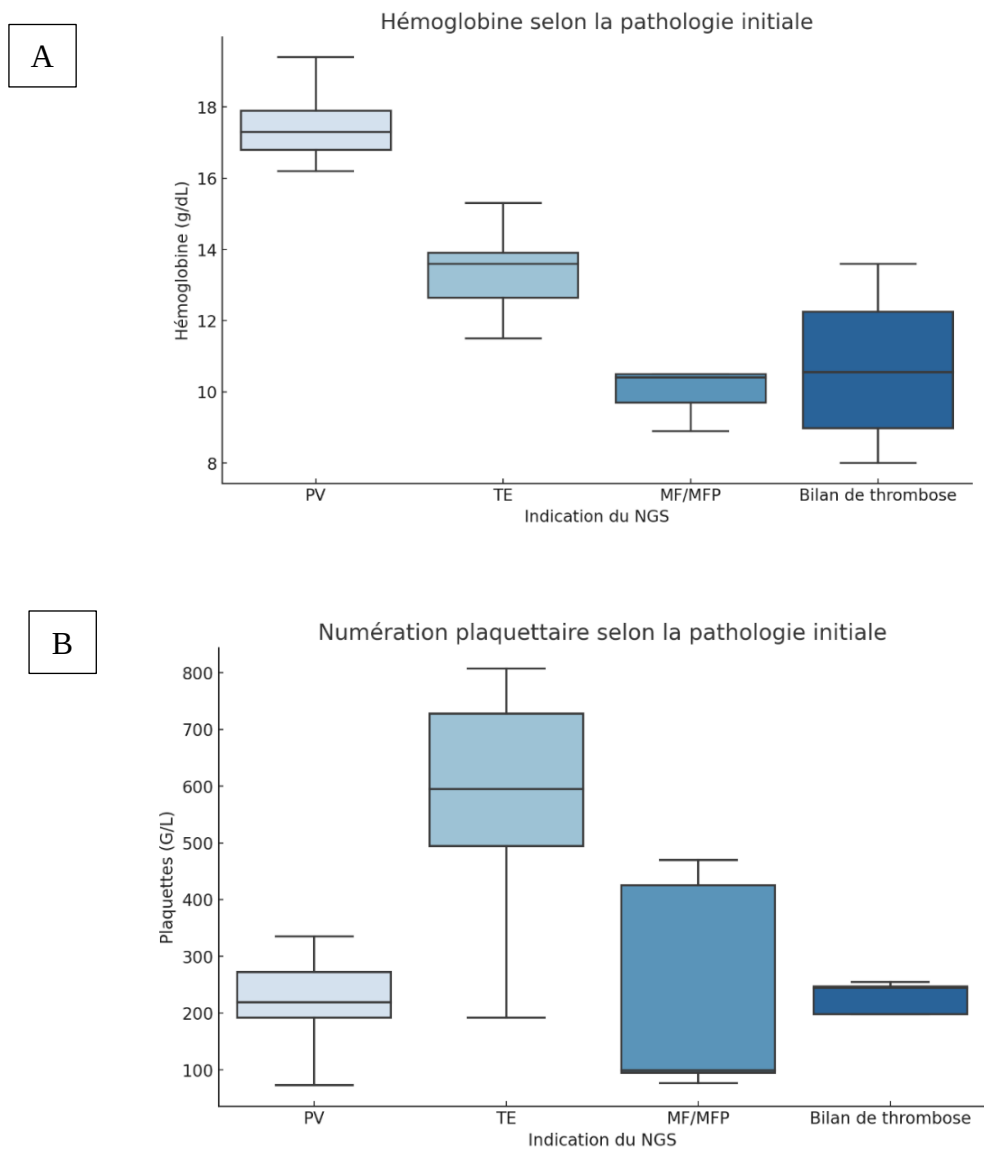


Figure 22 - Les graphiques ci-dessus représentent respectivement la distribution des valeurs d'hémoglobine (g/dL) (graphique A) et des comptes de plaquettes (G/L) (graphique B) pour différentes catégories d'indication du NGS. Les boîtes à moustaches illustrent les valeurs minimales, maximales, les médianes et les quartiles des distributions.

C. Localisation sur la Protéine

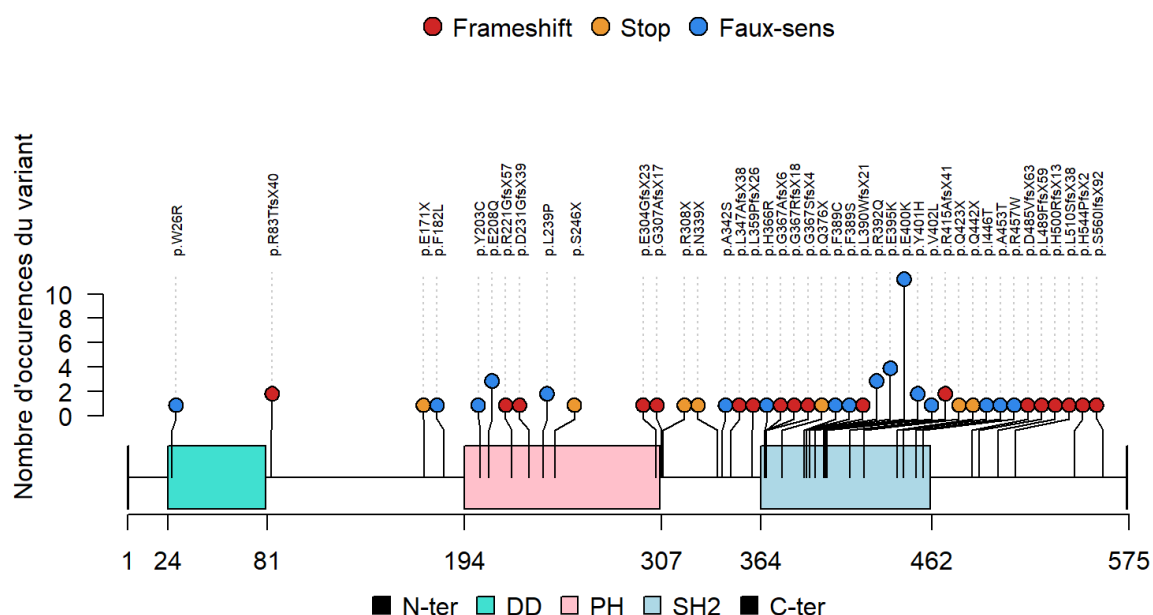


Figure 23 – Paysage mutationnel de SH2B3 dans ma cohorte de 61 patients. La position et le changement d'acide aminé (en code à une lettre) sont indiqués pour chaque mutation. fs*, mutation par décalage du cadre de lecture.

Les mutations faux-sens identifiées dans *SH2B3* sont principalement localisées dans les domaines fonctionnels critiques de la protéine LNK, notamment les domaines PH et SH2. La distribution des mutations sur la protéine montre une concentration dans ces domaines, suggérant leur importance dans la fonction de LNK (cf. Figure 23).

Le domaine SH2 est le plus fréquemment muté, représentant 60,7 % des variants (37 variants), principalement associés à des cas de thrombocythémie essentielle (43,2 %) et de polyglobulie de Vaquez (35,1 %). Cette concentration élevée de mutations soulève son rôle clé dans la pathogénèse des syndromes myéloprolifératifs en raison de son importance pour l'interaction de la protéine LNK avec ses partenaires comme JAK2.

Le domaine PH, représentant 16,4 % des mutations (10 mutations), est surtout associé aux diagnostics de thrombocythémie essentielle (50 %) et de polyglobulie de Vaquez (40 %), avec un lien moindre à la myélofibrose secondaire (10 %). Ce domaine est crucial pour la localisation de LNK à la membrane cellulaire.

Le domaine C-terminal (C-ter), avec 11,5 % des mutations (7 mutations), montre une répartition égale entre les cas de polyglobulie de Vaquez et de thrombocythémie essentielle, et un lien mineur avec les bilans de thrombose (14,3 %).

La région N-terminale (N-ter), y compris le domaine DD, représente 4,9 % des mutations (3 mutations), observées principalement chez des patients suspectés de thrombocytémie essentielle et de polyglobulie de Vaquez. Le domaine DD est le moins affecté, avec seulement 1 mutation, observée chez un patient avec polyglobulie de Vaquez et mutation JAK2V617F.

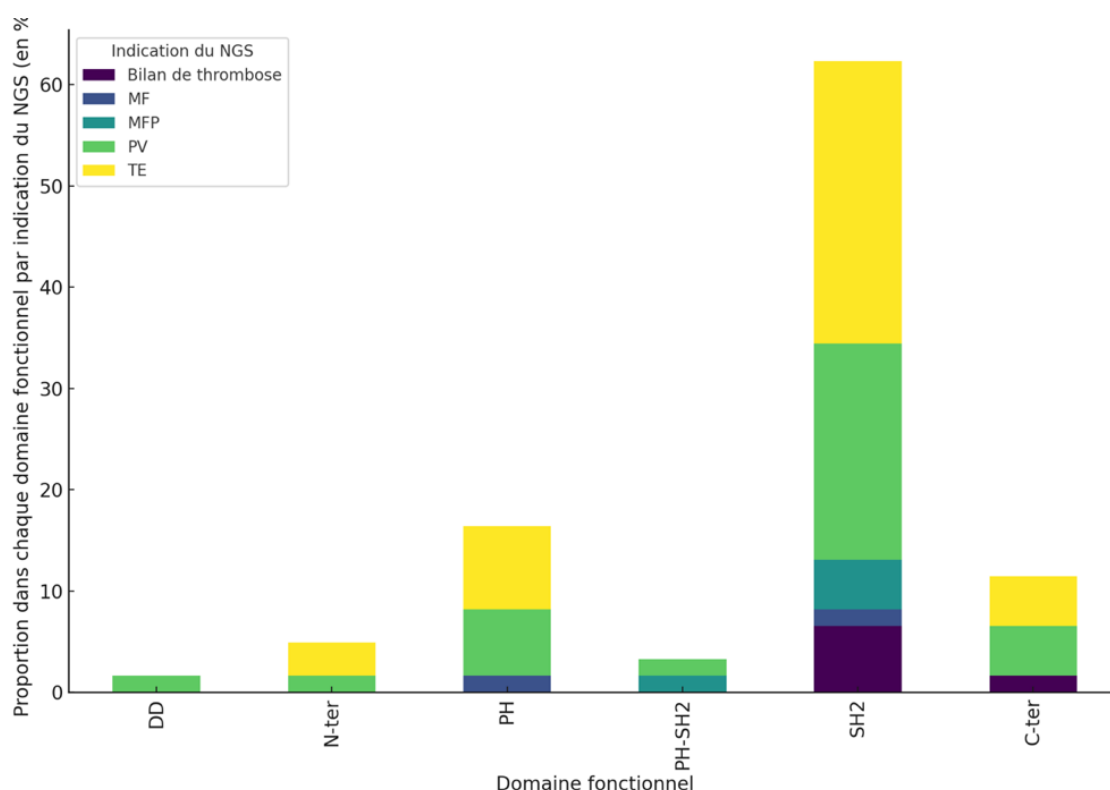


Figure 24 – Répartition des variants de notre cohorte par domaine fonctionnel et par indication du NGS

D. Description des Mutations

1. Type de mutation :

Les mutations détectées incluent 34 mutations faux-sens, 20 mutations frameshift (décalage du cadre de lecture), 7 mutations non-sens (introduisant des codons stop prématurés), 2 anomalies d'épissage. Parmi ces patients, 5 sont porteurs d'une perte d'hétérozygotie de *SH2B3* (LOH pour *loss of heterozygosity*) initiée par deux mécanismes : l'unidisomie parentale probablement acquis chez ces patients et la perte d'un allèle. La perte d'un allèle fonctionnel est considéré dans ce travail comme ayant un impact sur la fonction de LNK.¹⁹⁸

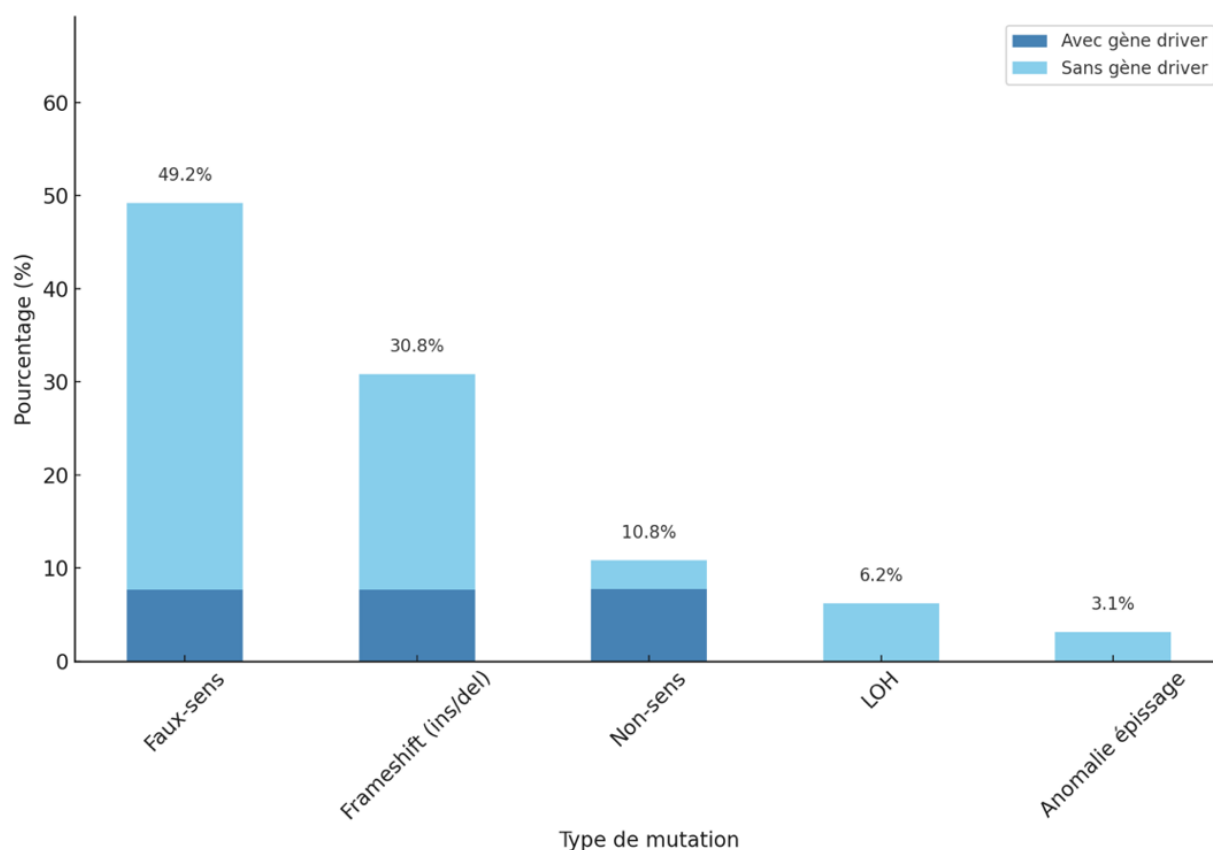


Figure 25 - Répartition des types d'anomalies dans le gène SH2B3 dans notre cohorte. LOH : anomalie du nombre de copie ; Frameshift : insertion/délétion avec décalage du cadre de lecture. Les mutations driver sont des mutations de JAK2V617F, MPL et CALR.

2. Redondance :

Parmi ces variants, certains ont été retrouvés à plusieurs reprises chez différents patients. Le variant p.E208Q par exemple, a été identifié chez 3 patients, tandis que le variant p.E400K a été détecté chez 10 patients et le p.E395K a été retrouvée chez 4 patients.

3. Caractère somatique ou constitutionnel :

Sur l'ensemble des variants identifiés, 32 présentent des valeurs de fréquence allélique (VAF) inférieures à 40 % suggérant un caractère somatique. En revanche, 32 variants ayant une VAF proche de 50 %, suggèrent une origine qui pourraient être constitutionnelle.

E. Interprétation selon les normes et lignes directrices pour l'interprétation des variants de séquence dans le cancer selon l'AMP/ASCO/CAP.

Selon la classification des mutations (cf. matériel et méthodes) :

1. Tier I/II - (cf. Tableau 12) :

Ce groupe est constitué de 47 variants de *SH2B3* ; pouvant être séparé en deux sous-groupes distincts.

Le premier sous-groupe est constitué de 35 mutations, incluant des frameshifts, et des non-sens qui entraînent des pertes de fonction significatives de la protéine appelées mutations NULL, ainsi qu'une anomalie du nombre de copie qui a été considérée comme ayant un impact fonctionnel. Mais aussi quelques mutations faux-sens dont l'impact fonctionnel a été démontré dans d'autres études. Parmi les 35 patients présentant un variant classé dans ce sous-groupe, 25 ne sont pas mutés sur un gène driver. Voici quelques observations clé :

- Quatre patients présentant des mutations frameshift de *SH2B3* ont été diagnostiqués avec une polyglobulie de Vaquez selon les critères de l'OMS 2022 en absence de BOM pour la plupart. Pour ces patients 31, 45, 46 et 58, la mutation de LNK entraîne la perte de la fin de la protéine, y compris l'acide aminé Y572 impliqué dans la liaison à CBL, et pour le patient 58, une abolition des domaines PH et SH2. Leurs VAF sont comprises entre 2% et 6%, suggérant des mutations somatiques.
- Le patient 43 présente une double mutation de *SH2B3* avec une mutation frameshift et une anomalie de l'épissage classées dans le premier groupe (Tier I/II).
- Parmi ces patients, le patient 41 présente une insuffisance rénale chronique au stade IIB, un dosage d'EPO légèrement au-dessus de la normale à 13 mUI/mL, et un hémocrite à 52%. Un diagnostic hématologique n'a pas été retenu pour ce patient mais au vu des discordances de résultats il serait important de vérifier qu'il n'y a pas de mutations sur les gènes de contrôle de l'hypoxie ou de problèmes respiratoires, ni un traitement par de l'EPO ou une sténose des artères rénales.
- La dernière mutation frameshift a été identifiée lors du bilan complet de thrombose chez le patient 48 présentant une anémie et une thrombopénie, sans suivi pour une hémopathie.
- Deux patients présentent des mutations non-sens dans des domaines fonctionnels et sont tous deux suivis pour des TE. Le patient 53 présente une mutation p.S246X avec une VAF de 52%, qui est la seule mutation identifiée par NGS, avec une évolution vers des stades fibrotiques.

- Parmi les 8 patients restants avec une mutation faux-sens classée en Tier I/II, 4 portent la mutation p.E395K, 3 la mutation p.R392Q, et 1 la mutation p.Y203C associée à la perte d'un allèle de *SH2B3*. Pour la mutation p.R392Q, elle a été retrouvée à deux VAF différentes, 2% et 52%, suggérant à la fois une origine somatique et potentiellement constitutionnelle. Pour la mutation p.E395K, elle est présente chez 4 patients de la cohorte, dont 2 TE, 1 PV et 1 bilan de thrombose. La fréquence de cette mutation est proche de celle retrouvée dans la population générale autour de 0,04 % dans les bases de données de population (gnomAD). La mutation Y203C, n'est pas classante en catégorie Tier I/II mais chez ce patient la perte d'un allèle de *SH2B3* est un mécanisme décrit dans les LAL-B classant donc le patient dans ce groupe.

Dans le deuxième sous-groupe on retrouve 12 mutations, incluant des variants faux-sens et des anomalies d'épissage, avec des effets prédits délétères mais non encore confirmés par des études fonctionnelles. Le groupe de patients triple négatif avec mutations de *SH2B3* classées ici comprend 8 patients (10, 25, 26, 34, 41, 43, 52, 60). Aucun de ces variants n'a été décrit dans la littérature et ils sont tous absents ou présents à des fréquences très inférieures à 0,1 % dans les bases de données de population telles que gnomAD avec pour la majorité des VAF <40%. Parmi ces 8 variants, 7 se trouvent dans le domaine SH2 et le dernier est située en C-ter (patient 43).

- Quatre patients ont été analysés pour une suspicion de polyglobulie de Vaquez (patients 10, 26, 41 et 60). Parmi ces patients, trois ont des taux d'EPO normaux ou subnormaux. Quatre autres patients ont été évalués pour un diagnostic de thrombocythémie essentielle (patients 25, 34, 43 et 52). Deux mutations identifiées sont des changements de nucléotides au niveau intronique, potentiellement responsables d'anomalies de l'épissage selon les scores *in silico* de SpliceAI. L'impact de ces mutations sur la protéine reste indéterminé sans analyse fonctionnelle supplémentaire.
- Parmi les 6 mutations faux-sens identifiées, deux ont des VAF proches de 50% (patients 25 et 26). Ces patients, qui sont apparentés au premier degré (fratrie), portent la variation p.Y401H, absente des bases de données de population et prédite

comme pathogène par divers scores de prédiction. Il s'agit de deux suspicions de PV. Chez l'un des deux patients le VGT a été mesuré sans augmentation excluant le diagnostic de PV pour les cliniciens en absence d'information sur le profil mutationnel des deux frères. Chez l'autre frère la présence d'une dyspnée avec une gazométrie anormale a orienté vers une consultation de pneumologie. Pour autant les symptômes très proches (céphalées, acouphènes, vertiges) ne permettent aujourd'hui pas d'exclure une polyglobulie familiale.

- Pour les quatre autres patients (10, 34, 52, 60), la mutation faux-sens est retrouvée avec des VAF comprises entre 1 % et 13%, suggérant une origine somatique. Ces mutations sont toutes prédites comme délétères par les scores de prédiction, à l'exception de la p.R457W dont les scores ne sont pas certains, et dont la classification a été déterminée sur la base de la VAF et de la fréquence allélique mineure (MAF).

2. Tier III - signification indéterminée (cf. Tableau 13) :

Dans le groupe Tier III, on retrouve 16 variants, principalement ceux qui n'ont pas été étudiés de manière approfondie dans la littérature ou dont les études n'ont pas réussi à conclure sur leur pathogénicité ou encore certains variants dont les scores de prédiction sont discordants. Dans le groupe de variants de signification indéterminée sans gène driver, 15 patients porteurs de 4 variants différents de *SH2B3* ont été identifiés. Sont retrouvées la p.E400K chez 10 patients, la p.E208Q chez 3 patients, la p.A342S et la p.F182L chez un patient chacun. Ces patients présentent tous des VAF autour de 50%.

a) *Caractéristiques de la variation E400K :*

Le variant E400K est retrouvé chez 10 patients de la cohorte : patients 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, et 52. Un des patients (52) est également porteur de la mutation L239P, classée en Tier I/II.

Quatre patients (17, 18, 20, et 23) ont été analysés dans le cadre d'un bilan diagnostique de polyglobulie de Vaquez. Chez ces quatre patients, les taux d'EPO sont normaux ou bas. Le patient 20 présente une mutation additionnelle de *NF1* avec une VAF de 11%, parfois

associée aux SMP. Deux autres patients (17 et 23) montrent des signes cliniques associés tels que l'érythrose faciale et la splénomégalie, ainsi qu'une augmentation significative de la masse globulaire par rapport à la valeur théorique (155% et 169% respectivement). Chez le patient 17, une analyse du bulbe capillaire a confirmé que cette mutation est constitutionnelle. Cependant, en raison du manque de connaissances sur ce variant, la réunion de concertation pluridisciplinaire des hémopathies génétiques n'a pas pu classer formellement ce variant comme causal de la maladie, bien qu'une étude familiale soit en cours.

Trois patients porteurs de cette mutation sont diagnostiqués avec une thrombocythémie essentielle (patients 16, 21, et 52). Le patient 21 a été diagnostiqué d'une thrombocytose chronique dans un contexte familial de thrombocytose. Le grand-père et le père sont également suivis pour des thrombocytoses. Le père est porteur d'un variant rare de MPL, non retrouvé chez sa fille, mais aucune information n'est disponible sur la mutation p.E400K chez ces deux patients. Un conseil génétique pourrait être utile pour l'analyse de co-ségrégation des cas dans cette famille.

b) Caractéristiques du variant E208Q :

Le variant E208Q est retrouvé chez 3 patients (3, 4, et 5) diagnostiqués avec une polyglobulie de Vaquez (PV). Ce variant est présent à une fréquence de 1,5% dans les bases de données de population (gnomAD) et est prédit délétère par les bases de données *in silico*. Le patient 3 présente une EPO subnormale, une absence de pousse de progéniteurs érythroïdes en absence d'EPO, et des antécédents de thromboses veineuses. Les patients 4 et 5 présentent tous deux des polyglobulies sur leur hémogramme, et le patient 4 présente des signes d'acrosyndrome.

c) Caractéristiques des autres variants faux-sens :

Le variant A342S est prédit bénin par les scores de prédiction CADD-Phred, REVEL, et Alaphamissense, malgré son absence dans les bases de données de population. Cette mutation ne semble pas jouer un rôle dans la polyglobulie et pourrait être un SNP très rare. Cependant, en l'absence d'études fonctionnelles, cette hypothèse ne peut être confirmée.

Le patient 50 présente le SNP T165S (rs7963692) avec une élévation marquée de l'hémoglobine (18,1 g/dL), une EPO subnormale (6 mUI/mL), et une absence de pousse des progéniteurs érythroïdes en absence d'EPO. Ce variant, présent à 2% dans les bases de données de population, ne semble pas être impliqué dans les SMP, avec des scores de prédiction le classant comme bénin et une localisation en dehors des domaines fonctionnels.

F. Association des variations de *SH2B3* à d'autres mutations



1. *SH2B3* associée à une mutation promotrice des SMP non LMC (cf. Tableau 11)

- **Nombre de mutations associées** : Sur les 61 patients avec une mutation de *SH2B3*, 15 présentaient également une mutation driver identifiable (*JAK2*, *CALR*, *MPL*). Les VAF des mutations de *SH2B3* dans l'ensemble des données varient de 1,02 % à 70 %, indiquant une origine somatique pour une grande partie d'entre elle. Pour 2 mutations, la VAF proche de 50% ne permet pas d'exclure un variant constitutionnel mais du fait qu'il s'agisse d'un frameshift et un non-sens intervenant dans le domaine SH2, ils excluent des SNP rares.

- **Répartition phénotype** : Parmi ces patients, 3 ont été diagnostiqués avec une PV, 8 avec une TE, 2 avec une MFP et 2 avec un MF secondaire.
 - Les patients 1, 30 et 42 présentent une polyglobulie de Vaquez associée à la mutation *JAK2V617F*, avec des charges alléliques respectives de 72%, 92% et 96%. Les VAF des mutations *SH2B3* observées pour ces patients sont de 24%, 2%, et 63%, suggérant une nature sous-clonale.
 - Les patients 27, 37, et 47 portent des mutations rares du gène *MPL* : p.Y591D (VAF de 3%), p.K39N (variant Baltimore, VAF de 50%), et p.R102P (VAF de 49%). Ces mutations sont associées à des formes familiales de thrombocytose.
 - Parmi les patients atteints de myélofibrose, deux présentent une myélofibrose primitive et deux autres ont évolué d'une TE ou PV vers une myélofibrose secondaire. Les patients 7, 11, et 55 sont porteurs de la mutation *JAK2V617F*, avec des charges alléliques de 48%, 76%, et 36%, respectivement. Le patient 49 présente une mutation de *CALR* associée à une mutation non-sens de *SH2B3* avec une VAF de 93% et une perte d'hétérozygotie.
- **Détail patients d'intérêt** :
 - Le patient 30, est porteur d'une mutation p.A453T avec une VAF extrêmement faible (2%). Ce patient ne présente ni splénomégalie ni autres signes cliniques notables au moment de l'analyse NGS, et son taux d'EPO est de 5,3 mUI/mL. Une analyse des CNV et des SNP révèle une délétion du bras long du chromosome 4 et une perte d'hétérozygotie au niveau du gène *JAK2*. La présence de dacryocytes au frottis sanguin suggère une possible évolution vers des stades fibrotiques, ce qui justifie la réalisation d'une biopsie ostéomédullaire (BOM) pour affiner le diagnostic.
 - Les trois patients avec des mutations du gène *MPL* (patients 27, 37 et 47) présentent des variants de *SH2B3* classés en catégorie A. Le patient 37 et 47 ont des variants de *MPL* plus classiquement décrit dans des formes familiales de thrombocytose avec des VAF autour de 50%. Des études pour déterminer

la présence de mutation constitutionnelle et du rôle des mutations somatiques serait utile chez ces patients.

- L'exemple du patient 2 présente une mutation frameshift dans l'exon 9 de *CALR* ainsi qu'une mutation non-sens de *SH2B3* (p.E171X) entraînant un codon stop en N-terminal, supprimant ainsi les domaines fonctionnels PH et SH2. Ce patient présente également des signes de polyglobulie fluctuante, avec un taux d'EPO dans les normales basses (3,9 mUI/mL) et une absence de croissance des progéniteurs érythrocytaires en culture sans EPO. Le lien potentiel entre la mutation *SH2B3* et la polyglobulie mérite d'être exploré, et l'utilisation de la mesure de la masse globulaire pourrait être un bon indicateur.

2. *SH2B3* associée à d'autres mutations

- **Nombre de patients avec des mutations autres associées à celle de *SH2B3*** : 21 patients avec une mutation de *SH2B3* avaient également des mutations dans des gènes myéloïdes tels que *ASXL1*, *CBL*, *DNMT3A*, *NF1* et *TET2*.
- **Répartition phénotype** : Ces patients se répartissent en 8 cas de suspicion de TE, 9 de PV, 2 cas de MFP avérés, et 2 bilans de thrombose.
- **Nombre de variations de *SH2B3* potentiellement constitutionnelles** : 11 patients avaient des mutations de *SH2B3* avec une VAF proche de 50 %, suggérant une possible origine constitutionnelle.
- **Détail patient** :
 - Un patient présente une double mutation de *SH2B3* avec une mutation frameshift et une anomalie de l'épissage classées en Tier I/II. Les autres mutations associées identifiées chez deux patients, les patients 43 et 57, sont des mutations couramment retrouvées dans les hémopathies clonales indéterminées (CHIP), notamment *ASXL1* et *TET2*, mais aussi associée aux SMP.
 - Deux autres bilans (patients 19, et 24) ont été réalisés dans le cadre de thromboses. Pour ces patients, le manque d'informations ne permet pas de statuer sur un potentiel SMP sous-jacent. Le patient 24 présente des

mutations associées à la variation de *SH2B3* sur les gènes *CBL*, *CHEK2*, et *NF1*, suggérant un diagnostic ambigu entre un SMP et un syndrome myélodysplasique (SMD). Le patient 19 présente des mutations de *ASXL1* et *NF1*.

- 2 patients présentent des profils moléculaires complexes (32 et 35) avec un diagnostic de myélofibrose primitive, confirmé par la BOM. L'un de ces patients est à la fois porteur d'une mutation et d'une perte d'un allèle de *SH2B3*.
- Dans notre cohorte, 3 patients présentent des mutations de *SF3B1* (patients 33, 43 et 46), chez les patients 33 et 43 la VAF élevée de la mutation de *SF3B1* évoque davantage un SMD/SMP avec mutation de *SF3B1*, ce que confirme le myélogramme du patient 33 analysé au CH de Roubaix, retrouvant de la dysérythropoïèse importante. La VAF nettement plus faible du patient 46 en absence de cytologie ne permet pas de conclure sur le type de pathologie.

3. *SH2B3* isolée

- **Répartition phénotype** : Parmi les 26 patients avec une mutation isolée de *SH2B3*, 12 étaient diagnostiqués avec une TE, 11 avec une PV, et 3 dans le cadre de bilan de thrombose.
- **Nombre de variations de *SH2B3* potentiellement constitutionnelles** : 18 patients avaient des mutations de *SH2B3* avec une VAF proche de 50 %, suggérant un caractère constitutionnel.
- **Détail patient** :
 - Deux patientes, ayant des VAF proche de 50%, identifiées comme les patientes 28 et 61, sont apparentées au premier degré (sœurs) et portent la même mutation R415AfsX41, avec un phénotype similaire, notamment des taux d'hémoglobine et de plaquettes proches. L'une d'elles a subi une biopsie ostéomédullaire (BOM), qui a révélé de rares mégacaryocytes dystrophiques et un taux d'EPO inférieur à la normale.
 - Le patient 46 a été diagnostiqué avec une polyglobulie de Vaquez, sur la base de son taux d'hémoglobine/hématocrite, son dosage d'EPO normal, et sa mutation de *SH2B3*. Ce variant a été décrit dans l'article de Hurtado et al.

(2011), où un patient porteur de ce variant avait une thrombocyémie essentielle (TE) avec une double mutation Ins L510VfsX35 et L510F

G. Impact des variants de *SH2B3* sur le phénotype clinico-biologique

Dans notre cohorte la répartition des variants a été subdivisée :

- Le premier sous-groupe Tier I/II est composé d'une part des variants dits « NULL » contenant les frameshift et les non-sens ; et d'autre part des faux-sens appelés « Autres », il s'agit des mutations déjà décrites dans la littérature scientifique, retrouvé à des VAF somatiques, dont les scores *in silico* sont prédits pathogènes, ou encore la perte d'un allèle sain.
- Le dernier groupe est composé des variants classés en TierIII. Il s'agit exclusivement de variants faux-sens.

La Figure 27 montre une répartition des mutations selon la pathologie suspectée.

L'analyse de la répartition des mutations classées en Tier I/II (variants NULL et autres) et Tier III en fonction de l'indication du NGS révèle des tendances marquantes :

- **Bilan de thrombose** : Une proportion importante de mutations classées Tier III, suggérant que leur rôle pathogène est incertain ou potentiellement non pertinent dans ce contexte.
- **Myélofibrose** : On observe exclusivement des mutations de Tier I/II (NULL et faux-sens), indiquant que ces mutations pathogènes pourraient être des marqueurs d'évolution de la maladie.
- **Suspicion de Thrombocyémie Essentielle** : Ce groupe présente une forte présence de mutations Tier I/II, renforçant l'idée d'un lien entre ces mutations et la pathologie.
- **Suspicion de Polyglobulie de Vaquez** : On remarque une proportion importante de variants faux-sens dont beaucoup sont issus du groupe Tier III, ce qui reflète un groupe hétérogène. Il comprend des vrais cas de PV (souvent associés à des mutations *JAK2*). Ce dernier sous-groupe pourrait correspondre à des situations où la mutation *SH2B3* n'est pas pathogène, ou bien à des formes d'érythrocytose congénitale.

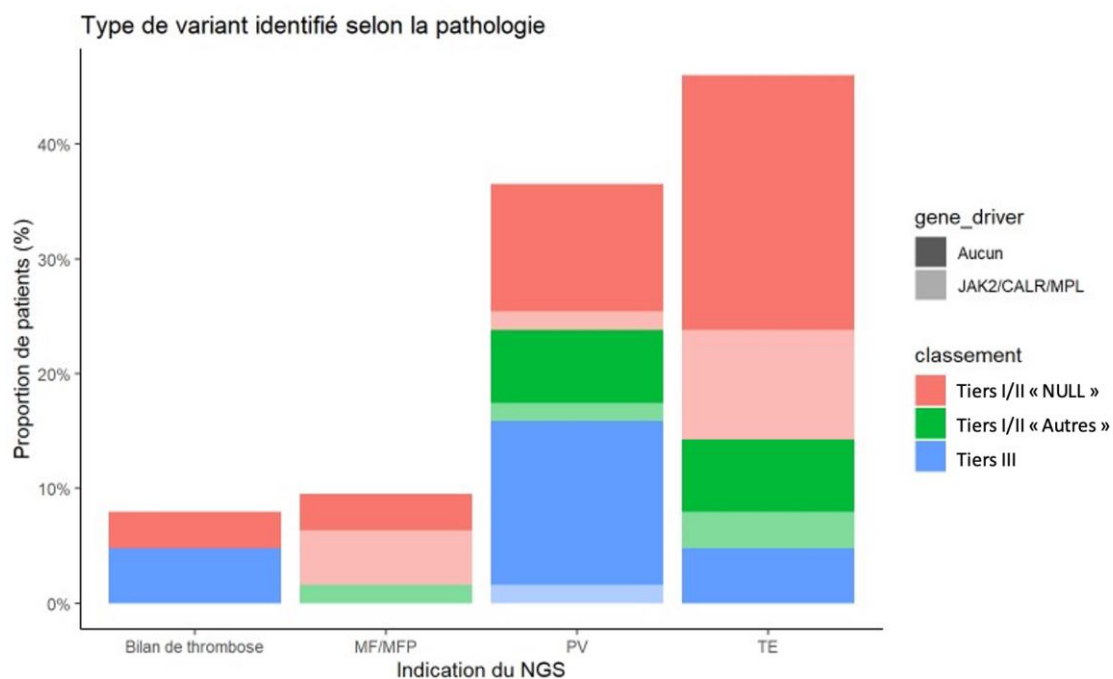


Figure 27 – Type de variant identifié selon la pathologie. MF : myélobiose secondaire ; MFP : myélobiose primitive ; PV : polyglobulie de Vaquez ; TE : thrombocytémie essentielle. NULL : mutations frameshift et non-sens, Autres : non-NULL.

Tableau 11 - Profil des patients mutés SH2B3 avec mutation d'un gène driver

Patient	Sexe	Indication du NGS	LOH	Protéine	VAF	Type de mutation	MAF (GnomAD)	COSMIC/ClinVar (Hémopathie)	CADD-Phred	REVEL	Alpha Missens	Domaine fonctionnel	Littérature	Tier	Gène driver	NGS	EPO	Hb	Plq	Culture progéniteur	Signes cliniques	Traitement
2	F	TE	N	p.E171X	9%	Non-sens	Absent	Absent	36	P	P	N-ter		TierI/II	CALR exon 9	CALR GNAS (5) SH2B3 (9)	3,90	13,5	745	Absence de pousse sans EPO	NR	NR
6	M	TE	N	p.E304GfsX23	2%	Frameshift (ins/del)	Absent	Absent	NA	NA	NA	PH		TierI/II	CALR exon 9	CALR SH2B3 (2)	NR	13,5	322	NR	Spénomégalie	Interferon, Hydrea
59	F	TE	N	p.N339X	32%	Non-sens	Absent	Absent	NA	NA	NA	SH2		TierI/II	CALR exon 9	CALR PHF6 (32) SH2B3 (32)	NR	NR	NR	NR	NR	Hydrea
29	F	TE	N	p.I446T	29%	Faux-sens	Absent	Absent	27,4	D	LP	SH2		TierI/II	JAK2V617F	2 IDH1 (33-1) JAK2 (39) PHF6 (8) RUNX1 (13) SH2B3 (29)	TE confirmée au CHU de Nice					
54	F	TE	N	c.835-2_840del	1,3%	Frameshift (ins/del)	Absent	Absent	SpliceAI:AG/AL DG/DL: 0,31 / 0,99 0 / 0,45			PH		TierI/II	JAK2V617F	JAK2 (31) SH2B3 (1,3)	NR	13,8	788	NR	NR	NR
37	F	TE	N	p.L390WfsX21	51%	Frameshift (ins/del)	Absent	LAL T	NA	NA	NA	SH2	(Maslah et al., 2017)	TierI/II	MPL K39N	BCORL1 (4) ETNK1 (2) GATA2 (9) IDH2 (31) MPL (50) SH2B3 (51) SRSF2 (34)	5,6	NR	NR	NR	NR	NR
47	F	TE	N	p.H544PfsX2	2%	Frameshift (ins/del)	Absent	Absent	NA	NA	NA	C-ter		TierI/II	MPL R102P	MPL (49) SH2B3 (2)	NR	NR	NR	NR	NR	NR
27	M	TE	aUPD	p.V402L	70%	Faux-sens	<<0,1%	LAL B	27,2	D	LP	SH2	-	TierI/II	MPL Y591D	ASXL1 (16) ETNK1 (46) MPL (3) RAD21 (13) SH2B3 (70) STAG2	12,90	11,5	673	Absence de pousse sans EPO	NR	NR
1	F	PV	N	p.W26R	24%	Faux-sens	<<0,1%	Absent	26,9	D	D	DD		TierI/II	JAK2V617F	DNMT3A (2) JAK2 (71) NF1 (38) SH2B3 (24)	NR	16,2	692	NR	NR	NR
30	F	PV	N	p.A453T	2%	Faux-sens	<<0,1%	Absent	22,30	B	LB	SH2		TierIII	JAK2V617F	JAK2 (92) SH2B3 (2)	5,30	17,6	114	NR	PV confirmée Possible évolution fibrotique (dacryocyte)	Interferon, Hydrea
42	M	PV	aUPD	p.Q442X	63%	Non-sens	<<0,1%	Absent	39	NA	NA	SH2		TierI/II	JAK2V617F	JAK2 (96) PPM1D (15) SH2B3 (63)	NR	NR	NR	NR	NR	NR

49	F	MFP	aUPD	p.Q423X	93%	Non-sens	Absent	Absent	39	NA	NA	SH2	(Ha and Jeon, 2011)	TierI/II	CALR exon 9	2 ASXL1 (5-15) CALR (39) EZH2 (41) SH2B3 (93)	NR	12,0	77	NR	Spénomégalie	NR
55	M	MFP	N	p.R308X	48%	Non-sens	<<0,1%	LAM LAL B LAL T	36	NA	NA	SH2		TierI/II	JAK2V617F	ASXL1 (39) ETV6 (3) EZH2 (2) JAK2 (38) SH2B3 (48)	NR	9,7	99	NR	NR	NR
11	F	MF	N	p.F389S	6%	Faux-sens	Absent	Absent	32	D	LP	SH2		TierI/II	JAK2V617F	ASXL1 (9) JAK2 (76) SH2B3 (6) TET2 (22)	17,4	NR	NR	NR	NR	Ruxolitinib
7	F	MF	N	p.G307AfsX17	1%	Frameshift (ins/del)	Absent	Absent	NA	NA	NA	PH		TierI/II	JAK2V617F MPL K553E	JAK2 (48) MPL (13) SH2B3 (1) 4 TET2 (1-4-5-7)	NR	10,4	425	NR	NR	NR

Tableau des patients mutés sur un gène driver. PV : polyglobulie de Vaquez, TE : Thrombocytémie essentielle, MFP : Myélofibrose primitive, MF : Myélofibrose secondaire ; LOH (*loss of heterozygosity*) : perte d'un allèle de *SH2B3* ; aUPD (*acquired uniparental disomy*) : disomie uniparentale acquise ; N : Absence ; fs (*frameshift*): insertion, délétion ou duplication engendrant un décalage du cadre de lecture; VAF : fréquence allélique ; MAF : Fréquence de l'allèle mineur ; Hb : hémoglobine ; Plq : plaquettes

Tableau 12 - Patients avec des mutations classées en Tier I/II

Patient	Sexe	Indication du NGS	LOH	Protéine	VAF (%)	Type de mutation	MAF (GnomAD)	COSMIC ClinVar Hémopathie	CADD-Phred	REVEL	AlphaMissens	Domaine fonctionnel	Littérature	NGS (VAF%)	EPO	Mesure masse globulaire	Culture progéniteur	Hb	Plq	BIOPSIE	Signes cliniques	Traitements
34	F	TE	N	p.H366R	1	Faux-sens	Absent	NA	27	D	LP	SH2		3 DNMT3A (2-3-16) SH2B3 (1)	NR	NR	NR	14,3	546		Moelle Normale Pas d'argument pour un SMP	
38	F	TE	N	p.R392Q	1,4	Faux-sens	<<0,1%	LALT LMMC	32	D	LP	SH2	(Maslah et al., 2017)	SH2B3 (1.4)	NR	NR	NR	11,6	500			
36	M	TE	N	p.Q376X	2	Non-sens	Absent	NA	38	NA	NA	SH2		SH2B3 (2)	10,3	NR	Absence de pousse sans EPO	13,9	192	NR	Non	
43	F	TE	N	p.R83TfsX40	13	Frameshift (ins/del)	Absent	NA	NA	NA	NA	N-ter		ASXL1 (4) SF3B1(37) SH2B3 (13) SH2B3 (22)	NR	NR	NR	NR	NR			
52	F	TE	N	p.L239P	13	Faux-sens	Absent	NA	29	D	LP	PH		SH2B3 (13) Non rendu: SH2B3-E400K (50%)	NR	NR	NR	NR	NR			
43	F	TE	N	c.1408+1G>A	22	Anomalie épissage	Absent	NA	SpliceAI:AG/AL DG/DL: 0 / 0,2 0,42 / 0,99 CADD-Phredd: 34			C-ter		ASXL1 (4) SF3B1(37) SH2B3 (13) SH2B3 (22)	NR	NR	NR	NR	NR			
33	F	TE	N	p.L359PfsX26	26	Frameshift (ins/del)	Absent	NA	NA	NA	NA	PH-SH2		2 SF3B1 (7-37) SH2B3 (26)	NR	NR	NR	12,8	807			

9	F	TE	N	p.G367SfsX4	28	Frameshift (ins/del)	Absent	NA	NA	NA	NA	SH2		SH2B3 (28)	NR	NR	NR	NR	NR			
13	F	TE	N	p.E395K	48	Faux-sens	<0,1%	TE Thrombocytose familiale** PFCP*	30	D	LP	SH2	(Bastarache et al., 2018) (Maslah et al., 2017) (Magor et al., 2017)	SH2B3 (48)	NR	NR	NR	NR	NR			
44	M	TE	N	p.D485VfsX63	49	Frameshift (ins/del)	Absent	NA	NA	NA	NA	C-ter		SH2B3 (49)	8,00	NR	NR	15,3	476	Hyperplasie des 3 lignées myéloïdes avec dystrophies mégacaryocytaires, compatible avec un syndrome myéloprolifératif chronique. Absence de fibrose médullaire (MFO).	Normal	Hydrea, Kardégic
51	F	TE	N	p.R221GfsX57	49	Frameshift (ins/del)	Absent	NA	NA	NA	NA	PH		SH2B3 (49)	NR	NR	NR	12,5	724		Frissons Sueurs nocturnes Pas de splénomégalie	
61	F	TE	N	p.R415AfsX41	49	Frameshift (ins/del)	Absent	NA	NA	NA	NA	SH2		SH2B3 (49)	NR	NR	NR	13,7	686		Sœur TE (même mutation) Hypoacousie des sons aigus avec acouphène	Non
14	F	TE	N	p.E395K	51	Faux-sens	<0,1%	TE Thrombocytose familiale** PFCP*	30	D	LP	SH2	(Bastarache et al., 2018) (Maslah et al., 2017) (Magor et	CUX1 (3) SH2B3 (51)	NR	NR	NR	13,9	564			

													al., 2017)									
53	F	TE	N	p.S246X	52	Non-sens	Absent	NA	40	NA	NA	PH		SH2B3 (52)	3,00	NR	Absence de pousse sans EPO	NR	NR	Légère hyperplasie mégacaryocytaire MF1	score IPSET thrombosis 0	
28	F	TE	N	p.R415AfsX41	54	Frameshift (ins/del)	Absent	NA	NA	NA	NA	SH2		SH2B3 (54)	2,90	NR	Absence de pousse sans EPO	13,8	531	Rare mégacaryocytes dystrophiques	Sœur TE (même mutation)	Non
57	F	TE	N	p.G367AfsX6	57	Frameshift (ins/del)	Absent	NA	NA	NA	NA	SH2		SH2B3 (57) TET2 (2)	12,20	VGT 140% de la valeur théorique	NR	14,8	737	Hyperplasie des 3 lignées myéloïdes avec dystrophies mégacaryocytaires, compatible avec un syndrome myéloprolifératif chronique. Absence de fibrose médullaire (MFO).	Normal	Hydrea, Résitune
56	F	TE	CNA	p.Y203C	76	Faux-sens	<<0,1%	NA	24	Uncertain	LP	SH2		DNMT3A (45) IDH2 (46) Non rendu: SH2B3 (76)	23,4	NR	Echec	9,5	626			3ème ligne: Interferon seul
60	F	PV	N	p.R457W	1,30	Faux-sens	<<0,1%	NA	26	Uncertain	LB	SH2		SH2B3 (1.3%)	NR	NR	NR	NR	NR			
12	M	PV	N	p.R392Q	2	Faux-sens	<<0,1%	LMC LAL T	32	D	LP	SH2	(Maslah et al., 2017)	SH2B3 (2)	15,90	NR	NR	18,2	217	Possible apnée du sommeil Pas d'argument clair pour une vraie PV car pas d'évolution en 7 ans avec Hte variant entre 49,5 et 53,8%	IBESARTAN CELECTOL ESIDREX ALLOPURINOL PHOSPONEUROS PANTOPRAZOLE	

45	M	PV	N	p.L489FfsX59	2	Frameshift (ins/del)	Absent	NA	NA	NA	NA	C-ter		SH2B3 (2) STAT5B (10)	7,20	NR	NR	17,1	194			BRIQUE KARDECIC 75mg/j RAMIPRIL ATORVASTATINE PANTOPRAZOLE HYDROCHLOROTIA SIDE
58	M	PV	N	p.D231GfsX39	2	Frameshift (ins/del)	Absent	NA	NA	NA	NA	PH		SH2B3 (2)	4,30	NR	NR	16,8	285	Normal		PERINDOPRIL 1.25 mg, - ATORVASTATINE 10 mg, - DUTASTERIDE/TA MSULOSINE 0.5/0.4 mg.
10	M	PV	N	p.F389C	2	Faux-sens	Absent	NA	32	D	LP	SH2		DNMT3A (2) SH2B3 (2) TET2 (4)	9,90	NR	NR	14,2	187			
46	M	PV	N	p.L510RfsX38	5	Frameshift (ins/del)	Absent	TE	NA	NA	NA	C-ter	(Hurtado et al., 2011)	PPM1D (1,2) SF3B1 (5) MPL (49) SH2B3 (5) SRSF2 (1,3)	12,4 0	NR	NR	17,3	198			
31	M	PV	N	p.H500RfsX13	6	Frameshift (ins/del)	Absent	NA	NA	NA	NA	C-ter		DNMT3A (11) 2 PPM1D (3-2) SH2B3 (6) SMC1A (5)	13,9 0	NR	NR	16,9	112	IRC IIB		KARDECIC 75mg/j LERCAN CRESTOR NEURONTIN RAMIPRIL ALLOPURINOL PANTOPRAZOLE REPAGLINIDE OZEMPIC FORXIGA KAYEXALATE
25	M	PV	N	p.Y401H	48	Faux-sens	Absent	NA	28	D	LP	SH2		ASXL1 (6) SH2B3 (48)	8,40	NR	NR	NR	NR			
26	M	PV	N	p.Y401H	49	Faux-sens	Absent	NA	28	D	LP	SH2		SH2B3 (49)	6,50	Pas d'anomal ie à	NR	NR	NR			

Tableau 13 - Patients avec des variations de signification indéterminée : Tier III

Patients	Sexe	Indication du NGS	Protéine	VAF	Type de mutation	MAF (GnomAD)	COSMIC/ ClinVar (Hémopathie)	CADD-Phred	REVEL	Alpha Missens	Domaine fonctionnel	Littérature	NGS (VAF%)	SH2B3 non rendu (VAF%)	EPO	Mesure masse globulaire + Culture de progéniteur + BOM	Hb	Plq	Autres
8	M	PV	p.A342S	47%	Faux-sens	Absent	NA	22,5	B	LB	PH-SH2		DNMT3A (2) SH2B3 (47) TET2 (5)		NA	NR	17,2	222	
3	F	PV	p.E208Q	49%	Faux-sens	>0,1%	TE LMMC EI	26	B	LB	PH	(Oh et al., 2010) (Spolverini et al., 2013)	Analyse négative.	SH2B3 (49)	6,00	Absence de pousse sans EPO	NR	NR	ATCD de thrombose veineuse
4	F	PV	p.E208Q	52%	Faux-sens	>0,1%	TE LMMC EI	26	B	LB	PH	(Oh et al., 2010) (Spolverini et al., 2013)	Analyse négative.	SH2B3 (52)	NA	NR	16,5	268	Acrosyndrome
5	M	PV	p.E208Q	52%	Faux-sens	>0,1%	TE LMMC EI	26	B	LB	PH	(Oh et al., 2010) (Spolverini et al., 2013)	Analyse négative.	SH2B3 (52)	NA	NR	17,9	252	
19	F	Bilan de thrombose	p.E400K	49%	Faux-sens	>0,1%	LAM PFCP*	30	D	LP	SH2	(McMullin et al., 2011)	ASXL1 (11) NF1 (5)	SH2B3 (49)	NA	NR	9,3	244	Thrombose porte
22	F	Bilan de thrombose	p.E400K	50%	Faux-sens	>0,1%	LAM PFCP*	30	D	LP	SH2	(McMullin et al., 2011)	Analyse négative.	SH2B3 (50)	NA	NR	NR	NR	
24	F	Bilan de thrombose	p.E400K	52%	Faux-sens	>0,1%	LAM PFCP*	30	D	LP	SH2	(McMullin et al., 2011)	CBL (2) CHEK2 (48) NF1 (1.2)	SH2B3 (52)	NR	NR	13,6	255	Paresthésie Gène oculaire Thromboses CIVD

17	M	PV	p.E400K	48%	Faux-sens	>0,1%	LAM PFCP*	30	D	LP	SH2	(McMullin et al., 2011)	Analyse négative	SH2B3 (48)	3,70	Mesure :155% de la masse globulaire théorique Culture: Absence de pousse sans EPO BOM: Hyperplasie des 3 lignées cellulaires	19,4	NR	Érythrose faciale BPCO sans dyspnée Bulbe capillaire E400K Traité par Kardégic et saignées si signes d'hyperviscosité Conseil génétique en cours
18	M	PV	p.E400K	49%	Faux-sens	>0,1%	LAM PFCP*	30	D	LP	SH2	(McMullin et al., 2011)	Analyse négative.	SH2B3 (49)	9,20	NR	NR	NR	
20	M	PV	p.E400K	49%	Faux-sens	>0,1%	LAM PFCP*	30	D	LP	SH2	(McMullin et al., 2011)	NF1 (11)	SH2B3 (49)	6,60	NR	18,0	299	
23	M	PV	p.E400K	51%	Faux-sens	>0,1%	LAM PFCP*	30	D	LP	SH2	(McMullin et al., 2011)	Analyse négative.	SH2B3 (51)	15,40	Mesure :169% de la masse globulaire théorique Culture: Absence de pousse sans EPO	15,1	73	Splénomégalie modérée Varices œsophagiennes
16	F	TE	p.E400K	47%	Faux-sens	>0,1%	LAM PFCP*	30	D	LP	SH2	(McMullin et al., 2011)	Analyse négative.	SH2B3 (47)	NA	NR	NR	NR	Thrombocytose isolée
21	F	TE	p.E400K	50%	Faux-sens	>0,1%	LAM PFCP*	30	D	LP	SH2	(McMullin et al., 2011)	Analyse négative.	SH2B3 (50)	NR	NR	12,7	477	Pas de signe clinique Thrombocytose apparentés (grand-père et père)
52	F	TE	p.E400K	50%	Faux-sens	>0,1%	LAM PFCP*	30	D	LP	SH2	(McMullin et al., 2011)	SH2B3 p.L239P (13)	SH2B3 (50)	NA	NR	NR	NR	
50	M	PV	p.F182L	50%	Faux-sens	>0,1%	NA	15,3	B	LB	N-ter	rs7972796	DNMT3A (28) SH2B3 (50)		6,50	NR	18,1	198	

Tableau des patients dont la mutation de *SH2B3* est classé en catégorie C. PV : polyglobulie de Vaquez, TE : Thrombocytémie essentielle, MFP : Myélofibrose primitive, MF : Myélofibrose secondaire ; fs (*frameshift*): insertion, délétion ou duplication engendrant un décalage du cadre de lecture; VAF : fréquence allélique ; MAF : Fréquence de l'allèle mineur ; Hb : hémoglobine ; Plq : plaquettes

V. Discussion

A. Coexistence de mutations constitutionnelles et somatiques

1. Discussion des profils de patients

Notre étude, conformément à ce qui a été décrit dans des études précédentes, confirme le rôle probable de mutations somatiques et constitutionnelles de *SH2B3* chez des patients pour lesquels sont suspectés des syndromes myéloprolifératifs (SMP) et des syndromes myélodysplasiques (SMD) ou des formes chevauchantes SMP/SMD. Les patients présentant des mutations évoquant des formes constitutionnelles sont souvent plus jeunes et semblent présenter des phénotypes moins évolués par rapport aux patients avec des mutations somatiques.

2. Hypothèse physiopathologique

La coexistence de mutations constitutionnelles et somatiques de *SH2B3* dans les SMP et SMD suggère un modèle physiopathologique complexe où une mutation constitutionnelle prédispose à la maladie, tandis que des mutations somatiques supplémentaires, acquises au cours du temps, favorisent la progression clonale et l'évolution de la maladie. Les mutations de LNK affectent principalement la voie de signalisation JAK/STAT, cruciale pour la régulation de la prolifération cellulaire. L'analyse montre une prédominance des mutations dans les domaines SH2 et PH. Dans ces deux domaines, les mutations peuvent potentiellement entraîner une protéine LNK dysfonctionnelle, compromettant ainsi l'inhibition du système JAK/STAT. De plus, certains codons stop prématurés (dus à des insertions/délétions provoquant un décalage du cadre de lecture ou à des substitutions de type non-sens) situés dans le domaine C-terminal entraînent la perte du codon Y572, essentiel pour la fixation de la protéine CBL.

B. Association fréquente d'autres mutations

1. *SH2B3* associée à une mutation promotrice :

Les patients présentant à la fois des mutations de *SH2B3* et des mutations drivers (telles que *JAK2*, *CALR*, ou *MPL*) ont tendance à avoir un nombre élevé de mutations et des VAF élevées pour *JAK2V617F*, indiquant une charge clonale importante et fréquemment la perte d'hétérozygotie sur le gène *JAK2* par un mécanisme d'UPD (*uniparental disomy*) acquis. Il s'agit de patients présentant donc souvent des phénotypes plus évolués, tels qu'une myélofibrose débutante ou une TE ou PV plus avancées. La présence concomitante de *SH2B3* et de mutations dites driver suggère une coopération entre ces mutations pour promouvoir la progression de la maladie. L'importance de la mesure du volume globulaire total (VGT) dans les PV et de la biopsie ostéomédullaire (BOM) est soulignée dans ces cas pour affiner le diagnostic, évaluer l'étendue de la fibrose médullaire et guider la prise en charge thérapeutique. Une analyse plus approfondie est nécessaire pour comprendre comment ces mutations influencent la progression vers la myélofibrose. Cela pourrait aider à identifier de nouveaux biomarqueurs spécifiques pour la stratification des risques.

2. *SH2B3* associée à d'autres mutations :

- Profil SMD ou SMD/SMP avec des variations de *SH2B3* : Les patients présentant des mutations de *SH2B3* en association avec d'autres mutations (mais sans mutation driver identifiable) montrent une grande variabilité dans le nombre de mutations et le profil clinique. Certains de ces patients présentent des caractéristiques compatibles avec un syndrome myélodysplasique ou un profil mixte SMD/SMP, ce qui suggère que ces mutations peuvent orienter vers des diagnostics alternatifs. Cela met en évidence l'importance de l'interprétation complète du panel génétique. L'associer à la cytologie pour soutenir le diagnostic et détecter des signes de dysplasies afin de différencier les SMP des autres troubles myéloïdes est indispensable. Cela permet d'éviter des diagnostics erronés basés sur des critères cliniques seuls.

Les mutations non « NULL » doivent être réévaluées en tenant compte du contexte global des mutations présentes. Cela peut fournir des indices sur la progression potentielle de la maladie et aider à stratifier le risque chez ces patients.

- Profil de CHIP avec des variations de SH2B3 : Les variants de *SH2B3* observés en association avec des mutations de type CHIP, sont souvent présents à des VAF proches de 50 %. Ces mutations de CHIP, bien que ne causant pas nécessairement une maladie active, pourraient prédisposer les patients à une transformation ultérieure en SMP ou SMD, surtout en présence de mutations supplémentaires, comme celle de *SH2B3*.

3. *SH2B3* isolée

Les patients avec des mutations de *SH2B3* isolées présentent un éventail de types de mutations, incluant des frameshifts, non-sens, et faux-sens, avec une proportion notable de mutations suggérant une origine constitutionnelle. L'impact clinique de ces mutations dépend de leur nature et de leur contexte génétique global. La proportion de mutations constitutionnelles parmi les mutations de *SH2B3* isolées nécessite une évaluation approfondie pour comprendre leur rôle potentiel dans la prédisposition aux SMP et dans la stratification du risque.

La mutation p.E395K a été observée avec une fréquence proche de celle de la population dans la cohorte (<0,1%). Les expériences *in vitro* menées par Bastarache et al. (2018) ont montré que ces variantes ne parviennent pas à inhiber la phosphorylation de l'ERK induite par l'EPO, indiquant une perte de fonction qui pourrait expliquer leur rôle dans la dysrégulation des voies de signalisation dans les SMP. Ces résultats concordent avec des études antérieures montrant que p.E395K est impliquée dans divers contextes pathologiques, y compris la leucémie myéломocyttaire chronique (LMMC) et la thrombocythémie essentielle (Loscocco et al., 2016).

Les variations de *SH2B3* classées comme possiblement pathogènes sont rares dans les bases de données de population et absentes de la littérature, ce qui suggère qu'elles pourraient avoir un impact pathogène. La majorité de ces mutations se situe dans le domaine SH2, ce

qui pourrait indiquer des régions vulnérables aux altérations fonctionnelles. Les mutations introniques qui pourraient perturber l'épissage nécessitent des validations fonctionnelles pour confirmer leur impact, tandis que les mutations faux-sens avec des VAF proches de 50 % pourraient indiquer des anomalies constitutionnelles, pouvant justifier des conseils génétiques.

Les variants de signification indéterminée, tels que p.E400K et p.E208Q, nécessitent une évaluation approfondie en raison de leur fréquence et de leur association avec différents types de SMP. Bien que la p.E400K soit associée à une fonction normale de LNK dans des études *in vitro* (McMullin et al., 2011), son rôle pathogène n'est pas clairement établi. En effet, ils ont trouvé deux patients présentant ce variant non synonyme avec une fonction LNK normale. Puis ils l'ont démontré dans des études fonctionnelles *in vitro* sur une lignée cellulaire hématopoïétique 32D/EPOR. Une autre étude de Camps et al. (2016) portant sur 125 patients a identifié des variants *SH2B3* chez 5 patients, y compris p.E208Q et p.E400K. Cependant, l'ADN germlinal n'a pas été testé dans la plupart des cas, rendant incertain le fait que cette mutation soit germinale ou acquise. Dans les deux cas l'étude de leur impact fonctionnel est nécessaire.

Les résultats antérieurs de Maslah et al. (2017) montrent que les mutations de *SH2B3* se produisent à faible fréquence dans les SMP et l'érythrocytose idiopathique (EI), et leur contribution clinique nécessite une étude plus détaillée.

C. Impact des variants de *SH2B3* sur les syndromes myéloprolifératifs : comparaison avec la littérature

Dans notre étude, les variants de *SH2B3* ont été répartis en trois sous-groupes : Tier I/II « NULL », Tier I/II « Autres » et Tier III. En comparant les mutations de Tier I/II à celles de Tier III, nous constatons que les variants de Tier I/II sont associés à une tendance de thrombocytoses plus prononcée et à un risque accru de progression de la maladie, ou à des formes plus agressives dès le départ. Les variants de Tier III, quant à eux, présentent un groupe plus hétérogène. Bien que certains de ces variants soient observés dans des cas de suspicion de polyglobulie de Vaquez associés à des mutations *JAK2*, d'autres Tier III pourraient représenter des situations où *SH2B3* n'est pas pathogène ou, au contraire, des formes d'érythrocytose congénitale. Cette hétérogénéité pourrait expliquer les niveaux de

plaquettes observés dans la Figure 22B des patients pour lesquels une suspicion de PV avait été indiquée dans l'indication du NGS.

Cela suggère que les mutations de Tier I/II, notamment les variants « NULL » qui entraînent une perte de fonction, jouent un rôle clé dans la pathogénèse de la thrombocytose et dans le caractère potentiellement plus agressif de ces profils. Ces observations s'inscrivent dans la continuité des travaux d'Arfeuille et al., qui ont montré des conclusions similaires chez des patients atteints de leucémie myélomonocytaire juvénile mutés *SH2B3*, présentant des formes isolées de thrombocytose. Le mécanisme par lequel les patients déficients en LNK passent d'un défaut majeur de production plaquettaire à une production excessive reste mal compris. L'effet de la perte de LNK sur la mégacaryopoïèse pourrait être dépendant de l'âge. En effet, le rôle de la thrombopoïétine diffère entre les cellules souches hématopoïétiques fœtales, qui possèdent une grande capacité de prolifération et d'auto-renouvellement jusqu'à 6 mois après la naissance, et les CSH adultes, qui sont maintenues en état de quiescence. La perte progressive de ce contexte fœtal pourrait expliquer la régression spontanée de la LMMJ et le passage à une thrombocytose.¹⁹²

D. Cas d'interprétation difficile

1. Compléter par la BOM

Dans les cas où l'interprétation des mutations génétiques reste difficile ou ambiguë, la BOM s'avère un outil diagnostique précieux. Elle permet de clarifier la nature de l'infiltration médullaire, le stade de la fibrose, de caractériser le type cellulaire impliqué et de guider les décisions thérapeutiques, en particulier dans les cas de mutations multiples ou de profils atypiques.

2. Études familiales

Les études familiales permettent de dépister la mutation chez d'autres membres de la famille. Ces études peuvent identifier des porteurs asymptomatiques et fournir des informations sur la pénétrance et le risque familial, aidant ainsi à définir des stratégies de surveillance et d'intervention précoces.

3. Constitution d'une banque nationale et participation aux RCP du FIM

La constitution d'une banque nationale de données génétiques et la participation active aux Réunions de Concertation Pluridisciplinaire (RCP) du FIM (France Intergroupe des syndromes Myéloprolifératifs) sont recommandées pour centraliser les données sur les mutations de *SH2B3*. Une telle banque permet d'améliorer la compréhension des mutations rares, de faciliter la recherche collaborative, d'uniformiser les pratiques cliniques et de guider le développement de nouvelles stratégies de traitement personnalisées.

E. Proposition d'un arbre décisionnel de prise en charge

L'intégration de l'arbre décisionnel dans cette thèse vise à améliorer la prise en charge des patients suspects de syndromes myéloprolifératifs avec mutations de *SH2B3*. Cet outil propose un parcours de diagnostic adapté en fonction des résultats biologiques et des résultats génétiques. Il distingue les patients avec suspicion de thrombocythémie essentielle ou polyglobulie de Vaquez de ceux présentant une suspicion de myélofibrose, en orientant chaque groupe vers des examens spécifiques tels que l'hémogramme, le frottis sanguin, et le NGS pour affiner et/ou affirmer le diagnostic et évaluer l'évolution de la maladie.

Pour les cas complexes ou incertains, l'arbre décisionnel recommande des analyses supplémentaires, comme la BOM ou le myélogramme ou encore des études familiales, afin de clarifier le statut mutationnel et d'améliorer la précision diagnostique. Il encourage également la participation à des initiatives collaboratives, telles que la constitution d'une banque nationale de données, pour approfondir la compréhension de l'impact des mutations de *SH2B3* et optimiser la prise en charge des patients.

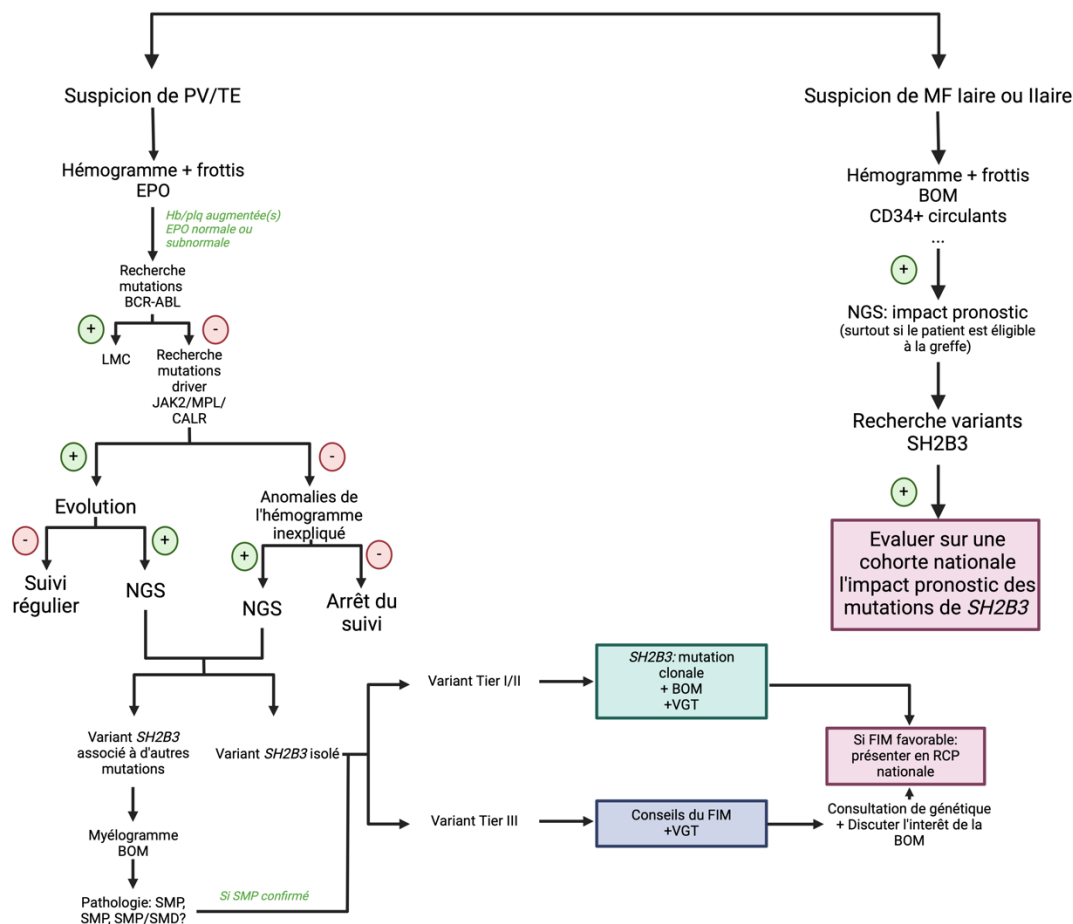


Figure 28 - Arbre décisionnel de prise en charge des patients suivi dans le cadre d'un bilan de diagnostic de SMP, pour lesquels une mutation de SH2B3 est retrouvée.

F. Limites de l'étude

Bien que cette étude ait permis d'analyser plus de 4000 profils de NGS de patients, en identifiant 61 patients avec des variations de *SH2B3* dignes d'intérêt, elle présente certaines limites inhérentes à la nature des données et des mutations étudiées. Malgré ces limitations, notre travail contribue de manière significative à l'avancement des connaissances sur les mutations de *SH2B3* dans les syndromes myéloprolifératifs.

La taille de l'échantillon de 61 patients, bien que substantielle dans le contexte des recherches sur des mutations rares, reste relativement restreinte pour tirer des conclusions généralisables. La faible prévalence de chaque variant, combinée à l'absence de sites de mutation « hotspot » clairement définis dans le gène *SH2B3*, complique la généralisation des

résultats à une population plus large. Néanmoins, l'étude a permis de recenser de nombreux variants de *SH2B3*, dont 34 qui n'avaient jamais été décrits auparavant, ouvrant ainsi de nouvelles perspectives pour la recherche future.

La collecte de données provenant de nombreux hôpitaux a posé des défis en matière d'harmonisation des méthodes de recueil des données cliniques et biologiques. Bien que cette diversité augmente la représentativité des résultats, elle peut également introduire des variations et des biais dans les interprétations cliniques. Malgré ces défis, l'étude a réussi à démontrer la complexité des profils mutationnels des SMP.

L'absence d'études fonctionnelles approfondies sur les mutations identifiées constitue une limitation importante. Sans ces études, il est difficile de comprendre pleinement l'impact biologique des variants de *SH2B3*, limitant ainsi notre capacité à déterminer leur rôle exact dans la pathogenèse des SMP. Toutefois, cette limitation souligne également la nécessité d'études fonctionnelles futures, et met en lumière le potentiel d'exploration et de validation de ces variants.

Similairement, l'absence d'études de ségrégation génétique et le manque de prélèvements autres que des cellules sanguines (comme les fibroblastes) dans les cas suggérant des formes familiales réduisent notre capacité à conclure sur le caractère héréditaire de certaines mutations. Malgré cela, notre étude propose des hypothèses solides sur la coexistence de mutations somatiques et constitutionnelles, jetant ainsi les bases pour des recherches futures dans ce domaine.

Cela renforce le besoin de collaborations multicentriques et d'études de plus grande envergure à l'avenir. Notre étude montre clairement l'importance de tels efforts collaboratifs pour améliorer la compréhension des SMP et guider le développement de stratégies diagnostiques et thérapeutiques plus efficaces.

En somme, malgré ces limitations, notre étude a apporté des contributions significatives à la compréhension des variations de *SH2B3* dans les SMP, révélant des domaines clés pour la recherche future et soulignant l'importance de poursuivre les efforts pour élucider le rôle complexe de ces mutations dans la biologie des SMP.

VI. Conclusion

Cette étude des mutations du gène *SH2B3* dans les néoplasies myéloprolifératives met en évidence une hétérogénéité génétique significative et souligne le rôle crucial de *SH2B3* dans la pathogenèse de ces maladies. *SH2B3*, en tant que régulateur négatif de la voie de signalisation JAK/STAT, joue un rôle clé dans la prolifération et la survie cellulaire. Les mutations identifiées, qu'elles soient somatiques ou potentiellement constitutionnelles, perturbent cette régulation, contribuant ainsi à une activation anormale de la voie JAK/STAT et favorisant le développement des SMP.

L'analyse a révélé une gamme variée de mutations de *SH2B3*, y compris des mutations faux-sens, frameshift, non-sens et des anomalies d'épissage, principalement situées dans les domaines fonctionnels critiques de la protéine LNK tels que les domaines PH et SH2 ainsi que des pertes d'hétérozygotie. Ces mutations impactent directement la capacité de LNK à interagir avec ses partenaires protéiques et à inhiber l'activité de la voie JAK/STAT, ce qui pourrait expliquer l'hyperprolifération cellulaire observée chez les patients atteints.

Les résultats montrent que les mutations de *SH2B3* peuvent se manifester de manière isolée ou en combinaison avec d'autres mutations promotrices comme *JAK2*, *CALR*, et *MPL*, ainsi qu'avec des mutations fréquemment associées aux hémopathies myéloïdes, telles que *ASXL1*, *DNMT3A*, *NF1*, et *TET2*. Cette observation suggère que *SH2B3* pourrait avoir un rôle indépendant dans le développement des SMP, tout en pouvant coopérer avec d'autres mutations pour promouvoir des hémopathies.

L'analyse des fréquences alléliques des mutations de *SH2B3* a permis de distinguer les mutations somatiques des potentielles mutations constitutionnelles. Les mutations somatiques, typiquement présentes avec des fréquences alléliques inférieures à 40 %, suggère une apparition au cours de la vie du patient. En revanche, les mutations avec des fréquences alléliques proches de 50 % suggèrent une origine constitutionnelle, posant des questions sur la prédisposition génétique et la surveillance clinique de ces patients. Cette distinction est importante pour le pronostic et le traitement des SMP, car les mutations constitutionnelles pourraient signaler une évolution moins agressive de la maladie, similaire aux observations faites pour les thrombocytoses familiales comparées aux thrombocythémies

essentielles. Ces patients nécessitent des conseils génétiques adaptés et une étude de co-ségrégation.

Aucun patient présentant des signes de polyglobulie de Vaquez et muté sur *SH2B3* sans mutation de *JAK2* n'a montré de croissance des progéniteurs érythroïdes en culture sans EPO, ce qui pourrait indiquer que les mutations de *SH2B3* lèvent l'inhibition de la voie JAK/STAT mais n'induisent pas une activation constitutive de cette voie en absence d'EPO, contrairement aux mutations de *JAK2*. Cette distinction fonctionnelle entre *SH2B3* et *JAK2* souligne l'importance d'examiner les différences mécanistiques dans la régulation de la signalisation JAK/STAT.

À l'avenir, des études plus approfondies sont nécessaires pour élucider les mécanismes exacts par lesquels chaque mutation non tronquante de *SH2B3* modifie la signalisation cellulaire et contribue à la pathogenèse des SMP. L'intégration de la génomique, de la cytologie et des études familiales est essentielle pour une compréhension plus nuancée du rôle de *SH2B3* et des autres mutations dans ces maladies. Des panels génomiques complets, des études fonctionnelles, et l'utilisation de modèles animaux et cellulaires pourraient fournir des informations précieuses sur le rôle complexe de LNK dans la biologie des SMP, améliorant ainsi la stratification des risques et les stratégies de traitement personnalisées pour les patients atteints de ces néoplasmes.

VII. Bibliographie

1. Kent, D. *et al.* Regulation of hematopoietic stem cells by the steel factor/KIT signaling pathway. *Clin Cancer Res* **14**, 1926–1930 (2008).
2. Huang, X., Cho, S. & Spangrude, G. J. Hematopoietic stem cells: generation and self-renewal. *Cell Death Differ* **14**, 1851–1859 (2007).
3. Tikhonova, A. N. *et al.* The bone marrow microenvironment at single-cell resolution. *Nature* **569**, 222–228 (2019).
4. Ghosh, K., Shome, D. K., Kulkarni, B., Ghosh, M. K. & Ghosh, K. Fibrosis and bone marrow: understanding causation and pathobiology. *J Transl Med* **21**, 703 (2023).
5. Wu, H., Liu, X., Jaenisch, R. & Lodish, H. F. Generation of committed erythroid BFU-E and CFU-E progenitors does not require erythropoietin or the erythropoietin receptor. *Cell* **83**, 59–67 (1995).
6. Bersenev, A., Wu, C., Balcerek, J. & Tong, W. Lnk controls mouse hematopoietic stem cell self-renewal and quiescence through direct interactions with JAK2. *J Clin Invest* **118**, 2832–2844 (2008).
7. Metcalf, D. Hematopoietic cytokines. *Blood* **111**, 485–491 (2008).
8. Boulais, P. E. & Frenette, P. S. Making sense of hematopoietic stem cell niches. *Blood* **125**, 2621–2629 (2015).
9. Godin, I. & Cumano, A. [Hematopoietic stem cells: where do they come from at last?]. *Med Sci (Paris)* **23**, 681–684 (2007).
10. de Bruijn, M. F. T. R., Speck, N. A., Peeters, M. C. E. & Dzierzak, E. Definitive hematopoietic stem cells first develop within the major arterial regions of the mouse embryo. *EMBO J* **19**, 2465–2474 (2000).
11. Fiedler K, Brunner C. Mechanisms Controlling Hematopoiesis. *Hematology - Science and Practice*. 3–29 (2012) doi:doi.org/10.5772/33749.
12. Akashi, K., Traver, D., Miyamoto, T. & Weissman, I. L. A clonogenic common myeloid progenitor that gives rise to all myeloid lineages. *Nature* **404**, 193–197 (2000).
13. Kondo, M., Weissman, I. L. & Akashi, K. Identification of clonogenic common lymphoid progenitors in mouse bone marrow. *Cell* **91**, 661–672 (1997).
14. Brown, G. *et al.* Versatility of stem and progenitor cells and the instructive actions of cytokines on hematopoiesis. *Crit Rev Clin Lab Sci* **52**, 168–179 (2015).
15. Marie-Catherine Giarratana, Luc Douay. Le globule rouge de culture : une nouvelle étape dans l'ingénierie cellulaire. **MEDECINE/SCIENCES 2005; 21 : 231-44**,.
16. Arber, D. A. *et al.* The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood* **127**, 2391–2405 (2016).
17. Dameshek W. Some speculations on the myeloproliferative syndromes [editorial]. *Blood*. 1951;6(4):372-375. *Blood* **127**, 663 (2016).

18. Nowell, P. C. & Hungerford, D. A. Chromosome Studies on Normal and Leukemic Human Leukocytes. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute* **25**, 85–109 (1960).
19. Rowley, J. D. Letter: A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukaemia identified by quinacrine fluorescence and Giemsa staining. *Nature* **243**, 290–293 (1973).
20. Prchal, J. F. & Axelrad, A. A. Letter: Bone-marrow responses in polycythemia vera. *N Engl J Med* **290**, 1382 (1974).
21. Ugo, V., James, C. & Vainchenker, W. [A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera]. *Med Sci (Paris)* **21**, 669–670 (2005).
22. Pikman, Y. *et al.* MPLW515L is a novel somatic activating mutation in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *PLoS Med* **3**, e270 (2006).
23. Pardanani, A. D. *et al.* MPL515 mutations in myeloproliferative and other myeloid disorders: a study of 1182 patients. *Blood* **108**, 3472–3476 (2006).
24. Lasho, T. L. *et al.* Concurrent MPL515 and JAK2V617F mutations in myelofibrosis: chronology of clonal emergence and changes in mutant allele burden over time. *Br J Haematol* **135**, 683–687 (2006).
25. Klampfl, T. *et al.* Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms. *N Engl J Med* **369**, 2379–2390 (2013).
26. Titmarsh, G. J. *et al.* How common are myeloproliferative neoplasms? A systematic review and meta-analysis. *Am J Hematol* **89**, 581–587 (2014).
27. Sandra Le Guyader-Peyrou *et al.* *Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine entre 1990 et 2018*. (2019).
28. Pr Jean BRIERE. Polyglobulie de Vaquez -ORPHA:729. (2010).
29. Diehn, F. & Tefferi, A. Pruritus in polycythaemia vera: prevalence, laboratory correlates and management. *Br J Haematol* **115**, 619–621 (2001).
30. Le Gall-Ianotto, C. *et al.* Clinical characteristics of aquagenic pruritus in patients with myeloproliferative neoplasms. *Br J Dermatol* **176**, 255–258 (2017).
31. FOUQUET, G. Pratiques courantes diagnostiques et thérapeutiques dans la Polyglobulie de Vaquez et la Thrombocythémie Essentielle Enquête auprès de 120 praticiens. (Faculté de Médecine Henri Warembourg, 2018).
32. Baxter, E. J. *et al.* Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. *Lancet* **365**, 1054–1061 (2005).
33. Kralovics, R. *et al.* A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. *N Engl J Med* **352**, 1779–1790 (2005).
34. Levine, R. L. *et al.* Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis. *Cancer Cell* **7**, 387–397 (2005).
35. Khoury, J. D. *et al.* The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms. *Leukemia* **36**, 1703–1719 (2022).

36. Barbui, T. *et al.* Initial bone marrow reticulin fibrosis in polycythemia vera exerts an impact on clinical outcome. *Blood* **119**, 2239–2241 (2012).
37. Swolin, B., Weinfeld, A. & Westin, J. A Prospective Long-Term Cytogenetic Study in Polycythemia Vera in Relation to Treatment and Clinical Course. *Blood* **72**, 386–395 (1988).
38. Lupak, O. *et al.* The role of a low erythropoietin level for the polycythemia vera diagnosis. *Blood Cells Mol Dis* **80**, 102355 (2020).
39. Chuzi, S. & Stein, B. L. Essential thrombocythemia: a review of the clinical features, diagnostic challenges, and treatment modalities in the era of molecular discovery. *Leuk Lymphoma* **58**, 2786–2798 (2017).
40. Bellucci S. Manifestations vasculaires au cours des thrombocythémies essentielles [Vascular complications of essential thrombocythemia]. *Bull Acad Natl Med* (2007).
41. Viallard, J.-F. & Parrens, M. Avancées récentes dans la thrombocythémie essentielle. *Mise au point*, **15**, 12. (2009).
42. Cashell, A. W. & Buss, D. H. The frequency and significance of megakaryocytic emperipolesis in myeloproliferative and reactive states. *Ann Hematol* **64**, 273–276 (1992).
43. Jürgen Thiele 1 , Hans Michael Kvasnicka, Fabio Facchetti, Vito Franco, Jon van der Walt, Attilio Orazi. European consensus on grading bone marrow fibrosis and assessment of cellularity. *Haematologica* 1128-1132. (2005).
44. Sever, M. *et al.* Cytogenetic abnormalities in essential thrombocythemia at presentation and transformation. *Int J Hematol* **90**, 522–525 (2009).
45. Gangat, N. *et al.* Cytogenetic abnormalities in essential thrombocythemia: prevalence and prognostic significance. *Eur J Haematol* **83**, 17–21 (2009).
46. Juvonen, E., Ikkala, E., Oksanen, K. & Ruutu, T. Megakaryocyte and erythroid colony formation in essential thrombocythaemia and reactive thrombocytosis: diagnostic value and correlation to complications. *Br J Haematol* **83**, 192–197 (1993).
47. Florensa, L. *et al.* Endogenous megakaryocyte and erythroid colony formation from blood in essential thrombocythaemia. *Leukemia* **9(2):271-273.**, (1995).
48. Rolovic, Z., Basara, N., Gotic, M., Sefer, D. & Bogdanovic, A. The determination of spontaneous megakaryocyte colony formation is an unequivocal test for discrimination between essential thrombocythaemia and reactive thrombocytosis. *Br J Haematol* **90**, 326–331 (1995).
49. Kutti, J. & Wadenvik, H. Diagnostic and differential criteria of essential thrombocythemia and reactive thrombocytosis. *Leuk Lymphoma* **22 Suppl 1**, 41–45 (1996).
50. Mesa, R. A., Li, C. Y., Schroeder, G. & Tefferi, A. Clinical correlates of splenic histopathology and splenic karyotype in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Blood* **97**, 3665–3667 (2001).
51. Barosi, G. *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* **22**, 437–438 (2008).

52. Michiels, J. J. Diagnostic criteria of the myeloproliferative disorders (MPD): essential thrombocythaemia, polycythaemia vera and chronic megakaryocytic granulocytic metaplasia. *Neth J Med* **51**, 57–64 (1997).
53. Vaughan, J. Leuco-erythroblastic anaemia and myelosclerosis. *J Pathol Bacteriol* 339–352 (1939).
54. Mesa, R. A. *et al.* Primary myelofibrosis (PMF), post polycythemia vera myelofibrosis (post-PV MF), post essential thrombocythemia myelofibrosis (post-ET MF), blast phase PMF (PMF-BP): Consensus on terminology by the international working group for myelofibrosis research and treatment (IWG-MRT). *Leuk Res* **31**, 737–740 (2007).
55. Thiele, J., Zankovich, R., Steinberg, T., Fischer, R. & Diehl, V. Agnogenic myeloid metaplasia (AMM)--correlation of bone marrow lesions with laboratory data: a longitudinal clinicopathological study on 114 patients. *Hematol Oncol* **7**, 327–343 (1989).
56. Thiele, J., Kvasnicka, H. M., Schmitt-Graeff, A., Zankovich, R. & Diehl, V. Follow-up examinations including sequential bone marrow biopsies in essential thrombocythemia (ET): a retrospective clinicopathological study of 120 patients. *Am J Hematol* **70**, 283–291 (2002).
57. Barosi, G. *et al.* Diagnostic and clinical relevance of the number of circulating CD34+ cells in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Blood* **98**, 3249–3255 (2001).
58. Barosi, G. *et al.* JAK2 V617F mutational status predicts progression to large splenomegaly and leukemic transformation in primary myelofibrosis. *Blood* **110**, 4030–4036 (2007).
59. Thiele, J. *et al.* Initial (prefibrotic) stages of idiopathic (primary) myelofibrosis (IMF) - a clinicopathological study. *Leukemia* **13**, 1741–1748 (1999).
60. Thiele, J. *et al.* Essential thrombocythemia versus early primary myelofibrosis: a multicenter study to validate the WHO classification. *Blood* **117**, 5710–5718 (2011).
61. Gisslinger, H. *et al.* Clinical impact of bone marrow morphology for the diagnosis of essential thrombocythemia: comparison between the BCSH and the WHO criteria. *Leukemia* **30**, 1126–1132 (2016).
62. Bento, C. Genetic basis of congenital erythrocytosis. *Int J Lab Hematol* **40 Suppl 1**, 62–67 (2018).
63. Cario, H. *et al.* Erythrocytosis in children and adolescents-classification, characterization, and consensus recommendations for the diagnostic approach. *Pediatr Blood Cancer* **60**, 1734–1738 (2013).
64. Bento, C., McMullin, M. F., Percy, M. & Cario, H. Primary Familial and Congenital Polycythemia. in *GeneReviews*® (eds. Adam, M. P. *et al.*) (University of Washington, Seattle, Seattle (WA), 1993).
65. Hong, W.-J. & Gotlib, J. Hereditary erythrocytosis, thrombocytosis and neutrophilia. *Best Practice & Research Clinical Haematology* **27**, 95–106 (2014).
66. Bento, C. *et al.* Molecular study of congenital erythrocytosis in 70 unrelated patients revealed a potential causal mutation in less than half of the cases (Where is/are the missing gene(s)?). *European J of Haematology* **91**, 361–368 (2013).

67. Spolverini, A. *et al.* Infrequent occurrence of mutations in the PH domain of LNK in patients with JAK2 mutation-negative 'idiopathic' erythrocytosis. *Haematologica* **98**, e101–e102 (2013).
68. Guideline for investigation and management of adults and children presenting with a thrombocytosis. *LLNI* <https://llni.co.uk/publications/guideline-for-investigation-and-management-of-adults-and-children-presenting-with-a-thrombocytosis/>.
69. Stockklauser, C. *et al.* Thrombocytosis in children and adolescents—classification, diagnostic approach, and clinical management. *Ann Hematol* **100**, 1647–1665 (2021).
70. De Benedetti, F. & Martini, A. Secondary thrombocytosis. *Arch Dis Child* **69**, 170–171 (1993).
71. Chanet, V., Tournilhac, O., Dieu-Bellamy, V. & *et al.* Isolated spleen agenesis: a rare cause of thrombocytosis mimicking essential thrombocythemia. *Haematologica* **85**, 1211–1213 (2008).
72. Mangaonkar, A. A. *et al.* Myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms with ring sideroblasts and thrombocytosis (MDS/MPN-RS-T): Mayo-Moffitt collaborative study of 158 patients. *Blood Cancer J* **12**, 26 (2022).
73. Shibata, K. *et al.* Acute megakaryocytic leukaemia (AML-M7) with myelofibrosis terminating in AML-MO with concurrent liver fibrosis. *Eur J Haematol* **60**, 310–312 (1998).
74. Kuroda, H. *et al.* [Follicular lymphoma complicated with myelofibrosis and macroglobulinemia at initial presentation]. *Rinsho Ketsueki* **54**, 2068–2073 (2013).
75. Tefferi, A. *et al.* Survival and prognosis among 1545 patients with contemporary polycythemia vera: an international study. *Leukemia* **27**, 1874–1881 (2013).
76. Hultcrantz, M. *et al.* Risk and Cause of Death in Patients Diagnosed With Myeloproliferative Neoplasms in Sweden Between 1973 and 2005: A Population-Based Study. *J Clin Oncol* **33**, 2288–2295 (2015).
77. Dupriez, B., Morel, P., Demory, J.-L. & *et al.* Prognostic factors in agnogenic myeloid metaplasia: a report on 195 cases with a new scoring system. *Blood* **88**, 1013–1018 (1996).
78. Cervantes, F. *et al.* New prognostic scoring system for primary myelofibrosis based on a study of the International Working Group for Myelofibrosis Research and Treatment. *Blood* **113**, 2895–2901 (2009).
79. Ronner, L. *et al.* Persistent leukocytosis in polycythemia vera is associated with disease evolution but not thrombosis. *Blood* **135**, 1696–1703 (2020).
80. Passamonti, F. *et al.* A prospective study of 338 patients with polycythemia vera: the impact of JAK2 (V617F) allele burden and leukocytosis on fibrotic or leukemic disease transformation and vascular complications. *Leukemia* **24**, 1574–1579 (2010).
81. Passamonti, F. *et al.* A clinical-molecular prognostic model to predict survival in patients with post polycythemia vera and post essential thrombocythemia myelofibrosis. *Leukemia* **31**, 2726–2731 (2017).
82. Barraco, D. *et al.* Prognostic impact of bone marrow fibrosis in polycythemia vera: validation of the IWG-MRT study and additional observations. *Blood Cancer J* **7**, e538 (2017).
83. Tefferi, A. *et al.* Gender and survival in essential thrombocythemia: A two-center study of 1,494 patients. *Am J Hematol* **92**, 1193–1197 (2017).

84. Tefferi, A. *et al.* Mutation-enhanced international prognostic systems for essential thrombocythaemia and polycythaemia vera. *Br J Haematol* **189**, 291–302 (2020).
85. Tefferi, A. *et al.* U2AF1 mutation types in primary myelofibrosis: phenotypic and prognostic distinctions. *Leukemia* **32**, 2274–2278 (2018).
86. Tefferi, A. *et al.* GIPSS: genetically inspired prognostic scoring system for primary myelofibrosis. *Leukemia* **32**, 1631–1642 (2018).
87. Caramazza, D. *et al.* Refined cytogenetic-risk categorization for overall and leukemia-free survival in primary myelofibrosis: a single center study of 433 patients. *Leukemia* **25**, 82–88 (2011).
88. Thromboses et thrombopathies dans les syndromes myéloprolifératifs - ScienceDirect. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0248866320300011?via%3Dihub>.
89. Brusson, M. *et al.* Impact of hydroxycarbamide and interferon- α on red cell adhesion and membrane protein expression in polycythemia vera. *Haematologica* **103**, 972–981 (2018).
90. Guy, A. & James, C. [Pathogenesis of thrombosis in JAK2V617F myeloproliferative neoplasms]. *Med Sci (Paris)* **35**, 651–658 (2019).
91. Rumi, E. *et al.* Clinical effect of driver mutations of JAK2, CALR, or MPL in primary myelofibrosis. *Blood* **124**, 1062–1069 (2014).
92. Szuber, N. *et al.* 3023 Mayo Clinic Patients With Myeloproliferative Neoplasms: Risk-Stratified Comparison of Survival and Outcomes Data Among Disease Subgroups. *Mayo Clin Proc* **94**, 599–610 (2019).
93. Vannucchi, A. M. & Guglielmelli, P. What are the current treatment approaches for patients with polycythemia vera and essential thrombocythemia? *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* **2017**, 480–488 (2017).
94. McMullin, M. F. *et al.* A guideline for the diagnosis and management of polycythaemia vera. A British Society for Haematology Guideline. *Br J Haematol* **184**, 176–191 (2019).
95. Barbui, T. *et al.* Philadelphia chromosome-negative classical myeloproliferative neoplasms: revised management recommendations from European LeukemiaNet. *Leukemia* **32**, 1057–1069 (2018).
96. Tefferi, A. & Barbui, T. Essential Thrombocythemia and Polycythemia Vera: Focus on Clinical Practice. *Mayo Clin Proc* **90**, 1283–1293 (2015).
97. Cerquozzi, S. *et al.* Risk factors for arterial versus venous thrombosis in polycythemia vera: a single center experience in 587 patients. *Blood Cancer J* **7**, 662 (2017).
98. Tefferi, A. & Elliott, M. Thrombosis in myeloproliferative disorders: prevalence, prognostic factors, and the role of leukocytes and JAK2V617F. *Semin Thromb Hemost* **33**, 313–320 (2007).
99. Passamonti, F. *et al.* A prognostic model to predict survival in 867 World Health Organization-defined essential thrombocythemia at diagnosis: a study by the International Working Group on Myelofibrosis Research and Treatment. *Blood* **120**, 1197–1201 (2012).
100. Mancuso, S. *et al.* The Essential Thrombocythemia, Thrombotic Risk Stratification, and Cardiovascular Risk Factors. *Adv Hematol* **2020**, 9124821 (2020).

101. Haider, M., Gangat, N., Hanson, C. & Tefferi, A. Splenomegaly and thrombosis risk in essential thrombocythemia: the Mayo Clinic experience. *Am J Hematol* **91**, E296-297 (2016).
102. Papadakis, E., Hoffman, R. & Brenner, B. Thrombohemorrhagic complications of myeloproliferative disorders. *Blood Rev* **24**, 227–232 (2010).
103. Finazzi, G., Ruggeri, M., Rodeghiero, F. & Barbui, T. Second malignancies in patients with essential thrombocythaemia treated with busulphan and hydroxyurea: long-term follow-up of a randomized clinical trial. *Br J Haematol* **110**, 577–583 (2000).
104. Passamonti, F. *et al.* Prognostic factors for thrombosis, myelofibrosis, and leukemia in essential thrombocythemia: a study of 605 patients. *Haematologica* **93**, 1645–1651 (2008).
105. Najean, Y., Dresch, C. & Rain, J. The very-long-term course of polycythaemia: a complement to the previously published data of the Polycythaemia Vera Study Group. *Br J Haematol* **86**, 233–235 (1994).
106. J T Ellis, P Peterson. The bone marrow in polycythemia vera. 383–403 (1979).
107. Georgii, A., Buhr, T., Buesche, G., Kreft, A. & Choritz, H. Classification and staging of Ph-negative myeloproliferative disorders by histopathology from bone marrow biopsies. *Leuk Lymphoma* **22 Suppl 1**, 15–29 (1996).
108. Thiele, J. & Kvasnicka, H. M. Chronic myeloproliferative disorders with thrombocythemia: a comparative study of two classification systems (PVSG, WHO) on 839 patients. *Ann Hematol* **82**, 148–152 (2003).
109. Tefferi, A. *et al.* Long-term survival and blast transformation in molecularly annotated essential thrombocythemia, polycythemia vera, and myelofibrosis. *Blood* **124**, 2507–2513; quiz 2615 (2014).
110. Marchioli, R. *et al.* Vascular and Neoplastic Risk in a Large Cohort of Patients With Polycythemia Vera. *JCO* **23**, 2224–2232 (2005).
111. Gangat, N. *et al.* DIPSS plus: a refined Dynamic International Prognostic Scoring System for primary myelofibrosis that incorporates prognostic information from karyotype, platelet count, and transfusion status. *J Clin Oncol* **29**, 392–397 (2011).
112. Landolfi, R. *et al.* Efficacy and safety of low-dose aspirin in polycythemia vera. *N Engl J Med* **350**, 114–124 (2004).
113. Alvarez-Larrán, A. *et al.* Antiplatelet therapy versus observation in low-risk essential thrombocythemia with a CALR mutation. *Haematologica* **101**, 926–931 (2016).
114. De Stefano, V. *et al.* Hydroxyurea prevents arterial and late venous thrombotic recurrences in patients with myeloproliferative neoplasms but fails in the splanchnic venous district. Pooled analysis of 1500 cases. *Blood Cancer J* **8**, 112 (2018).
115. De Stefano, V. *et al.* Recurrent thrombosis in patients with polycythemia vera and essential thrombocythemia: incidence, risk factors, and effect of treatments. *Haematologica* **93**, 372–380 (2008).
116. Harrison, C. N. *et al.* Hydroxyurea compared with anagrelide in high-risk essential thrombocythemia. *N Engl J Med* **353**, 33–45 (2005).

117. Gisslinger, H. *et al.* Anagrelide compared with hydroxyurea in WHO-classified essential thrombocythemia: the ANAHYDRET Study, a randomized controlled trial. *Blood* **121**, 1720–1728 (2013).
118. Dillinger, J.-G. *et al.* Twice daily aspirin to improve biological aspirin efficacy in patients with essential thrombocythemia. *Thromb Res* **129**, 91–94 (2012).
119. Pascale, S. *et al.* Aspirin-insensitive thromboxane biosynthesis in essential thrombocythemia is explained by accelerated renewal of the drug target. *Blood* **119**, 3595–3603 (2012).
120. Alvarez-Larrán, A. *et al.* Cytoreduction plus low-dose aspirin versus cytoreduction alone as primary prophylaxis of thrombosis in patients with high-risk essential thrombocythaemia: an observational study. *Br J Haematol* **161**, 865–871 (2013).
121. Alvarez-Larrán, A. *et al.* Observation versus antiplatelet therapy as primary prophylaxis for thrombosis in low-risk essential thrombocythemia. *Blood* **116**, 1205–1210; quiz 1387 (2010).
122. Marchioli, R. *et al.* Cardiovascular events and intensity of treatment in polycythemia vera. *N Engl J Med* **368**, 22–33 (2013).
123. Ianotto, J.-C. *et al.* PEG-IFN-alpha-2a therapy in patients with myelofibrosis: a study of the French Groupe d'Etudes des Myelofibroses (GEM) and France Intergroupe des syndromes Myéloprolifératifs (FIM). *Br J Haematol* **146**, 223–225 (2009).
124. Kiladjian, J.-J. *et al.* High molecular response rate of polycythemia vera patients treated with pegylated interferon alpha-2a. *Blood* **108**, 2037–2040 (2006).
125. Czech, J. *et al.* JAK2V617F but not CALR mutations confer increased molecular responses to interferon- α via JAK1/STAT1 activation. *Leukemia* **33**, 995–1010 (2019).
126. Kiladjian, J.-J., Chevret, S., Dosquet, C., Chomienne, C. & Rain, J.-D. Treatment of polycythemia vera with hydroxyurea and pipobroman: final results of a randomized trial initiated in 1980. *J Clin Oncol* **29**, 3907–3913 (2011).
127. Gowin, K. *et al.* Experience with pegylated interferon -2a in advanced myeloproliferative neoplasms in an international cohort of 118 patients. *Haematologica* **97**, 1570–1573 (2012).
128. Mesa, R. A. *et al.* Effect of ruxolitinib therapy on myelofibrosis-related symptoms and other patient-reported outcomes in COMFORT-I: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Clin Oncol* **31**, 1285–1292 (2013).
129. Verstovsek, S. *et al.* A double-blind, placebo-controlled trial of ruxolitinib for myelofibrosis. *N Engl J Med* **366**, 799–807 (2012).
130. INREBIC (fédratinib). *Haute Autorité de Santé* https://www.has-sante.fr/jcms/p_3313612/fr/inrebic-fedratinib.
131. Vainchenker, W. & Constantinescu, S. N. JAK/STAT signaling in hematological malignancies. *Oncogene* **32**, 2601–2613 (2013).
132. Liang, D. *et al.* JAK/STAT in leukemia: a clinical update. *Molecular Cancer* **23**, 25 (2024).
133. Babon, J. J., Lucet, I. S., Murphy, J. M., Nicola, N. A. & Varghese, L. N. The molecular regulation of Janus kinase (JAK) activation. *Biochem J* **462**, 1–13 (2014).

134. Mohapatra, B. *et al.* Protein tyrosine kinase regulation by ubiquitination: critical roles of Cbl-family ubiquitin ligases. *Biochim Biophys Acta* **1833**, 122–139 (2013).
135. Croker, B. A., Kiu, H. & Nicholson, S. E. SOCS Regulation of the JAK/STAT Signalling Pathway. *Semin Cell Dev Biol* **19**, 414–422 (2008).
136. Leroy, E. *et al.* Differential effect of inhibitory strategies of the V617 mutant of JAK2 on cytokine receptor signaling. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* **144**, 224–235 (2019).
137. Tefferi, A. *et al.* JAK2 exon 12 mutated polycythemia vera: Mayo-Careggi MPN Alliance study of 33 consecutive cases and comparison with JAK2V617F mutated disease. *Am J Hematol* **93**, E93–E96 (2018).
138. Passamonti, F. *et al.* Molecular and clinical features of the myeloproliferative neoplasm associated with JAK2 exon 12 mutations. *Blood* **117**, 2813–2816 (2011).
139. Clinical correlates of JAK2V617F presence or allele burden in myeloproliferative neoplasms: a critical reappraisal - PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18496562/>.
140. Pardanani, A. *et al.* Primary myelofibrosis with or without mutant MPL: comparison of survival and clinical features involving 603 patients. *Leukemia* **25**, 1834–1839 (2011).
141. Cabagnols, X. *et al.* Presence of atypical thrombopoietin receptor (MPL) mutations in triple-negative essential thrombocythemia patients. *Blood* **127**, 333–342 (2016).
142. Milosevic Feenstra, J. D. *et al.* Whole-exome sequencing identifies novel MPL and JAK2 mutations in triple-negative myeloproliferative neoplasms. *Blood* **127**, 325–332 (2016).
143. Moliterno, A. R. *et al.* Mpl Baltimore: a thrombopoietin receptor polymorphism associated with thrombocytosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* **101**, 11444–11447 (2004).
144. El-Harith, E.-H. A. *et al.* Familial thrombocytosis caused by the novel germ-line mutation p.Pro106Leu in the MPL gene. *Br J Haematol* **144**, 185–194 (2009).
145. Boyd, E. M. *et al.* Clinical utility of routine MPL exon 10 analysis in the diagnosis of essential thrombocythaemia and primary myelofibrosis. *Br J Haematol* **149**, 250–257 (2010).
146. Ding, J. *et al.* Familial essential thrombocythemia associated with a dominant-positive activating mutation of the c-MPL gene, which encodes for the receptor for thrombopoietin. *Blood* **103**, 4198–4200 (2004).
147. Teofili, L. *et al.* Hereditary thrombocytosis caused by MPLSer505Asn is associated with a high thrombotic risk, splenomegaly and progression to bone marrow fibrosis. *Haematologica* **95**, 65–70 (2010).
148. Nangalia, J. *et al.* Somatic CALR mutations in myeloproliferative neoplasms with nonmutated JAK2. *N Engl J Med* **369**, 2391–2405 (2013).
149. Nakamura, Y. *et al.* Cardiovascular and sympathetic responses to dental surgery with local anesthesia. *Hypertens Res* **24**, 209–214 (2001).
150. Wang, W.-A., Groenendyk, J. & Michalak, M. Calreticulin signaling in health and disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* **44**, 842–846 (2012).

151. Michalak, M., Groenendyk, J., Szabo, E., Gold, L. I. & Opas, M. Calreticulin, a multi-process calcium-buffering chaperone of the endoplasmic reticulum. *Biochem J* **417**, 651–666 (2009).
152. Cabagnols, X. *et al.* Differential association of calreticulin type 1 and type 2 mutations with myelofibrosis and essential thrombocytemia: relevance for disease evolution. *Leukemia* **29**, 249–252 (2015).
153. Pietra, D. *et al.* Differential clinical effects of different mutation subtypes in CALR-mutant myeloproliferative neoplasms. *Leukemia* **30**, 431–438 (2016).
154. Araki, M. *et al.* Activation of the thrombopoietin receptor by mutant calreticulin in CALR-mutant myeloproliferative neoplasms. *Blood* **127**, 1307–1316 (2016).
155. Molinari, M. *et al.* Contrasting Functions of Calreticulin and Calnexin in Glycoprotein Folding and ER Quality Control. *Molecular Cell* **13**, 125–135 (2004).
156. Dunbar, A. J. *et al.* 250K SNP array karyotyping identifies acquired uniparental disomy and homozygous mutations, including novel missense substitutions of c-Cbl, in myeloid malignancies. *Cancer Res* **68**, 10349–10357 (2008).
157. Delhommeau, F. *et al.* Mutation in TET2 in myeloid cancers. *N Engl J Med* **360**, 2289–2301 (2009).
158. Ernst, T. *et al.* Inactivating mutations of the histone methyltransferase gene EZH2 in myeloid disorders. *Nat Genet* **42**, 722–726 (2010).
159. Greenfield, G., McMullin, M. F. & Mills, K. Molecular pathogenesis of the myeloproliferative neoplasms. *J Hematol Oncol* **14**, 103 (2021).
160. Vannucchi, A. M. *et al.* Mutations and prognosis in primary myelofibrosis. *Leukemia* **27**, 1861–1869 (2013).
161. Lundberg, P. *et al.* Clonal evolution and clinical correlates of somatic mutations in myeloproliferative neoplasms. *Blood* **123**, 2220–2228 (2014).
162. Luque Paz, D. *et al.* Genomic analysis of primary and secondary myelofibrosis redefines the prognostic impact of ASXL1 mutations: a FIM study. *Blood Adv* **5**, 1442–1451 (2021).
163. Grinfeld, J. *et al.* Classification and Personalized Prognosis in Myeloproliferative Neoplasms. *N Engl J Med* **379**, 1416–1430 (2018).
164. Losman, J.-A. *et al.* (R)-2-hydroxyglutarate is sufficient to promote leukemogenesis and its effects are reversible. *Science* **339**, 1621–1625 (2013).
165. Abdel-Wahab, O. *et al.* ASXL1 mutations promote myeloid transformation through loss of PRC2-mediated gene repression. *Cancer Cell* **22**, 180–193 (2012).
166. Yoshimi, A. *et al.* Coordinated alterations in RNA splicing and epigenetic regulation drive leukaemogenesis. *Nature* **574**, 273–277 (2019).
167. Tefferi, A. Primary myelofibrosis: 2021 update on diagnosis, risk-stratification and management. *American Journal of Hematology* **96**, 145–162 (2021).
168. Luque Paz, D. Profils génomiques et impact pronostique dans les syndromes myéloprolifératifs. (Université d'Angers, 2021).

169. Luque Paz, D. *et al.* Impact of Clonal Architecture on Clinical Course and Prognosis in Patients With Myeloproliferative Neoplasms. *HemaSphere* **7**, e885 (2023).
170. Zoi, K. & Cross, N. C. P. Genomics of Myeloproliferative Neoplasms. *J Clin Oncol* **35**, 947–954 (2017).
171. Rampal, R. *et al.* Integrated genomic analysis illustrates the central role of JAK-STAT pathway activation in myeloproliferative neoplasm pathogenesis. *Blood* **123**, e123–e133 (2014).
172. Velazquez, L. The Lnk adaptor protein: a key regulator of normal and pathological hematopoiesis. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* **60**, 415–429 (2012).
173. Maures, T. J., Kurzer, J. H. & Carter-Su, C. SH2B1 (SH2-B) and JAK2: a multifunctional adaptor protein and kinase made for each other. *Trends Endocrinol Metab* **18**, 38–45 (2007).
174. Li, Y., He, X., Schembri-King, J., Jakes, S. & Hayashi, J. Cloning and characterization of human Lnk, an adaptor protein with pleckstrin homology and Src homology 2 domains that can inhibit T cell activation. *J Immunol* **164**, 5199–5206 (2000).
175. Lv, K. *et al.* CBL family E3 ubiquitin ligases control JAK2 ubiquitination and stability in hematopoietic stem cells and myeloid malignancies. *Genes Dev* **31**, 1007–1023 (2017).
176. Javadi, M. *et al.* The SH2B1 Adaptor Protein Associates with a Proximal Region of the Erythropoietin Receptor. *J Biol Chem* **287**, 26223–26234 (2012).
177. Diakonova, M., Gunter, D. R., Herrington, J. & Carter-Su, C. SH2-Bbeta is a Rac-binding protein that regulates cell motility. *J Biol Chem* **277**, 10669–10677 (2002).
178. Dhe-Paganon, S. *et al.* A phenylalanine zipper mediates APS dimerization. *Nat Struct Mol Biol* **11**, 968–974 (2004).
179. Gery, S. *et al.* Adaptor protein Lnk negatively regulates the mutant MPL, MPLW515L associated with myeloproliferative disorders. *Blood* **110**, 3360–3364 (2007).
180. Baran-Marszak, F. *et al.* Expression level and differential JAK2-V617F-binding of the adaptor protein Lnk regulates JAK2-mediated signals in myeloproliferative neoplasms. *Blood* **116**, 5961–5971 (2010).
181. Simon, C. *et al.* Lnk adaptor protein down-regulates specific Kit-induced signaling pathways in primary mast cells. *Blood* **112**, 4039–4047 (2008).
182. Tong, W., Zhang, J. & Lodish, H. F. Lnk inhibits erythropoiesis and Epo-dependent JAK2 activation and downstream signaling pathways. *Blood* **105**, 4604–4612 (2005).
183. Tong, W. & Lodish, H. F. Lnk inhibits Tpo-mpl signaling and Tpo-mediated megakaryocytopoiesis. *J Exp Med* **200**, 569–580 (2004).
184. Jiang, J. *et al.* 14-3-3 regulates the LNK/JAK2 pathway in mouse hematopoietic stem and progenitor cells. *J Clin Invest* **122**, 2079–2091 (2012).
185. Ema, H. *et al.* Quantification of self-renewal capacity in single hematopoietic stem cells from normal and Lnk-deficient mice. *Dev Cell* **8**, 907–914 (2005).
186. Seita, J. *et al.* Lnk negatively regulates self-renewal of hematopoietic stem cells by modifying thrombopoietin-mediated signal transduction. *Proc Natl Acad Sci U S A* **104**, 2349–2354 (2007).

187. Takaki, S., Morita, H., Tezuka, Y. & Takatsu, K. Enhanced hematopoiesis by hematopoietic progenitor cells lacking intracellular adaptor protein, Lnk. *J Exp Med* **195**, 151–160 (2002).
188. Velazquez, L. *et al.* Cytokine Signaling and Hematopoietic Homeostasis Are Disrupted in *Lnk* - deficient Mice. *The Journal of Experimental Medicine* **195**, 1599–1611 (2002).
189. Oh, S. T. *et al.* Novel mutations in the inhibitory adaptor protein LNK drive JAK-STAT signaling in patients with myeloproliferative neoplasms. *Blood* **116**, 988–992 (2010).
190. Maslah, N., Cassinat, B., Verger, E., Kiladjian, J.-J. & Velazquez, L. The role of LNK/SH2B3 genetic alterations in myeloproliferative neoplasms and other hematological disorders. *Leukemia* **31**, 1661–1670 (2017).
191. McMullin, M. F. & Cario, H. LNK mutations and myeloproliferative disorders. *American J Hematol* **91**, 248–251 (2016).
192. Arfeuille, C. From diagnosis to relapse, mutational landscape and clonal evolution of juvenile myelomonocytic leukaemia. (Paris Cité).
193. Takaki, S. *et al.* Control of B cell production by the adaptor protein Lnk. Definition Of a conserved family of signal-modulating proteins. *Immunity* **13**, 599–609 (2000).
194. Cheng, Y. *et al.* LNK/SH2B3 regulates IL-7 receptor signaling in normal and malignant B-progenitors. *J Clin Invest* **126**, 1267–1281 (2016).
195. Perez-Garcia, A. *et al.* Genetic loss of SH2B3 in acute lymphoblastic leukemia. *Blood* **122**, 2425–2432 (2013).
196. Arfeuille, C. *et al.* Germline bi-allelic SH2B3/LNK alteration predisposes to a neonatal juvenile myelomonocytic leukemia-like disorder. *Haematologica* **109**, 2542–2554 (2024).
197. Blombery, P. *et al.* Biallelic deleterious germline *SH2B3* variants cause a novel syndrome of myeloproliferation and multi-organ autoimmunity. *eJHaem* **4**, 463–469 (2023).
198. Sinclair, P. B. *et al.* SH2B3 inactivation through CN-LOH 12q is uniquely associated with B-cell precursor ALL with iAMP21 or other chromosome 21 gain. *Leukemia* **33**, 1881–1894 (2019).

VIII. ANNEXES

ANNEXE 1 - Panel Twist et séquençage sur NovaSeq (Illumina)

Panel (90 gènes) : ABL1 (NM_005157.4; exons 04-09), ANKRD26 (NM_014915.2; 5'UTR), ASXL1 (NM_015338.5; exons 11-12), ASXL2 (NM_018263.4; exons 11-12), ATRX (NM_000489.4; exons 01-35), BCOR (NM_001123385.1; exons 02-15), BCORL1 (NM_021946.4; exons 01-12), BRAF (NM_004333.4; exons 11,15), CALR (NM_004343.3; exon 09), CBL (NM_005188.3; exons 08-09), CEBPA (NM_004364.4; exon 01), CHEK2 (NM_001005735.1; exons 02-15), CREBBP (NM_004380.2; exons 01-31), CRLF2 (NM_022148.3; exon 06), CSF3R (NM_156039.3; exons 14-17), CUX1 (NM_181552.3; exons 01-24), DDX41 (NM_016222.3; exons 01-17), DHX15 (NM_001358.2; exon 03), DHX34 (NM_014681.5; exons 02-17), DNMT3A (NM_022552.4; exons 02-23), EP300 (NM_001429.3; exons 01-31), ETNK1 (NM_018638.4; exons 01-08), ETV6 (NM_001987.4; exons 01-08), EZH2 (NM_004456.4; exons 02-20), FBXW7 (NM_033632.3; exons 02-12), FGFR1 (NM_001174067.1; exons 02-19), FLT3 (NM_004119.2; exons 01-24), GATA1 (NM_002049.3; exons 02-03), GATA2 (NM_032638.4; exons 02-06,c.1017+532_+699), GNAS (NM_000516.5; exons 08-09), GNB1 (NM_002074.4; exons 05-06), HRAS (NM_005343.3; exons 02-04), IDH1 (NM_005896.3; exons 03-10), IDH2 (NM_002168.3; exons 01-11), IKZF1 (NM_006060.5; exons 02-08), IL7R (NM_002185.3; exon 06), JAK1 (NM_002227.3; exons 02-25), JAK2 (NM_004972.3; exons 03-25), JAK3 (NM_000215.3; exons 02-24), KDM6A (NM_001291415.1; exons 01-30), KIT (NM_000222.2; exons 08-11,17), KMT2A (NM_001197104.1; exons 01-36), KRAS (NM_033360.3; exons 02-04), LUC7L2 (NM_001244585.1; exons 01-11), MBD4 (NM_003925.2; exons 01-08), MPL (NM_005373.2; exons 01-12), MYC (NM_002467.4; exons 01-03), NF1 (NM_001042492.2; exons 01-58), NFE2 (NM_001136023.2; exons 02-03), NIPBL (NM_133433.3; exons 02-47), NOTCH1 (NM_017617.4; exons 01-34), NPM1 (NM_002520.6; exons 10-11), NRAS (NM_002524.4; exons 02-04), PAX5 (NM_016734.2; exons 01-10), PDGFRA (NM_006206.5; exons 02-23), PDGFRB (NM_002609.3; exons 02-23), PHF6 (NM_001015877.1; exons 02-10), PIGA (NM_002641.3; exons 02-06), PPM1D (NM_003620.3; exons 01-06), PRPF8 (NM_006445.3; exons 02-43), PTEN (NM_000314.6; exons 01-09), PTPN11 (NM_002834.4; exons 01-15), RAD21 (NM_006265.2; exons 02-14), RIT1 (NM_006912.5; exon 05), RUNX1 (NM_001754.4; exons 02-09), SAMD9 (NM_017654.3; exon 03), SAMD9L (NM_152703.3; exon 05), SETBP1 (NM_015559.2; exons 02-06), SETD2 (NM_014159.6; exons 01-21), SF3B1 (NM_012433.3; exons 13-16), SH2B3 (NM_005475.2; exons 02-08), SMC1A (NM_006306.3; exons 01-25), SMC3 (NM_005445.3; exons 01-29), SRP72 (NM_006947.3; exons 01-19), SRSF2 (NM_003016.4; exon 01), STAG2 (NM_001042749.2; exons 03-35), STAT3 (NM_003150.3; exons 02-24), STAT5A (NM_003152.3; exons 03-20), STAT5B (NM_012448.3; exons 02-19), TERC (NR_001566.1; exon 01), TERT (NM_198253.2; exons 01-16), TET2 (NM_001127208.2; exons 03-11), TP53 (NM_001126112.2; exons 02-11), TYK2 (NM_003331.4; exons 03-25), U2AF1 (NM_006758.2; exons 02,06), UBA1 (NM_003334.3; exon 03), UBTF (NM_014233.3; exons 10-15), WT1 (NM_024426.4; exons 01-10), ZBTB7A (NM_015898.3; exons 02-03), ZRSR2 (NM_005089.3; exons 01-11)

ANNEXE 2 : Tableau des profils génétiques classé selon le profil mutationnel (variation de *SH2B3* avec gène driver en vert, avec autres mutations en orange, isolée en bleu)

Patient	Indication du NGS	LOH	Protéine	VAF	NGS (VAF%)	VUS (VAF%)	Gène driver	Classement
2	TE	N	p.E171X	9%	CALR GNAS (5) SH2B3 (9)		CALR exon 9	TierI/II
6	TE	N	p.E304GfsX23	2%	CALR SH2B3 (2)		CALR exon 9	TierI/II
59	TE	N	p.N339X	32%	CALR PHF6 (32) SH2B3 (32)		CALR exon 9	TierI/II
54	TE	N	c.835-2_840del	1,3%	JAK2 (31) SH2B3 (1,3)		JAK2V617F	TierI/II
37	TE	N	p.L390WfsX21	51%	BCORL1 (4) ETNK1 (2) GATA2 (9) IDH2 (31) MPL (50) SH2B3 (51) SRSF2 (34)		MPL K39N	TierI/II
47	TE	N	p.H544PfsX2	2%	SH2B3 (2)		MPL R102P	TierI/II
27	TE	aUPD	p.V402L	70%	ASXL1 (16) ETNK1 (46) MPL (3) RAD21 (13) SH2B3 (70) STAG2		MPL Y591D	TierI/II
42	PV	aUPD	p.Q442X	63%	JAK2 (96) PPM1D (15) SH2B3 (63)		JAK2V617F	TierI/II
49	MFP	aUPD	p.Q423X	93%	2 ASXL1 (5-15) CALR (39) EZH2 (41) SH2B3 (93)		CALR exon 9	TierI/II
55	MFP	N	p.R308X	48%	ASXL1 (39) ETV6 (3) EZH2 (2) JAK2 (38) SH2B3 (48)		JAK2V617F	TierI/II
7	MF	N	p.G307AfsX17	1%	JAK2 (48) MPL (13) SH2B3 (1) 4 TET2 (1-4-5-7)		JAK2V617F MPL K553E	TierI/II
29	TE	N	p.I446T	29%	2 IDH1 (33-1) JAK2 (39) PHF6 (8) RUNX1 (13) SH2B3 (29)		JAK2V617F	TierI/II
1	PV	N	p.W26R	24%	DNMT3A (2) JAK2 (71) NF1 (38) SH2B3 (24)		JAK2V617F	TierI/II

11	MF	N	p.F389S	6%	ASXL1 (9) JAK2 (76) SH2B3 (6) TET2 (22)		JAK2V617F	TierI/II
30	PV	N	p.A453T	2%	JAK2 (92) SH2B3 (2) TET2 (90)		JAK2V617F	TierIII
38	TE	N	p.R392Q	1,4%	SH2B3 (1.4)		N	TierI/II
12	PV	N	p.R392Q	2%	SH2B3 (2)		N	TierI/II
36	TE	N	p.Q376X	2%	SH2B3 (2)		N	TierI/II
48	Bilan de thrombose	N	p.S560lfsX92	2%	SH2B3 (2)		N	TierI/II
58	PV	N	p.D231GfsX39	2%	SH2B3 (2)		N	TierI/II
9	TE	N	p.G367SfsX4	28%	SH2B3 (28)		N	TierI/II
13	TE	N	p.E395K	48%	SH2B3 (48)		N	TierI/II
44	TE	N	p.D485VfsX63	49%	SH2B3 (49)		N	TierI/II
51	TE	N	p.R221GfsX57	49%	SH2B3 (49)		N	TierI/II
61	TE	N	p.R415AfsX41	49%	SH2B3 (49)		N	TierI/II
40	Bilan de thrombose	N	p.E395K	52%	SH2B3 (52)		N	TierI/II
53	TE	N	p.S246X	52%	SH2B3 (52)		N	TierI/II
15	PV	N	p.E395K	52%	SH2B3 p.E395K (52)	SH2B3 p.E400K (47)	N	TierI/II
28	TE	N	p.R415AfsX41	54%	SH2B3 (54)		N	TierI/II
60	PV	N	p.R457W	1,3%	SH2B3 (1.3%)		N	TierI/II
52	TE	N	p.L239P	13%	SH2B3 (13) Non rendu: SH2B3-E400K (50%)		N	TierI/II
26	PV	N	p.Y401H	49%	SH2B3 (49)		N	TierI/II
17	PV	N	p.E400K	48%	Analyse négative	SH2B3 (48)	N	TierIII
18	PV	N	p.E400K	49%	Analyse négative.	SH2B3 (49)	N	TierIII
3	PV	N	p.E208Q	49%	Analyse négative.	SH2B3 (49)	N	TierIII
52	TE	N	p.E400K	50%	SH2B3 (13)	SH2B3 (50)	N	TierIII
21	TE	N	p.E400K	50%	Analyse négative.	SH2B3 (50)	N	TierIII
22	Bilan de thrombose	N	p.E400K	50%	Analyse négative.	SH2B3 (50)	N	TierIII
23	PV	N	p.E400K	51%	Analyse négative.	SH2B3 (51)	N	TierIII
5	PV	N	p.E208Q	52%	Analyse négative.	SH2B3 (52)	N	TierIII
4	PV	N	p.E208Q	52%	Analyse négative.	SH2B3 (52)	N	TierIII
35	MFP	N	p.G367RfsX18	2%	EP300 (2) SH2B3 (2) 2 TET2 (30-32)		N	TierI/II
46	PV	N	p.L510SfsX38	5%	PPM1D (1,2) SF3B1 (5) MPL (49) SH2B3 (5) SRSF2 (1,3)		N	TierI/II
31	PV	N	p.H500RfsX13	6%	DNMT3A (11) 2 PPM1D (3-2) SH2B3 (6) SMC1A (5)		N	TierI/II
43	TE	N	p.R83TfsX40	13%	ASXL1 (4%) SH2B3 (13) SH2B3 (22)		N	TierI/II

33	TE	N	p.L359PfsX26	26%	2 SF3B1 (7-37) SH2B3 (26)		N	TierI/II
14	TE	N	p.E395K	51%	CUX1 (3) SH2B3 (51)		N	TierI/II
39	PV	N	p.R392Q	52%	2 DNMT3A (1.2- 1,1) SH2B3 (52)		N	TierI/II
57	TE	N	p.G367AfsX6	57%	SH2B3 (57) TET2 (2)		N	TierI/II
56	TE	CNA	p.Y203C	76%	DNMT3A (45) IDH2 (46) Non rendu:SH2B3 (76)		N	TierI/II
32	MFP	CNA	p.L347AfsX38	79%	IDH2 (44) RAD21 (40) SH2B3 (79) SRSF2 (43)		N	TierI/II
34	TE	N	p.H366R	1%	3 DNMT3A (2-3-16) SH2B3 (1)		N	TierI/II
10	PV	N	p.F389C	2%	DNMT3A (2) SH2B3 (2) TET2 (4)		N	TierI/II
43	TE	N	c.1408+1G>A	22%	ASXL1 (4) SF3B1(37) SH2B3 (13) SH2B3 (22)		N	TierI/II
25	TE	N	p.Y401H	48%	ASXL1 (6) SH2B3 (48)		N	TierI/II
41	PV	N	c.1236+3A>G	50%	SH2B3 (50) TET2 (1.2)		N	TierI/II
16	TE	N	p.E400K	47%	DNMT3A (0.9) PTPN11 (4) RAD21 (1.4)	SH2B3 (47)	N	TierIII
8	PV	N	p.A342S	47%	DNMT3A (2) SH2B3 (47) TET2 (5)		N	TierIII
19	Bilan de thrombose	N	p.E400K	49%	ASXL1 (11) NF1 (5)	SH2B3 (49)	N	TierIII
20	PV	N	p.E400K	49%	NF1 (11)	SH2B3 (49)	N	TierIII
50	PV	N	p.F182L	50%	DNMT3A (28) SH2B3 (50)		N	TierIII
24	Bilan de thrombose	N	p.E400K	52%	CBL (2) CHEK2 (48) NF1 (1.2)	SH2B3 (52)	N	TierIII

En vert profils de patients contenant un variant de SH2B3 associé à un mutation sur un gène driver des SMP, en orange les patients présentant un variant isolé de SH2B3, et en bleu les patients présentant des mutations associées au variant de SH2B3.

ANNEXE 3 - AVIS D'INTERPRETATION DE VARIANTS GENETIQUES ATYPIQUES (questionnaire du FIM)

Date de l'avis :

Patient (Initiales) : Age : Sexe :

Médecin/biologiste référent : /. **Centre hospitalier** :

Contexte de la recherche de mutation :

Antécédents :

	O/N	Préciser	Date
Thrombose			
Antériorité de NFS anormale			
Notion d'anomalie familiale de NFS		Degré parenté :	

		Date	Commentaire
Diagnostic retenu			
Traitement reçu			
Résultat de BOM			

NFS au diagnostic :

GB (G/L)		PNN (G/L)		Myélémie (%)	
Hb (g/dL)		PNEo (G/L)		Blastes (%)	
Ht (%)		PNBaso (G/L)		EB (%)	
VGM (fL)		Mono (G/L)		Plaquettes (G/L)	

Bilan moléculaire :

Mutations drivers				
	Muté (O/N)	Charge allélique (%)		Muté (O/N)
<i>JAK2V617F</i>			<i>MPL</i>	
<i>JAK2</i> exon 12			<i>JAK2</i> exon 12	
<i>CALR</i>			<i>BCR::ABL1</i>	

Variant identifié NGS				
NM_	c.	p.	VAF (%)	Commentaire

Question et Commentaires :

Avis des experts :

Variant posant question					
Nomenclature (NM :c.)	Fréquence en pop gen	cosmic	Déjà trouvé dans le groupe	Déjà décrit littérature	Commentaire

Conclusion du panel d'experts :

Université de Lille
UFR3S-Pharmacie
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
Année Universitaire 2023/2024

Nom : BEN DHIA
Prénom : Leïla

Titre de la thèse :

Caractéristiques des variants du gène *SH2B3* dans les syndromes
myéloprolifératifs triple négatifs *BCR::ABL1* négatifs

Mots-clés : *SH2B3*, LNK, myéloïde, syndrome myéloprolifératif, thrombocyémie
essentielle, polyglobulie de Vaquez, myélofibrose, somatique, oncogénétique

Résumé :

Le gène *SH2B3*, codant pour la protéine LNK, joue un rôle dans la régulation des voies de signalisation hématopoïétiques, principalement en inhibant la voie JAK/STAT. Des mutations dans ce gène sont impliquées dans diverses pathologies, notamment dans les hémopathies myéloïdes prolifératives.

Cette thèse explore les caractéristiques des variants du gène *SH2B3* dans les syndromes myéloprolifératifs (SMP) triple négatifs non *BCR::ABL1*. Ce travail a été réalisé chez 61 patients issus d'une cohorte de plus de 4000 individus pour lesquels un séquençage de nouvelle génération a été analysé au CHU de Lille dans le cadre de suspicions de SMP. Les variants de *SH2B3* ont été classés en deux groupes : Tier I/II et Tier III, selon les recommandations de l'Association for Molecular Pathology (AMP), l'American Society of Clinical Oncology (ASCO) et le College of American Pathologists (CAP).

L'étude révèle que les mutations de Tier I/II (principalement les mutations *frameshift* et non-sens) sont associées à des formes plus agressives et davantage en lien avec les thrombocyémies essentielles, tandis que les variants de Tier III semblent plus hétérogènes, incluant des cas de polyglobulie de Vaquez, des formes probable d'érythrocytose congénitale ou des cas de thromboses. Les résultats soulignent également l'importance d'évaluer le gène *SH2B3* chez des patients porteurs de mutations *driver* (*JAK2*, *CALR*, *MPL*) dans le suivi de l'évolution clinique et biologique.

L'intégration des caractéristiques génétiques associée à l'analyse des biopsies de moelle osseuse, permet de redéfinir certains diagnostics, en identifiant des cas frontières entre des syndromes myélodysplasiques et myéloprolifératifs souvent mal diagnostiqués. L'étude de ces variants met en lumière la nécessité d'études fonctionnelles et de ségrégations génétiques plus approfondies pour mieux comprendre l'impact biologique des mutations de *SH2B3*, et ainsi améliorer les diagnostics et la prise en charge clinique des SMP.

Enfin, cette thèse propose un algorithme de prise en charge biologique des patients porteurs d'un variant de *SH2B3* dans des cas de suspicions ou des cas avérés de SMP.

Membres du jury :

Président : Madame la Professeur Stéphanie POULAIN, PU-PH Université de Lille

Directeurs, conseillers de thèses :

Monsieur le Docteur Nicolas DUPLOYEZ, MCU-PH Université de Lille

Monsieur le Docteur Olivier NIBOUREL, PH CHU de Lille

Assesseur : Monsieur le Docteur Mathieu WEMEAU, PH CHU de Lille et CH de Roubaix

Université de Lille
UFR3S-Pharmacie
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
Année Universitaire 2023/2024

Nom : BEN DHIA
Prénom : Leïla

Titre de la thèse :

Caractéristiques des variants du gène *SH2B3* dans les syndromes
myéloprolifératifs triple négatifs *BCR::ABL1* négatifs

Mots-clés : *SH2B3*, LNK, myéloïde, syndrome myéloprolifératif, thrombocyémie essentielle, polyglobulie de Vaquez, myélofibrose, somatique, oncogénétique

Résumé :

Le gène *SH2B3*, codant pour la protéine LNK, joue un rôle dans la régulation des voies de signalisation hématopoïétiques, principalement en inhibant la voie JAK/STAT. Des mutations dans ce gène sont impliquées dans diverses pathologies, notamment dans les hémopathies myéloïdes prolifératives.

Cette thèse explore les caractéristiques des variants du gène *SH2B3* dans les syndromes myéloprolifératifs (SMP) triple négatifs non *BCR::ABL1*. Ce travail a été réalisé chez 61 patients issus d'une cohorte de plus de 4000 individus pour lesquels un séquençage de nouvelle génération a été analysé au CHU de Lille dans le cadre de suspicions de SMP. Les variants de *SH2B3* ont été classés en deux groupes : Tier I/II et Tier III, selon les recommandations de l'Association for Molecular Pathology (AMP), l'American Society of Clinical Oncology (ASCO) et le College of American Pathologists (CAP).

L'étude révèle que les mutations de Tier I/II (principalement les mutations *frameshift* et non-sens) sont associées à des formes plus agressives et davantage en lien avec les thrombocyémies essentielles, tandis que les variants de Tier III semblent plus hétérogènes, incluant des cas de polyglobulie de Vaquez, des formes probable d'érythrocytose congénitale ou des cas de thromboses. Les résultats soulignent également l'importance d'évaluer le gène *SH2B3* chez des patients porteurs de mutations *driver* (*JAK2*, *CALR*, *MPL*) dans le suivi de l'évolution clinique et biologique.

L'intégration des caractéristiques génétiques associée à l'analyse des biopsies de moelle osseuse, permet de redéfinir certains diagnostics, en identifiant des cas frontières entre des syndromes myélodysplasiques et myéloprolifératifs souvent mal diagnostiqués. L'étude de ces variants met en lumière la nécessité d'études fonctionnelles et de ségrégations génétiques plus approfondies pour mieux comprendre l'impact biologique des mutations de *SH2B3*, et ainsi améliorer les diagnostics et la prise en charge clinique des SMP.

Enfin, cette thèse propose un algorithme de prise en charge biologique des patients porteurs d'un variant de *SH2B3* dans des cas de suspicions ou des cas avérés de SMP.

Membres du jury :

Président : Madame la Professeur Stéphanie POULAIN, PU-PH Université de Lille

Directeurs, conseillers de thèses :

Monsieur le Docteur Nicolas DUPLOYEZ, MCU-PH Université de Lille

Monsieur le Docteur Olivier NIBOUREL, PH CHU de Lille

Assesseur : Monsieur le Docteur Mathieu WEMEAU, PH CHU de Lille et CH de Roubaix