

08

Syndromes myéloprolifératifs Philadelphie négatifs Biologie et clinique

08-01 Accidents thromboemboliques et mutation $JAK2^{V617F}$ au cours des syndromes myéloprolifératifs Philadelphie négatifs

I. GHACHEM*¹, S. Hadhri¹, N. Ameur², L. Ifa¹, M. Heni¹, N. Lazreg¹, A. Chaouch¹, H. Skouri¹

¹ Laboratoire d'Hématologie et banque du sang Sahloul Sousse, Hôpital Universitaire Sahloul (CHU Sahloul), Sousse, Tunisie ; ² Hématologie Clinique, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie

Introduction. Les complications thromboemboliques constituent une cause majeure de mortalité chez les patients atteints de syndromes myéloprolifératifs Philadelphie négatifs (SMP). Cependant, l'association de la mutation $JAK2$ aux thromboses demeure controversée. Nous rapportons dans une série de 211 cas l'association entre $JAK2^{V617F}$ et thromboses.

Matériels et méthodes. La mutation $JAK2^{V617F}$ a été recherchée par technique de PCR-ASP (*polymorphism chain reaction-allele specific primers*).

Résultats. Notre série comporte 115 cas de polyglobulie de Vaquez (PV), 77 cas de thrombocyémie essentielle (TE) et 19 cas de myélofibrose primaire (MF) ; âge moyen 55 ± 15 ans, sex-ratio F/H = 1,7. La mutation $JAK2^{V617F}$ a été détectée dans 87,3 % des PV, 50 % des TE, et 36,8 % des MF. La fréquence des manifestations thrombotiques était estimée de 17 %. Les thromboses artérielles étaient les plus fréquentes (7,6 %) suivies de thromboses veineuses portales (6,6 %) et thromboses veineuses profondes des membres inférieurs (2,8 %). Il y avait une corrélation significative entre la mutation $JAK2$ et les thromboses veineuses ($p = 0,002$), notamment de la veine porte ($p = 0,003$). Par ailleurs, la survenue des accidents thrombotiques était associée à l'augmentation du taux de globules blancs ($p = 0,01$), de l'hématocrite ($p = 0,03$) et à la présence des antécédents cardiovasculaires ($p = 0,02$). Il y avait une corrélation positive entre la mutation $JAK2$ et l'augmentation des globules blancs ($p = 0,01$), des plaquettes ($p = 0,01$), de l'hématocrite ($p = 0,01$) et l'âge avancé ($p = 0,002$). La mutation $JAK2$ augmente le risque thrombotique, notamment des thromboses veineuses splanchniques (TVS), de 2,5 (OR = 2,5 ; IC95% [1,2-3,5]).

Discussion. Dans la littérature, la fréquence de la mutation $JAK2$ est estimée à 65-97 % des PV, 23-71 % des TE et 33-58 % des MFP (1-3). L'incidence des événements thrombotiques est estimée de 12 à 39 % pour la PV et 11 à 25 % dans la TE. Les thromboses artérielles représentent 60-70 % des cas souvent à type des accidents vasculaires cérébraux. Les thromboses veineuses sont moins fréquentes. Toutefois, le SMP se caractérise par une incidence particulièrement élevée de thromboses porte et sus-hépatique. D'ailleurs, la fréquence élevée de la mutation $JAK2$ ainsi que son association significative avec les TVS suggèrent sa recherche systématique dans le bilan étiologique des TVS. Les corrélations entre la mutation $JAK2$ et les paramètres de la numération sanguine ont été largement confirmées par quasiment toutes les études publiées. Ces résultats expliquent le rôle de la mutation dans la genèse des thromboses via l'augmentation de l'hyperviscosité sanguine, l'activation des leucocytes, les microagrégats leucoplaquetaires et le dysfonctionnement des cellules endothéliales. Ainsi, l'association de la mutation $JAK2$ aux thromboses a été démontrée dans de nombreuses études. Elle multiplie le risque thrombotique d'un facteur 2. D'ailleurs, un score pronostique évaluant le risque thrombotique a été récemment développé et validé par l'OMS. Ce score inclut la présence de la mutation $JAK2$ et les facteurs de risque cardiovasculaires classiques en plus de l'âge et des antécédents thrombotiques.

Conclusion. La mutation $JAK2^{V617F}$ est un facteur prédictif de thrombose dans le SMP. Le dépistage de la mutation $JAK2$ a un intérêt diagnostique, comme elle a une valeur pronostique notamment dans le risque thrombotique.

08-02 Pratiques courantes diagnostiques et thérapeutiques dans la polyglobulie de Vaquez et la thrombocyémie essentielle. Enquête auprès de 120 praticiens, réalisée au nom du FIM

G. Fouquet*¹, P. Cony-Makhoul², B. Dupriez³, E. Lippert⁴, P. Lionne-Huyghe⁵, L. Roy⁶, S. Giraudier⁷, V. Ugo⁸, J.J. Kiladjian⁹, M. Wemeau¹⁰

¹ U1163, Institut Imagine, Paris ; ² Centre de recherche clinique, CH Anancy Genevois, Metz-Tessy ; ³ Hématologie clinique, CH de Lens, Lens ; ⁴ Laboratoire d'hématologie, CHU de Bordeaux, Bordeaux ; ⁵ Hématologie, CH d'Arras, Arras ; ⁶ Hématologie, Hôpital Henri Mondor, Créteil ; ⁷ Département d'hématologie, Hôpital Henri Mondor, Créteil ; ⁸ Laboratoire d'hématologie, CHRU de Brest, Brest ; ⁹ Centre d'Investigations Cliniques, Hôpital Saint-Louis, Paris ; ¹⁰ Hématologie, CH Roubaix, Roubaix

Introduction. L'exploration d'une polyglobulie ou d'une thrombocytose est un motif fréquent de consultation en hématologie. Les recommandations de prise en charge des polyglobulies de Vaquez (PV) et des thrombocyémies essentielles (TE) sont principalement basées sur des avis d'experts (critères OMS, recommandations ELN). Nous avons réalisé une enquête sur les pratiques cliniques de diagnostic et de traitement de la PV et la TE, afin d'évaluer l'adhésion aux recommandations et leur application en vie réelle.

Patients et méthodes. Un questionnaire a été élaboré avec l'aide d'experts et non-experts des syndromes myéloprolifératifs, puis diffusé par email entre novembre 2017 et mars 2018 à l'ensemble des médecins francophones recensés au sein de la SFH (Société Française d'Hématologie, $n = 830$) et du FIM (France Intergroupe des syndromes Myéloprolifératifs, $n = 320$).

Résultats. Nous avons reçu 120 réponses : 78 % d'hématologues cliniciens et 17 % d'internistes, 91 % exerçant en France métropolitaine, 44 % en CHG, 59 % ne se considérant pas référant pour les SMP ; année médiane de soutenance de thèse : 2 000.

Les seuils d'hémoglobine ou d'hématocrite retenus pour explorer une suspicion de polyglobulie ou affirmer le diagnostic de PV sont très variables. Le bilan de biologie moléculaire est largement conforme aux recommandations, avec recherche de la mutation $V617F$ de $JAK2$ en première intention, puis en cas de négativité, de mutations de l'exon 12 en cas de suspicion de PV, ou de CALR puis MPL en cas de suspicion de TE. La biopsie médullaire n'apparaît pas en pratique comme un examen systématique ou nécessaire (comme cela est pourtant établi dans les critères diagnostiques OMS 2016). Seuls 16 % et 28 % des répondeurs réalisent une biopsie médullaire en première intention pour les PV et les TE respectivement ; en deuxième ou troisième intention, les proportions sont de 76 % et 68 % respectivement pour les PV et les TE – principalement dans les cas difficiles (suspicion de PV avec hématocrite limite ou $JAK2$ négatif, suspicion de TE triple négative). La mesure isotopique du volume globulaire total et la culture des progéniteurs érythroïdes restent largement utilisées (90 % et 70 % respectivement de l'ensemble des répondeurs).

L'indication de traitement cytoréducteur pour les patients à haut risque de thrombose est bien respectée. L'interféron est largement prescrit dans ces deux pathologies (malgré l'absence d'AMM pour ces indications) : par 65 % des participants en première intention dans la PV pour les patients de moins de 40 ans, et 45 % pour les 40-60 ans. Dans la TE, 57 % des participants privilégient l'interféron en cas d'indication de traitement pour les moins de 40 ans, et 33 % l'hydroxyurée. Les critères d'indication de l'aspirine dans la TE ne paraissent pas consensuels, notamment concernant le taux de plaquettes et le statut moléculaire. Les objectifs de réponse au traitement sont bien respectés dans la PV selon les recommandations ; ils sont moins strictement suivis dans la TE.

Conclusion. Cette enquête révèle plusieurs points de discordance entre les pratiques médicales et les recommandations OMS 2016 ou ELN 2011 pour la prise en charge des PV et des TE. Ceci pourrait relever soit d'un manque d'information, soit d'un refus d'adhésion aux recommandations. Une analyse détaillée de ces raisons permettrait d'améliorer le suivi des

recommandations, et ces observations pourraient être prises en compte dans la rédaction de recommandations françaises, souhaitées par 75 % des répondeurs.

08-03 Ciblage préférentiel et synergique des cellules $JAK2^{V617F}$ par l'association interféron alpha et arsenic

T. Dagher¹, N. Mashah², V. Edmond¹, B. Cassinat², V. Lallemand-Breitenbach³, E. Verger², I. Plo¹, J.J. Kiladjian⁴, J.L. Villeval*¹, H. De Thé³

¹ Inserm U1170, Gustave Roussy, Université Paris Saclay, Villejuif ; ² Inserm UMRS 1131, IUH, Laboratoire de Biologie Cellulaire, Hôpital Saint-Louis (AP-HP), Paris ; ³ Inserm U944, Collège de France PSL Research University, IUH, hôpital Saint-Louis, Paris ; ⁴ Inserm UMRS 1131, centre d'investigations cliniques, IUH, Laboratoire de Biologie Cellulaire, Hôpital Saint-Louis (AP-HP), Paris

Introduction. Introduction.

L'interféron (IFN) cible les cellules des néoplasmes myéloprolifératifs (NMP). Cependant, les réponses moléculaires complètes sont rares et exigent des expositions longues. Le mécanisme d'action est inconnu et son identification est cruciale pour améliorer l'efficacité thérapeutique. Notre hypothèse implique PML, une cible transcriptionnelle de l'IFN responsable de l'assemblage des corps nucléaires (CN-PML). Ces derniers présentent une fonction « suppressor de tumeur » entraînant une sénescence ou/et un arrêt du cycle via l'activation de P53 et RB. Cette hypothèse sous-entend que l'arsenic (ARS), un inducteur de la formation des CN-PML, pourrait améliorer l'efficacité de l'IFN.

Matériels et méthodes. L'étude préclinique utilise des animaux knock-in $JAK2^{V617F}$ développant une maladie proche de la polyglobulie de Vaquez. L'effet de l'IFN, de l'ARS et de leur combinaison a été analysé durant 8-14 semaines. Après traitement, les animaux sont soit sacrifiés pour analyser les cellules initiatrices de la maladie par injection chez des receveurs secondaires soit gardés pour évaluer le taux de rechute spontanée. Nous avons également étudié les effets de l'IFN ± ARS sur la lignée cellulaire UT-7 exprimant $JAK2^{WT}$ ou $JAK2^{V617F}$ et sur des cellules primaires de patients afin d'étudier l'implication de PML.

Résultats. Les expériences *in vivo* montrent que l'IFN réduit la leucocytose ($p < 0,001$), le compte plaquettaire ($p < 0,001$), l'érythrocytose ($p = 0,005$) et la charge allélique $JAK2^{V617F}$ dans les granulocytes ($p < 0,01$), plaquettes ($p = 0,03$) et globules rouges (GR) ($p = 0,03$). L'addition d'ARS améliore significativement l'efficacité de l'IFN sur la leucocytose ($p = 0,03$), l'érythrocytose ($p = 0,02$), la splénomégalie ($p = 0,001$). La synergie IFN/ARS est particulièrement visible sur la réduction de charge allélique dans les granulocytes ($p = 0,005$), plaquettes ($p = 0,001$), GR ($p = 0,001$) et cellules immatures SLAM. De plus, à l'arrêt du traitement, le taux de rechute est significativement diminué après IFN+ARS (48 %, $p = 0,007$) comparé à IFN seul (73 %, $p = 0,2$). Enfin, aucune des souris receveuses transplantées avec les MO des souris traitées IFN+ARS ($n = 18$) ne développe la maladie contre 68 % des souris transplantées avec la MO de souris traitées par IFN seul. Ce résultat établit l'effet synergique d'IFN+ARS pour élimination des cellules initiatrices de la maladie. Nous avons aussi étudié le rôle de PML dans cet effet sur des modèles *ex vivo*. Le traitement IFN+ARS induit une sénescence significativement supérieure à IFN ou ARS seuls et un arrêt de prolifération à moindre IC50 dans les UT-7 $JAK2^{V617F}$ comparées aux UT7 WT. De manière critique, IFN+ARS a un effet drastique sur le potentiel clonogénique des BFU-E dérivées de patients NMP, en ciblant préférentiellement les colonies $JAK2^{V617F}$. La combinaison IFN+ARS augmente la sénescence des progéniteurs dérivés de patients. Au niveau mécanistique, la déplétion de PML par shRNA diminue l'effet pro-sénescence de la combinaison IFN+ARS, aussi bien sur la lignée HEL ($JAK2^{V617F}$) que sur les cellules de patients.

Conclusion. Nous montrons qu'IFN et ARS ont un effet synergique spécifique des cellules $JAK2^{V617F}$. L'induction de sénescence *ex vivo* est PML-dépendante. Cette association pourrait être évaluée chez des patients résistants aux thérapies actuelles.

08-04 Description d'un nouveau modèle murin de néoplasie myéloproliférative $JAK2^{V617F}$ émergant d'une minorité de cellules souches hématopoïétiques

O. Mansier*¹, B. Kilani², A. Guitart³, A. Guy², V. Gourdou-Latyszenok², C. Marty⁴, M. Parrens⁵, P.Y. Dumas⁶, I. Plo⁴, W. Vainchenker⁴, C. James¹

¹ U1034, Inserm, CHU de Bordeaux, Laboratoire d'hématologie, Pessac ; ² U1034, Inserm, Pessac ; ³ U1035, Université de Bordeaux, Bordeaux ; ⁴ Inserm U1170, Institut Gustave Roussy, Villejuif ; ⁵ Département de pathologie, CHU de Bordeaux, Bordeaux ; ⁶ Hématologie, CHU - Hôpitaux de Bordeaux, Bordeaux

Introduction. Même si plusieurs modèles murins de néoplasies myéloprolifératives (NMP) $JAK2^{V617F}$ ont été décrits, il n'en existe

actuellement aucun qui permette d'étudier la dominance clonale et le développement de la NMP sans avoir recours à des transplantations de cellules souches hématopoïétiques (CSH). Pourtant cette problématique est actuellement majeure pour comprendre pourquoi certains patients acquièrent la mutation $JAK2^{V617F}$ et n'auront qu'une hématopoïèse clonale sans maladie hématologique alors que d'autres développeront une réelle NMP. Dans ce travail, nous présentons un nouveau modèle murin conditionnel permettant l'expression de $JAK2^{V617F}$ murin dans un faible nombre de CSH, sans nécessité de greffe de moelle ni injection de drogue.

Matériels et méthodes. Les souris $PF4iCre$; $JAK2^{V617F}/WT$ ont été générées en croisant des souris $JAK2^{V617F}/WT$ conditionnelles avec des souris $PF4iCre$. Les souris $PF4iCre$; $JAK2^{WT}/WT$ ont été utilisées comme contrôles. Pour apprécier précisément la taille du clone $JAK2^{V617F}$, nous avons également croisé les souris $PF4iCre$; $JAK2^{V617F}/WT$ avec des souris « rapportrices » mT/mG . Grâce à ce système, on peut ainsi quantifier par cytométrie en flux le pourcentage de cellules hématopoïétiques qui expriment la mutation $JAK2^{V617F}$ en étudiant l'expression de la GFP. Nous avons donc suivi le pourcentage de cellules sanguines et médullaires GFP positives à tous les stades de la différenciation, et ce à 6, 12 et 18 semaines de vie.

Résultats. Les souris $PF4iCre$ sont habituellement utilisées pour permettre l'expression d'un gène dans la lignée mégacaryocytaire. De manière attendue les souris $PF4iCre$; $JAK2^{V617F}/WT$ ont développé une thrombocytose isolée dès 4 semaines de vie, mimant une thrombocytémie essentielle (TE). Cependant, à la 10^e semaine de vie, une polyglobulie est apparue et a persisté au moins jusqu'à 18 semaines suggérant une évolution de la maladie vers un stade de polyglobulie de Vaquez (PV). L'analyse de la charge allélique $JAK2^{V617F}$ par PCR quantitative ainsi que l'utilisation du système rapporteur mT/mG ont montré que la mutation $JAK2^{V617F}$ était détectable dans la quasi-totalité des précurseurs mégacaryocytaires, mais aussi dans 15 ± 4 % des précurseurs érythroïdes et 8 ± 2,5 % des précurseurs granuleux chez des souris $PF4iCre$; $JAK2^{V617F}/WT$ de 12 semaines. L'analyse des progéniteurs hématopoïétiques a révélé une prépondérance de cellules GFP+ dans les cellules engagées dans la différenciation mégacaryocytaire (MkP et MPP2), avec néanmoins des cellules également recombinées dans les autres progéniteurs myéloïdes. L'étude du compartiment des cellules souches nous a permis de voir que 9 % des CSH SLAM étaient $JAK2$ mutées chez les souris $PF4iCre$; $JAK2^{V617F}/WT$ de 12 semaines, contre 5 % chez les souris contrôles. Enfin, l'étude de ces différentes populations à 6, 12 et 18 semaines a confirmé que la proportion de cellules portant la mutation augmente dans le temps, concordant avec l'avantage prolifératif conféré par la mutation.

Conclusion. Dans les souris $PF4iCre$, l'expression de la Cre n'est pas spécifique de la lignée mégacaryocytaire mais intéresse des progéniteurs myéloïdes multipotents, et notamment environ 5-10 % des cellules souches SLAM. Dans notre modèle $PF4iCre$; $JAK2^{V617F}/WT$ ceci conduit au développement d'une néoplasie myéloproliférative complète avec seulement une minorité de cellules souches portant la mutation, comme cela est observé chez les patients. Ce modèle est donc parfaitement approprié pour étudier la dominance clonale dans les NMP.

08-05 Hypertension pulmonaire chez les patients atteints de néoplasmes myéloprolifératifs : une vaste cohorte prospective de 183 patients

G. Venton¹, M. Turcanu¹, J. Colle¹, F. Thuny¹, S. Chebrek², L. Farnault¹, C. Mercier¹, V. Ivanov¹, R. Fanciullino³, P. Suchon⁴, K. Aissi⁵, R. Arcani⁶, P. Roche¹, J. Cautela⁷, R. Costello*¹

¹ Hématologie, Assistance Publique des Hôpitaux de Marseille, Université de la Méditerranée, Marseille ; ² Hématologie, CH d'Avignon, Avignon ; ³ Pharmacie, Hôpital Conception, AP-HM, Marseille ; ⁴ Hématologie biologique, CHU Timone, Marseille ; ⁵ Médecine interne, Assistance Publique des Hôpitaux de Marseille, Université de la Méditerranée, Marseille ; ⁶ Médecine Interne - Pr Harlé, 264, Marseille ; ⁷ Cardiologie, Assistance Publique des Hôpitaux de Marseille, Université de la Méditerranée, Marseille

Introduction. Les néoplasmes myéloprolifératifs chroniques (NMP) sont reconnus comme une cause d'hypertension pulmonaire (PH) dans la classification 2016 de l'OMS. Leur incidence dans ce contexte est néanmoins débattue, certaines publications rapportant jusqu'à 30 % de PH chez les patients atteints de NPM.

Patients et méthodes. De janvier mai 2008 à mai 2018, 183 patients NMP récemment diagnostiqués consécutivement du service d'hématologie et de thérapie cellulaire (CHU La Conception, Marseille) ont été évalués par échocardiographie transthoracique (TTE) afin de détecter l'hypertension artérielle pulmonaire (HP). L'âge médian au moment du diagnostic du NPM était de 61 ans (extrêmes : 20-93 ans) ; leucémie éosinophilique chronique 2 patients (1 %), 4 patients avec une myélofibrose secondaire, 11 patients (6 %) avec une myélofibrose primitive, 28 patients (15 %) avec une leucémie myéloïde chronique (LMC), 51 patients (28 %) avec une

polyglobulie primitive (PV) et 87 patients (47 %) avec une thrombocythémie essentielle (TE).

Résultats. Sur la base des recommandations de la Société Européenne de Cardiologie, la TTE a suspecté une HP chez 16 patients (8,8 %) : 4 avec PV (25 %), 7 avec TE (43,8 %), 2 avec MP (12,5 %) et 3 avec LMC (18,8 %). À cause d'une insuffisance cardiaque globale, 2 patients avec ET ont été exclus : un avec une régurgitation mitrale sévère et un avec une cardiomyopathie ischémique. Les 14 patients restants n'avaient pas de maladie cardiaque ou pulmonaire gauche. Trois patients ont eu un cathétérisme cardiaque droit avec confirmation de l'HP. L'âge médian des 14 patients atteints d'HP était de 77,5 ans (50-88 ans) au moment du diagnostic de le NMP et de 79 ans (50-92 ans) au moment du diagnostic d'HP. Le suivi médian à partir du diagnostic de NMP était de 46,5 mois (15-120) et le délai médian entre le diagnostic de NMP et celui d'HP était de 22,5 mois (0-118). Le suivi médian depuis le diagnostic d'HP était de 10 mois (0-97 mois). Deux patients atteints d'HP étaient morts au dernier point de contrôle de notre étude (mai 2018), l'un avec ET et l'autre avec PMF. La pression artérielle pulmonaire systolique médiane (PAP) chez les 14 patients atteints d'HP était de 46,5 mmHg (35-85).

Conclusion. Dans cette grande cohorte de 183 patients NMP évalués en TTE, 16 patients (8,8 %) ont développé une HP, dont 14 sans cause identifiable autre que le NMP. L'HP apparaît donc bien comme une complication possible des NMP car cette son incidence est bien supérieure à celle retrouvé dans la population générale, mais est bien inférieure par rapport aux données précédemment rapportées dans la littérature.

08-06 Syndrome myéloprolifératif atypique avec hyperéosinophilie associé à un transcrite ETV6-ABL

A. Zduniak¹, S. Troche², C. Burgot², D. Penher², V. Bobee³, P. Ruminy⁴, F. Jardin⁵, M. Becker², P. Etancelin⁶

¹ Hématologie clinique, Centre Henri Becquerel, Rouen ; ² Laboratoire de génétique oncologique, Centre Henri Becquerel, Rouen ; ³ Hématologie biologique, unité Inserm 1245, CHU Rouen, Rouen ; ⁴ Unité Inserm 1245, Centre Henri Becquerel, Rouen ; ⁵ Hématologie clinique, unité Inserm 1245, Centre Henri Becquerel, Rouen ; ⁶ Laboratoire de génétique oncologique, unité Inserm 1245, Centre Henri Becquerel, Rouen

Introduction. Les syndromes myéloprolifératifs avec transcrite ETV6-ABL sont rares. Nous rapportons ici l'observation d'un patient présentant un syndrome myéloprolifératif (SMP) avec hyperéosinophilie et transcrite ETV6-ABL. L'identification de ces patients est importante puisque l'utilisation des inhibiteurs de tyrosine kinases (ITK) représente une alternative thérapeutique prometteuse pour ces pathologies de pronostic péjoratif.

Patients et méthodes. Un patient de 68 ans, agriculteur, est adressé en consultation pour hyperleucocytose (leucocytes à 84,2 G/L dont 13,5 G/L de polynucléaires éosinophiles, soit 16 %) et myélémie (20 %). Les taux d'hémoglobine et de plaquettes sont normaux. Il présente un amaigrissement de plus de 10 kg, des sueurs nocturnes sans syndrome inflammatoire. L'échographie abdominale montre une splénomégalie hétérogène. Le myélogramme retrouve une hyperplasie granuleuse sans déséquilibre de maturation, incluant une hyperplasie éosinophile importante (31 %), sans excès de blastes ni de signes de dysmyélopoïèse. L'aspect est compatible avec une leucémie myéloïde chronique.

Résultats. Afin d'étayer le diagnostic, un caryotype sanguin est effectué et retrouve un remaniement distal du bras long d'un chromosome 9 sans présence de t(9;22)(q34;q11) et sans BCR-ABL en biologie moléculaire. Le diagnostic de LMC typique est donc écarté. Il n'existe pas de mutations de JAK2^{V617F}, de CALR, de MPL et pas de réarrangement FIP1L1-PDGFR α . Un panel de gènes impliqués dans les pathologies myéloïdes est séquencé par NGS et ne retrouve pas de mutation de CSF3R ni de mutation de SETBP1. Seule une mutation de TP53 est retrouvée. Une RT-MLPA réalisée pour la détection des transcrits rares révèle la présence d'un réarrangement ETV6-ABL confirmé partiellement par une FISH montrant la présence d'une insertion de la sonde ETV6 sur le der (9) en 9q34 indiquant la présence d'une ins (9 ; 12) (q34 ; p12p13). Le transcrite juxtapose l'exon 5 du gène ETV6 et l'exon 2 du gène ABL. Il s'agit de la forme la plus fréquemment décrite dans ces SMP atypiques entraînant la formation d'une protéine à activité tyrosine kinase similaire à celle de BCR-ABL. La mise en évidence d'un transcrite ETV6-ABL chez ce patient a conduit à initier un traitement par ITK (dasatinib). Une réponse hématologique est obtenue au bout d'un mois de traitement. Un suivi de la maladie résiduelle par PCR quantitative en temps réel est en cours.

Conclusion. À ce jour, le transcrite ETV6-ABL, rare, a surtout été rapporté dans les leucémies aiguës lymphoblastiques B. Ici, nous décrivons une forme très rare de SMP atypique avec hyperéosinophilie et transcrite ETV6-ABL répondant à un ITK de seconde génération, soulignant l'intérêt de rechercher ce transcrite devant ce type de tableau. Cette observation montre également l'intérêt de la RT-MLPA pour la détection des transcrits rares potentiellement sensibles à des thérapies ciblées.

08-07 Thrombocythémie essentielle et grossesse : à propos de 8 cas

M. Bradai*¹, KM. Benlabiod¹, F. Lamraoui¹, N. Rekab¹, S. Taoussi¹, S. Oukid¹, Y. Bouchakor Moussa¹, H. Brahimi¹, C. Guezlane¹, C. Boucherit¹, M. Mezroud², MT. Abad¹

¹ Hématologie, CAC. Laboratoire de recherche sur les hémopathies malignes et des hémoglobinopathies., Blida, Algérie ; ² Hématologie, EHS ELCC Centre anticancer Blida, Blida, Algérie

Introduction. La survenue d'une grossesse chez une femme porteuse d'une thrombocythémie essentielle (TE) expose à des complications embryofœtales et maternelles liées à un risque vasculaire majoré par l'association de ces deux situations prothrombotiques. Le taux d'échec de la grossesse est de l'ordre de 30 à 40 %, soit 3 fois celui de la population générale, principalement lié aux fausses couches survenant au cours du 1^{er} trimestre (1).

Notre objectif est de décrire le devenir obstétrical des parturientes suivies pour une thrombocythémie essentielle.

Patients et méthodes. Depuis 2007 nous avons suivi 84 femmes thrombocythémiques, parmi elles 16 en âge de procréation, 8 femmes ont fait des grossesses. Le diagnostic de TE a fait appel à la biopsie médullaire pour toutes les patientes, ainsi qu'une biologie moléculaire à la recherche de la mutation JAK2^{V617F} revenue positive dans 4 cas. Le suivi obstétrical a été basé sur l'échographie et le doppler des artères utérines.

Résultats.

L'âge moyen au moment de la conception est de 34 ans (28-41). Une primipare et 7 multipares, 3 ont présenté dans leurs antécédents 5 ABRT, pour 2 d'entre elles le diagnostic était établi dans ce contexte, 1 a présenté 2 ABRT et 2 morts *in utero*. Sept gestantes scorées à haut risque thrombotique et 1 à faible risque. Les 8 gestantes ont été mises sous antiagrégant plaquettaire (Aspirine à 100 mg/j) pendant toute la durée de la grossesse avec arrêt 15 j avant la date présumée de l'accouchement, un traitement prophylactique par HBPM entamé pour 4 gestantes dès le début de la grossesse, et en relais à l'Aspégic 15 j avant l'accouchement et pendant 6 semaines en post-partum pour 2 gestantes, avec reprise de l'Aspirine à 100 mg/j. La cytoréduction par interféron a été mise pour 3 gestantes, après arrêt de l'hydroxy urée. La surveillance clinique, biologique et radiologique des gestantes avec l'obstétricien a été basée sur la recherche des complications liées à la maladie et l'évolution de la grossesse. Une échographie doppler des artères utérines à 24 semaines d'aménorrhée (SA) faite pour une gestante n'a pas révélé d'anomalie. Sur le plan évolutif, On note un avortement précoce à 8 SA chez une patiente, un accouchement à terme d'un mort-né chez une deuxième, et les 6 autres gestantes ont mené leurs grossesses à terme sans complication, 3 césariées, et 3 ont accouché par voie basse sans incident.

Conclusion. Le traitement par les salicylés devrait être prescrit dès la conception. L'anticoagulation par l'HBPM est délivrée en début ou en fin de la grossesse en fonction du risque, et poursuivi après accouchement pour prévenir les complications thrombotiques à l'origine des complications obstétricales. Le suivi étroit avec l'obstétricien est primordial pour optimiser la prise en charge.

08-08 Syndromes myéloprolifératifs Phi négatifs : expérience du service d'hématologie de Casablanca

M. Dakkoun*¹, Q. Meryem², S. Cherkaoui², N. Khoubila², M. Lamchahab², M. Rachid², A. Madani², Q. Asmaa²

¹ Hématologie, CHU Ibn Rochd Casa, Casablanca, Maroc ; ² Service d'hématologie clinique et d'oncologie pédiatrique, Hôpital 20-Août 1953, Casablanca, Maroc

Introduction. Les syndromes myéloprolifératifs classiques « BCR-ABL négatifs » regroupent la polyglobulie de Vaquez, la thrombocythémie essentielle et la myélofibrose primitive. Ils sont caractérisés par une prolifération incontrôlée d'une ou plusieurs lignées médullaires, par l'absence de chromosome Philadelphie et par l'expression de la mutation JAK2. Leur traitement fait intervenir des cytoréducteurs et pour certains la thérapie ciblée. Nous rapportons l'expérience sur 6 ans du service d'hématologie dans la prise en charge de ces pathologies.

Patients et méthodes. Étude descriptive rétrospective réalisée de janvier 2013 au septembre 2018, incluant tous les malades diagnostiqués pour un SMP Phi négatif au sein du service d'hématologie et d'oncologie pédiatrique. Les données ont été recueillies à l'aide d'une fiche d'exploitation à partir des dossiers des patients.

Résultats. 39 patients ont été colligés, l'âge médian était de 63 ans avec des extrêmes de 21-84 ans, le sex-ratio était de 0,85, avec une prédominance féminine. Il s'agissait de 19 cas de thrombocythémie essentielle (TE), 13 polyglobulies de Vaquez (PV) et 7 myélofibroses primitives (MFP). Le délai moyen au diagnostic était de 12 mois. Le syndrome d'hyperviscosité était constaté chez 9 patients, dont 7 PV et 2 TE. L'examen clinique retrouvait une splénomégalie chez 19 patients (49 %).

Dans la PV, La valeur moyenne de l'hémoglobine était de 19 g/dL et 59 % pour l'hématocrite. Dans la thrombocyémie essentielle la valeur moyenne des plaquettes était de 1 144 G/L. La BOM était réalisée chez 18 patients soit 46 %. Le caryotype était réalisé chez 6 patients, ils étaient tous négatifs. La recherche du transcript BCR-ABL réalisé chez 8 patients était également négative chez tous. La mutation *JAK2*^{V617F}, recherchée chez 29 patients soit 74,3 %, était positive chez 10 TE, 8 PV et 2 MFP. La mutation *CALR* réalisée chez 2 malades, était positive chez 1 MFP. Le traitement était fait de cytoréducteur (hydroxyurée) chez l'ensemble de nos patients. L'évolution vers une transformation aiguë était observée chez 4 malades, dont 3 MFP et 1 TE, et vers la fibrose chez un malade TE. Aucun cas de décès n'a été observé durant cette période d'étude.

Conclusion. Le diagnostic des syndromes myéloprolifératifs Phi négatif est basé sur des critères bien définis par l'OMS 2016, donnant une place prépondérante au bilan moléculaire et à la biopsie médullaire devant toute suspicion de SMP.

Cette étude nous a permis de soulever des insuffisances diagnostiques qui sont reliées à la limite des moyens de nos malades, une consultation spécialisée en collaboration avec les anatomopathologistes et les généticiens est nécessaire afin d'affiner le diagnostic et d'améliorer la prise en charge de nos malades.

08-09 Le séquençage nouvelle génération, un outil indispensable au diagnostic de la thrombocyémie essentielle triple négative

D. Luque Paz¹, L. Cottin¹, F. Boyer², A. Beucher¹, A. Tanguy-Schmidt², S. Thepot², M. Dib², S. Francois², R. Jouanneau-Courville¹, A. Bouvier³, E. Pedrono⁴, P. Guardiola⁴, MC. Rousselet⁵, O. Blanchet¹, M. Hunault-Berger², V. Ugo¹

¹ Laboratoire d'hématologie, CHU - CHU Angers, Angers ; ² Service des maladies du sang, CHU - CHU Angers, Angers ; ³ Maladies du sang, CHU - CHU Angers, Angers ; ⁴ Service de génomique oncohématologique, CHU - CHU Angers, Angers ; ⁵ Anatomopathologie, CHU - CHU Angers, Angers

Introduction. Les néoplasies myéloprolifératives non-LMC (NPM) sont principalement classées en : polyglobulie de Vaquez, thrombocyémie essentielle (TE) et myélofibrose primitive (MFP). Le diagnostic de ces pathologies repose en partie sur la recherche de mutations promotrices des gènes *JAK2*^{V617F}, *MPL*^{W515} et *CALR*. Cependant, environ 15 % des TE et 7 % des MFP ne présentent aucune de ces mutations et sont appelés « triple négatives ». Chez ces patients, la détection d'une anomalie moléculaire clonale par séquençage de nouvelle génération (NGS) peut aider au diagnostic. Dans la thrombocyémie essentielle triple négative, une mutation est détectée dans 15 à 65 % des cas selon les études. Nous rapportons ici notre expérience de l'utilisation du NGS pour le diagnostic de thrombocyémie essentielle triple négative.

Patients et méthodes. Nous avons étudié entre janvier 2016 et novembre 2018 le profil mutationnel par NGS de 21 patients avec suspicion de thrombocyémie essentielle triple négative. L'indication de NGS a été validée pour chaque cas en réunion de concertation pluridisciplinaire. Le NGS a été réalisé sur un séquenceur Illumina NextSeq500 après enrichissement par technologie HaloPlex HS (Agilent). Tous les exons de 69 gènes d'intérêt ont été étudiés. Une validation du caractère somatique de certaines mutations a été réalisée sur ADN extrait d'ongles.

Résultats. Les patients avaient un âge médian de 48 ans [23-72] et une biopsie ostéoméduillaire (BOM) était disponible chez 20/21 d'entre eux. Au total 21 mutations ont été détectées chez 12/21 des cas (57 %). Chez 6 des 12 patients avec au moins une mutation détectée, le NGS a permis de mettre en évidence une anomalie clonale en faveur d'une NPM : 3 mutations de *MPL* dont 2 variants rares situés sur le hot-spot 515 (W515A et W515S) et 3 mutations sur les gènes *ASXL1*, *JAK2* et *DNMT3A*. De plus, 4 de ces 6 patients présentaient également une mutation de *TET2* associée. Une étude du caractère somatique a été réalisée chez 4 patients et a mis en évidence un variant constitutionnel de *JAK2* chez 2 patients. Ces deux variants de *JAK2* (D873E et T875N) sont situés au niveau du domaine kinase et la modélisation *in silico* et les données de la littérature sont en faveur d'un effet fonctionnel. Le NGS a également permis de diagnostiquer une thrombocytose constitutionnelle liée à un variant Baltimore (K39N) homozygote sur le gène *MPL*. Trois patients présentaient des mutations sur les gènes *ATM*, *SUZ12* et *EPOR* sans implication connue dans la physiopathologie des NMP. Parmi les 9 patients sans mutation détectée par NGS, le diagnostic de thrombocyémie essentielle a été retenu chez 6 patients sur l'aspect de la BOM et a été exclu chez 3 patients d'après (i) la normalisation de la NFS pour un patient et (ii) l'aspect normal de la BOM pour 2 patients avec la présence d'un syndrome inflammatoire chronique pour l'un des deux.

Conclusion. Dans cette étude, le NGS a permis d'aider au diagnostic de TE dans 29 % (6/21) des cas et a révélé une thrombocytose constitutionnelle chez 14 % (3/21) des cas. Associé à l'analyse de la biopsie médullaire, le NGS est aujourd'hui un outil diagnostique indispensable au

démembrement des thrombocyémies essentielles triples négatives en permettant la mise en évidence d'anomalies moléculaires clonales. Une étude du caractère somatique ou constitutionnel est souvent nécessaire lorsque les mutations ne sont pas décrites et présentent une charge allélique proche de 50 %.

08-10 Analyse des différentes mutations de la calréticuline associées à la thrombocyémie essentielle

AG. De Brevern*

DSIMB - bioinformatics team, INSERM UMR_S 1134, INTS, Univ Paris Diderot, Sorbonne Paris Cite, Labex GREX, Paris

Introduction. La calréticuline (CALR) est une protéine de chaperon liant le Ca²⁺, qui réside principalement dans le réticulum endoplasmique. En plus de Ca²⁺, la calréticuline se lie et régule presque toutes les protéines et la plupart des ARNm déterminant leur destin intracellulaire. Fin 2013, deux équipes européennes décrivent pour la première fois des séries de mutations de CALR. Elles sont associées les néoplasmes myéloprolifératifs négatifs (MPN) BCR-ABL, et plus spécifiquement associé à la thrombocyémie essentielle (ET) et la myélofibrose primaire (PMF) avec une fréquence d'apparition de 25-30 % et 20-30 %, respectivement.

Les mutations CALR affectent toujours le 9e exon. Ils consistent en une suppression et/ou des insertions, associées à un décalage de 1 paire de bases (*frameshift*, fs). Ces mutations conduisent à une modification sérieuse du domaine C-terminal. La longueur finale de la protéine est peu modifiée restant entre 408 et 430 résidus au lieu de 417 initialement. Ce domaine devient plus basique (ne lie plus le Ca²⁺) et perd le motif KDEL impliqué dans la rétention de la protéine dans le réticulum endoplasmique. Les deux plus fréquentes mutations sont c.1092_1143del, p. L367fs*46 (type 1), et c.1154_1155insTTGTC, p. K385fs * 47 (type 2), elles représentent 80-85 % des patients. L'analyse a porté ici sur l'ensemble des variants CALR associés à l'ET disponible dans la base de données COSMIC pour voir (i) la qualité des informations de COSMIC, (ii) la diversité des variants et (iii) l'impact potentiel de ces variants sur la structure de CALR.

Matériels et méthodes. En avril 2018, 4 229 entrées CALR étaient associées à l'ET dans la base de données COSMIC. Le fichier CSV récapitulant l'ensemble des mutations de COSMIC a été téléchargé et les séquences analysées à l'aide de scripts dédiés.

Résultats. 19,37 % des entrées CALR ne sont pas utilisables, ne donnant ni le type de la modification, ni sa position (par exemple p. ?fs*?). Le type 1 représente 41,8 % des entrées et le type 2, 27,5 %. Les 30,7 % représentent 143 autres cas dont 88 ne sont vu qu'une seule fois, et seulement 7 cas dix fois ou plus. Comme attendu, la grande majorité (109/145) sont des fs touchant la partie C-terminale. En utilisant la modélisation comparative, cette zone mutée passe d'un aspect désordonné à une jolie tendance de zone ordonnée avec des structures hélicales détectables, amenant du désordre à de l'ordre. De manière surprenante, 31 mutations ponctuelles sont aussi observées ; elle ne semble pas pouvoir changer ce dernier domaine et sont donc plus discutables comme marque d'ET.

Conclusion. Le CALR humain contient une quantité significative de régions considérées comme intrinsèquement désordonnées, principalement concentrés dans ses P- et C-domaines. Les résultats préliminaires de l'étude présentée ici mettent en avant un résultat plutôt inattendu car tous les fs du C-domaine le rendrait plus ordonné. De même, ce travail montre des mutations contenues dans COSMIC qui ne seraient sans doute pas associées à la pathologie, mais pourraient correspondre à des SNPs 'classiques'.

08-11 Polyglobulie de Vaquez masquée : une nouvelle entité selon l'Organisation mondiale de la santé, 2016. Analyse unicentrique à partir de 2 480 mesures de volumes globulaires

N. Maslah¹, J. Soret-Dulphy², C. Dosquet³, L. Vercellino⁴, C. Belkhdija¹, MH. Schlageter¹, B. Cassinat¹, JJ. Kiladjian², C. Chomienne³, S. Giraudier¹

¹ Biologie cellulaire, Hôpital Saint-Louis (AP-HP), Paris ; ² Centre d'investigations cliniques, Hôpital Saint-Louis (AP-HP), Paris ; ³ Inserm U1131, Institut universitaire d'hématologie, Paris ; ⁴ AP-HP, hôpital Saint-Louis, service de médecine nucléaire, Paris, France, AP-HP, Paris ; ⁵ Centre d'investigations cliniques, hôpital Saint-Louis, Paris

Introduction. Récemment, la mPV a été définie dans la classification des néoplasies myéloprolifératives (NMP) de l'OMS de 2016 comme une nouvelle entité *JAK2*^{V617F}-positive associant des caractéristiques de thrombocyémie essentielle (TE) (la thrombocytose isolée) et de la Polyglobulie de Vaquez (PV) (Pousse spontanée des colonies érythroïdes, histologie, risques thrombotiques). Distinguer TE et mPV est impossible d'après les valeurs d'hémoglobine ou d'hématocrite, et seule la BOM permet cette distinction. Nous avons rétrospectivement analysé les volumes

globulaires réalisés dans notre institution afin de déterminer si cet examen permettait de différencier clairement ces entités.

Patients et méthodes. Nous avons analysé 2 480 patients consécutifs chez qui une mesure du VG a été effectuée dans notre centre au cours des 7 dernières années. Parmi les patients $JAK2^{V617F}$ positifs, les caractéristiques des groupes de patients suivants ont été étudiées : « PV » (Polyglobulie de Vaquez) (mutation $JAK2^{V617F}$, VG > 125 %, hémoglobine supérieure à 18,5/16,5 g/dL (homme/femme) ; « PV masquée » (mutation $JAK2^{V617F}$, VG > 125 % et hémoglobine 16,5-18,5/15-16,5 g/dL) ; « TE $JAK2^{V617F}$ avec un taux d'hémoglobine identique aux mPV » (mutation $JAK2^{V617F}$, VG < 125 %, hémoglobine 16,5-18,5/15-16,5 g/dL).

Résultats. Dans cette cohorte, 37,3 % des 2 480 patients présentaient un VG > 125 % confirmant la polyglobulie. Les patients présentant des taux d'hémoglobine plus faibles (15-16,5 g/dL (56 femmes) et 16,5-18,5 g/dL (112 hommes)) ont pu être classés selon le VG entre PV masquée (n = 113) lorsque le VG était > 125 % ou TE $JAK2^{V617F}$ positive (n = 55) lorsque le VG était < 125 % de la valeur attendue. Les taux moyens de plaquettes étaient significativement plus faibles chez les patients PV que chez les patients mPV et TE, alors qu'aucune différence n'a été observée entre les patients mPV et TE. Le nombre moyen de plaquettes était de 460 G/L (± 222 G/L), 560 G/L (± 245 G/L) et 563 G/L (± 252 G/L) (p PV vs mPV = 0,0014, p PV vs TE = 0,0075 et p mPV vs TE = NS). Les taux sériques moyens d'érythropoïétine (EPO) étaient comparables dans les groupes mPV et PV et inférieurs à ceux des patients atteints de TE (PV : $3,41 \pm 2,3$ mUI/mL ; mPV : $3,42 \pm 2,2$ mUI/mL et TE : $6,22 \pm 4,09$ mUI/mL, p PV vs mPV = NS, p mPV vs TE = 0,0003 et p PV vs TE = 0,0002). La charge allélique $JAK2^{V617F}$ était significativement différente entre les trois groupes. Les charges alléliques mutées moyennes étaient de 46 % $\pm 22\%$, 31 % $\pm 23\%$ et 19,9 % $\pm 20\%$ chez les PV, mPV et TE, respectivement (p PV vs mPV < 0,0001, p mPV vs TE = 0,0094 et p PV vs TE < 0,0001). Enfin, la proportion de patients présentant une hémodilution (volume plasmatique > 110 %) était de 14 % dans les PV, 2 % dans les TE et 35 % dans le groupe mPV (p PV vs mPV < 0,001, p mPV vs TE < 0,001 and p PV vs TE = NS), expliquant des taux d'hémoglobine plus bas chez ces patients.

Conclusion. Cette étude démontre que la PV masquée peut être distinguée de la PV et de la TE par la simple mesure du volume globulaire même en l'absence de biopsie ostéoméduillaire et explique en quoi cette entité partage des caractéristiques de la TE (thrombocytose), de la PV (EPO basse, VG augmenté, microcytose relative) mais représente bien une nouvelle entité (hémodilution même en absence de splénomégalie, charge allélique intermédiaire entre TE et PV) qui nécessite donc probablement une prise en charge thérapeutique plus proche de celle des patients atteints de PV.

08-12 Implication diagnostique et thérapeutique de la recherche systématique des remaniements *PDGFR* et mutations de *KIT* dans les hyperéosinophilies

G. Tueur¹, L. Hamri², F. Carole¹, A. Marceau-Renaut³, R. Letestu¹, V. Vidal⁴, V. Andrieu⁵, T. Braun⁶, C. Gardin⁶, V. Eclache^{*}

¹ Laboratoire d'hématologie, Hôpital Avicenne, Bobigny ; ² Médecine interne, CHU Hassan II, Fès, Maroc ; ³ Centre de biologie pathologie - laboratoire hématologie, CH Régional Universitaire de Lille, Lille ; ⁴ Hématologie, Hôpital Avicenne AP-HP, Bobigny ; ⁵ Laboratoire d'hématologie, hôpital Bichat, Paris ; ⁶ Service d'hématologie clinique, Hôpital Avicenne AP-HP, Bobigny

Introduction. Le syndrome d'hyperéosinophilie (SHE) chronique, défini par la présence d'une hyperéosinophilie (HE) habituellement > 1,5 G/L persistante (plus de 6 mois), regroupe des situations clinico-biologiques et physiopathologiques très diverses. Des progrès récents ont identifié la base physiopathogénique de certaines HE inexplicables. Ainsi, cela a permis une meilleure classification des différentes formes de SHE et surtout l'utilisation de thérapeutiques ciblées en particulier par les inhibiteurs de tyrosine kinases (ITK) dans les formes avec remaniement *PDGFR*/B ou mutations de *KIT* [1]. Nous présentons ici les résultats d'une étude concernant l'intérêt de la recherche d'un remaniement *PDGFR* ou d'une mutation de *KIT* dans un contexte d'HE chronique.

Patients et méthodes. Nous avons réalisé une étude rétrospective sur 20 patients adressés pour suspicion d'hétopathie associée à une HE. Une étude cytogénétique conventionnelle a été réalisée sur la moelle suivie d'une recherche systématique d'un remaniement de *PDGFR*B et, pour certains patients, de *FGFR1* par FISH. La recherche en biologie moléculaire de transcrits *BCR-ABL* et *FIP1L1-PDGFR*A ainsi que de mutations $JAK2^{V617F}$ et KIT^{D816V} ont été réalisées. La recherche de clonalité T ainsi qu'une étude en cytométrie de flux (CMF) ont aussi été effectuées.

Résultats. Entre 2014 et 2018, 20 patients, 15 H/5 F, (âge moyen : 69 ans ± 16), ont été étudiés. L'éosinophilie sanguine médiane était de 2,4 G/L (0,6-40,4), 5 patients présentaient une monocytose > 1 G/L. Des manifestations cliniques (cutanées, respiratoires, cardiaques, neuro-

logiques, digestive, myocardique) associées à l'HE étaient observées dans 15 cas. Les myélogrammes montraient une éosinophilie augmentée chez 17 patients, une mastocytose pour 1 patient et une leucémie myélonocyttaire chronique chez 3 patients. La clonalité T était positive dans 8 cas et associée à la présence d'un lymphome T dans un seul cas. La recherche des transcrits *BCR-ABL* et de mutation de *JAK2* était négative dans tous les cas. Un transcrit *FIP1L1-PDGFR*A et 1 cas de mutation de *KIT* ont été identifiés. Le caryotype montrait une perte de l'Y (n = 3), une del(13q) isolée (n = 1), un add(9)(q34) (n = 1), une t(5;14)(q33;q31-32) (n = 1). La FISH a confirmé le remaniement du locus *PDGFR*B dans ce dernier cas et le gène partenaire *CCDC88C* a été identifié. Les autres cas étaient sans anomalie caryotypique ni remaniement de *PDGFR*B et *FGFR1* (6 cas testés).

Au total les diagnostics retenus ont été un lymphome T, une mastocytose systémique, 2 néoplasies myéloïdes avec HE associées à un remaniement de *PDGFR*A/B et 9 SHE idiopathiques. Pour les autres cas, une pathologie associée non hématologique a finalement été retenue. Les traitements ont consisté en une corticothérapie au long cours ou de l'hydroxyurée pour réduire les effets de l'HE. Le lymphome T a été traité par CHOP, la mastocytose par midostaurine et 4 patients (2 avec réarrangement *PDGFR*A/B et 2 SHE idiopathiques) ont été traités par ITK. Chez 6 patients une diminution de l'HE et une régression des atteintes d'organes ont été obtenues. L'HE a été stabilisée chez 5 patients. Le patient avec mastocytose est décédé.

Conclusion. La présence d'un remaniement des *PDGFR* est rare, sa recherche systématique doit être discutée en réunion multidisciplinaire du fait de ses implications thérapeutiques.

08-13 Efficacité du Ruxolitinib en traitement de la leucémie chronique à neutrophiles avec double mutation de *CSF3R*

J. Soret-Dulphy^{*1}, N. Maslah², D. Rea³, S. Cereja⁴, E. Verger², L. Benajiba¹, S. Giraudier², J.J. Kiladjian¹, B. Cassinat²

¹ Centre d'investigations cliniques, Hôpital Saint-Louis (AP-HP), Paris ; ² Biologie cellulaire, Hôpital Saint-Louis (AP-HP), Paris ; ³ Hématologie adulte, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Paris ; ⁴ Hématologie clinique, CH Sud Francilien, Corbeil-Essonnes

Introduction. La LCN est une entité rare de néoplasie myéloproliférative (NMP) Philadelphie-négative. Des études récentes ont montré qu'environ 70 % des patients présentaient une mutation somatique activatrice dans le gène *CSF3R* (*granulocyte-colony stimulating factor 3 receptor*). Deux types de mutations sont décrits : des mutations de membrane proximales (la plus fréquente T618I) et des mutations dites tronquantes, conférant respectivement une possible sensibilité au ruxolitinib ou au dasatinib. Un cas est décrit dans la littérature de patient présentant 2 mutations simultanées de *CSF3R* (T618I et une mutation tronquante), ayant répondu transitoirement au ruxolitinib, tant sur le plan clinique que moléculaire.

Patients et méthodes. Nous rapportons ici 2 cas de patients avec LCN présentant 2 mutations simultanées dans *CSF3R* (T618I et une mutation tronquante), ainsi qu'une mutation d'*ASXL1*, et qui reçoivent un traitement par ruxolitinib depuis bientôt 2 ans.

Résultats. Cas n°1. Il s'agit d'une femme de 60 ans, avec polynucléose neutrophile évoluant depuis 2013 (NFS : Hb 12,3 g/dL, Plq 122 G/L, GB 29,92 G/L, PNN 23,94 G/L, myélémie 7 % ; pas de transcrit *BCR-ABL*, pas de mutation de *JAK2*, *CALR* ou *MPL*). La biopsie ostéoméduillaire montrait en 2014 et en 2016, une moelle de richesse augmentée, sans dysplasie, avec aspect de NMP intéressant essentiellement la lignée myéloïde, sans excès de blastes, avec fibrose de grade 1. Le diagnostic de LCN est confirmé en 2017, alors que la pathologie devient évolutive (signes généraux, splénomégalie, anémie inférieure à 8 g/dL), avec la mise en évidence de 2 mutations dans *CSF3R* : T618I (charge allélique (CA) 39 %) et E788G (CA 38 %). On note aussi une mutation d'*ASXL1* (CA 42 %). Un traitement par ruxolitinib est engagé en mars 2017 (dose rapidement augmentée jusqu'à 30 mg/j), permettant la disparition des signes généraux et de la splénomégalie, la normalisation de la NFS. La patiente est toujours en rémission clinique et hématologique à 21 mois de traitement. La réponse moléculaire est également excellente à 1 an de traitement avec des CA à 1 % pour chaque mutation de *CSF3R*, la mutation d'*ASXL1* n'étant plus détectable.

Cas n°2. Il s'agit d'un homme de 81 ans, avec un diagnostic de LCN en décembre 2016 devant une hyperleucocytose évoluant depuis décembre 2015, associée à une perte de poids significative sur 2016. Le bilan montrait : Hb 13,1 g/dL, Plq 202 G/L, GB 30,26 G/L, PNN 24,21 G/L, myélémie 9 % ; pas de transcrit *BCR-ABL*, pas mutation de *JAK2*, *CALR* ou *MPL* ; myélogramme très riche, sans dysplasie, sans excès de blastes ; 2 mutations de *CSF3R*, T618I (CA 26 %) et W818X (CA 25 %), mutation d'*ASXL1* (CA 30 %). Le ruxolitinib est engagé en février 17 (rapidement jusqu'à 40 mg/j), avec rapide réponse clinique et hématologique complète. À 1 an de traitement, on note une réponse clinique et hématologique persistante, et une réponse moléculaire avec des CA à 2 % pour chaque mutation de *CSF3R* et une CA à 8 % pour celle d'*ASXL1*.

Conclusion. Le ruxolitinib peut être un traitement efficace pour les patients atteints de LCN et présentant simultanément des mutations proximales et tronquantes de *CSF3R*, induisant des réponses cliniques et moléculaires potentiellement durables.

08-14 Carcinomes cutanés agressifs chez des patients traités par inhibiteurs de JAK1/2 pour des néoplasies myéloprolifératives

L. Benajiba^{*1}, J. Soret-Dulphy¹, M. Battistella², B. Cassinat³, S. Mourah⁴, P. Eftekhar⁵, N. Parquet⁶, E. Raffoux⁷, L. Ades⁸, N. Boissel⁹, S. Giraudier³, C. Lebbé¹⁰, J.J. Kiladjian¹, B. Baroudjian¹⁰

¹ Centre d'Investigation Clinique, Hôpital Saint-Louis AP-HP, Paris ; ² Anatomocytopathologie, Hôpital Saint-Louis AP-HP, Paris ; ³ Hôpital saint-louis, service de biologie cellulaire, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Paris ; ⁴ Pharmacologie, Hôpital Saint-Louis, Paris ; ⁵ Centre régional de pharmacovigilance, Hôpital Fernand-Widal AP-HP, Paris ; ⁶ Hématologie, Hôpital Saint-Louis (AP-HP), Paris ; ⁷ Hématologie adulte, Assistance Publique Hôpitaux de Paris, Paris ; ⁸ Hématologie seniors, Hôpital Saint-Louis, Paris ; ⁹ Département d'hématologie, Hôpital Saint-Louis, AP-HP, Paris ; ¹⁰ Dermatologie, Hôpital Saint-Louis AP-HP, Paris

Introduction. Les inhibiteurs de JAK1/2 (JAKi), et principalement le ruxolitinib, jouent un rôle clé dans la prise en charge de la myélofibrose (MF) et de la polyglobulie de Vaquez (PV) depuis l'obtention de leur AMM en 2012 et 2015 respectivement. Ces JAKi améliorent la symptomatologie des patients liée à l'activation de la voie JAK/STAT, mais leurs effets à long terme restent encore peu explorés. Quelques cas de carcinomes cutanés agressifs ont été rapportés dans la littérature et un excès de tumeurs cutanées non mélanomateuses a été observé dans l'essai RESPONSE (post-hydroxyurée (HU) dans la PV).

Résultats. Notre étude vise à caractériser et évaluer l'incidence des carcinomes cutanés dans une large cohorte de patients traités par JAKi. Parmi 115 patients traités par JAKi (ruxolitinib n = 106, fédératinib n = 3, pacritinib n = 3, gandotinib = 2, momélotinib n = 1) entre 03/2012 et 12/2018, 17 (14,8 %) ont développé au total 14 carcinomes basocellulaires (CBC), 34 carcinomes épidermoïdes (CE) et 19 kératoses pré-épithéliomateuses (KPE). La majorité de ces lésions (14 CBC, 19 KPE et 29 CE) ont été traitées par exérèse chirurgicale complète. 5 patients (4,3 %) ont présenté des CE agressifs (T3, T4, N1/2 ou M1) ayant nécessité une prise en charge locorégionale (curage ganglionnaire et radiothérapie) et/ou systémique par radiochimiothérapie ou immunothérapie (2 CE localement avancés, 2 CE avec métastases ganglionnaires et 1 CE métastatique). Ces patients ont tous progressé après radiochimiothérapie, un patient est en rémission complète sous anti-PD1 et 2 patients ne sont pas encore évaluables après initiation de l'immunothérapie par anti-PD1.

Sur le plan hématologique, 6 patients avaient une MF primitive, 8 une MF secondaire et 3 une PV ; l'âge médian au diagnostic était de 59 ans [41 ; 72] ; 12 avaient une mutation *JAK2*^{V617F}, 2 *CALR*, 2 *MPL*, et 1 était triple négatif. 14 (82,3 %) patients avaient été préalablement traités par HU avec une médiane d'exposition de 76 mois [1 ; 276]. 16 patients ont eu une réponse thérapeutique au JAKi (5 réponses hématologiques complètes, 1 réponse partielle, 9 améliorations cliniques, 1 maladie stable). La médiane d'exposition aux JAKi est de 39 mois [2 ; 73] et le délai médian d'apparition du premier carcinome après initiation du traitement par JAKi est de 30 mois [1 ; 49] comparativement à un délai médian de 80 mois pour l'HU [6 ; 307]. Le traitement par JAKi a été interrompu chez un seul patient en raison d'un carcinome épidermoïde métastatique, la posologie a dû être réduite pour les autres patients pendant la chimiothérapie en raison de cytopénies. Aucun patient n'a développé de leucémie secondaire et un patient a été allogreffé. Un patient est décédé des suites de la progression de sa MF, avec un suivi médian de 10 ans [1 ; 31].

Conclusion. Dans cette grande série monocentrique de NMP traités par JAKi, 14,8 % des patients ont développé une tumeur cutanée non mélanomateuse, dont pratiquement un tiers sous une forme agressive, possiblement favorisés par une exposition préalable à l'HU. Nos résultats suggèrent qu'une surveillance dermatologique rapprochée de ces patients est indispensable. Une étude épidémiologique plus large est en cours afin d'évaluer le risque relatif et les facteurs de risque de carcinomes cutanés agressifs dans les suites d'un traitement par JAKi. La caractérisation biologique de ces tumeurs permettra par ailleurs de mieux cibler la prise en charge des patients à la fois sur le plan hématologique et dermatologique.

08-15 Facteurs de risques de thromboses dans les polyglobulies

M. Seck^{*1}, BF. Faye¹, SA. Toure¹, Y. Guéye², N. Dieng¹, EHD. Niang¹, A. Sall³, M. Gadj³, FAO. Touré³, S. Diop¹

¹ Hématologie clinique, Université Cheikh Anta Diop, Dakar, Sénégal ; ² Hématologie clinique, Centre National de Transfusion Sanguine, Dakar, Sénégal ; ³ Hématologie biologique, Université Cheikh Anta Diop, Dakar, Sénégal

Introduction. Les polyglobulies se caractérisent par une hyperviscosité sanguine à l'origine de thromboses veineuses ou artérielles. Néanmoins, il est parfois difficile de relier directement ces thromboses à la polyglobulie à cause des comorbidités fréquentes chez les patients. L'objectif de cette étude était d'identifier les principaux facteurs de risque de thromboses chez les patients suivis pour une polyglobulie.

Patients et méthodes. Il s'agit d'une étude rétrospective monocentrique portant sur une cohorte de 59 patients atteints de Polyglobulie Secondaire (PS) (25 cas) et de polyglobulie de Vaquez (PV) (34 cas) suivis dans notre service pendant une durée de 14 ans. Les variables étudiées étaient la fréquence et le type de thromboses ; et les facteurs de risques sociodémographiques, cliniques et biologiques associés à la survenue de thromboses. L'analyse statistique était réalisée à l'aide du logiciel SPSS version 18. Pour identifier les facteurs de risques de thrombose, une analyse multivariée était réalisée par régression logistique binaire ($p < 0,05$).

Résultats. L'âge moyen des patients dans la PV était de 53 ans (33-79) et de 44,48 ans (5-78) dans les PS. Le sex-ratio M/F dans la PV était de 1,12 et de 2,57 dans les PS. Au total, 19 événements thrombotiques étaient enregistrés chez 16 patients (27,1 %). Selon le type de polyglobulie, 12 PV (35 %) présentaient une complication thrombotique contre 4 PS (16 %) ($p = 0,099$). Selon le type de thrombose, les thromboses artérielles étaient plus fréquentes (63,2 %). Les facteurs de risque de thrombose identifiés étaient la tranche d'âge entre 40 et 59 ans ($p = 0,009$) ; les antécédents de thrombose ($p = 0,00001$) ; un taux d'hématocrite $> 45\%$ ($p = 0,0001$) ; une thrombocytose entre 600 G/L et 1 000 G/L ($p = 0,001$) et une hypercholestérolémie ($p = 0,026$). Après analyse multivariée, seuls 2 facteurs étaient associés indépendamment aux thromboses : les antécédents de thrombose et un taux d'hématocrite $> 45\%$.

Conclusion. Nous montrons à travers cette étude, une fréquence des thromboses artérielles dans les polyglobulies. Le principal facteur de risque est constitué du taux d'hématocrite élevé ($> 45\%$). Nous insistons sur l'intérêt des saignées thérapeutiques, parfois associées au traitement cytoréducteur afin de maintenir un taux d'hématocrite $< 45\%$.

08-16 Complications hémorragiques de la thrombocythémie essentielle chez des patients du sud de la Tunisie

Y. Fakhfakh¹, F. Megdiche^{*2}, L. Mbarek², H. Bellaaj¹, R. Frikha³, N. Ajmi¹, H. Kammoun⁴, C. Kallel², M. Elloumi¹

¹ Hématologie clinique, CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisie ; ² Laboratoire d'hématologie, CHU Habib Bourguiba, Sfax, Tunisie ; ³ Faculté de médecine de Sfax, Laboratoire d'Histologie embryologie, Sfax, Tunisie ; ⁴ Service de génétique médicale, CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisie

Introduction. La thrombocythémie essentielle (TE) est une hémopathie classée dans les néoplasies myéloprolifératives à chromosome de Philadelphie négatif (NMP ; Ph-) et qui pourrait entraîner simultanément des complications thrombotiques et hémorragiques. Même s'il a été démontré que les événements thrombotiques étaient plus prévisibles que les saignements chez les patients diagnostiqués, les complications hémorragiques pourraient être d'une gravité potentiellement supérieure [1]. L'objectif de notre étude était d'évaluer la fréquence des épisodes hémorragiques chez les patients atteints de TE et de caractériser leurs phénotypes clinico-biologiques.

Patients et méthodes. Cinq patients du Sud Tunisien, ayant la TE, ont été inclus dans cette étude rétrospective. Une fiche de synthèse a été conçue pour rassembler des données épidémiologiques, cliniques, biologiques et moléculaires. Le diagnostic de la TE reposait sur les recommandations de l'OMS de 2016. L'analyse du facteur Von Willebrand, se basant sur l'activité du facteur von Willebrand (Innovance FvW Ac) et sur l'antigène du facteur von Willebrand (FvW Ag), a été réalisée pour tous les échantillons à l'aide du système CS-2100i, qui est un analyseur entièrement automatisé pour les tests de coagulation chromométriques, chromogéniques et immunologiques.

Résultats. Parmi les cinq patients ayant la TE, il y avait un homme et quatre femmes. La tranche d'âge était entre 54 et 83 ans. Des manifestations hémorragiques sont apparues chez trois patients. Les manifestations hémorragiques observées comprenaient la gingivorragie (deux cas), l'épistaxis (un cas) et l'hématurie (un cas). Une numération plaquettaire (supérieure à $1\ 000 \times 10^9/L$) et la mutation *JAK2*^{V617F} ont été observées chez quatre patients. En outre, un risque accru de syndrome de Von Willebrand acquis (AVWS) a été détecté dans trois cas avec des taux de FvW Ag dans la plage normale, mais avec une FvW Ac perturbée sachant que tous nos patients étaient de groupes sanguins différents du groupe O.

Conclusion. Nos résultats soulignent que les risques hémorragiques sont fréquents chez les patients atteints de TE. Des recherches supplémentaires seront nécessaires en vue de mieux explorer la physiopathologie des événements hémorragiques de la TE. Les modalités thérapeutiques et prophylactiques devraient ajuster l'utilisation des traitements antiagrégants spécialement chez les malades possédant des chiffres nettement élevés de plaquettes.

08-17 Les souris knock-in pour la calréticuline développent une thrombocytose et une fibrose dépendantes du type de mutation *del52* ou *ins5* et du statut génétique hétérozygote ou homozygote

C. Benlabiod^{*1}, L. Lamrani¹, M. Da Costa Cacemiro¹, L. Touchard², D. Muller¹, B. Schmaltz-Panneau¹, P. Gonin², J.L. Villeval¹, S. Constantinescu³, H. Raslova¹, W. Vainchenker¹, I. Plo¹, C. Marty¹

¹ UMR 1170, Gustave Roussy, Villejuif ; ² Unité mixte de service 3655/US23, Gustave Roussy, Villejuif ; ³ Ludwig Institute for Cancer Research, Duve Institute, Université Catholique de Louvain, Bruxelles, Belgique

Introduction. Les mutations somatiques du gène de la calréticuline (*CALR*) sont associées à la thrombocythémie essentielle (TE) et la myélofibrose primaire. Toutes les mutations de *CALR* induisent un décalage du cadre de lecture de + 1 pb générant une nouvelle queue C-terminale commune responsable de l'activation du récepteur à la thrombopoïétine. Les deux mutations les plus fréquentes sont une délétion de 52 pb (*del52*) ou type 1 et une insertion de 5 pb (*ins5*) ou type 2. À l'aide d'un modèle rétroviral de souris, nous avons montré que ces mutants de *CALR* entraînent une thrombocytose progressant éventuellement vers une myélofibrose. Une des limites principales de ce modèle est liée à la surexpression des mutants *CALR*. Notre objectif est d'étudier les conséquences de l'expression endogène de ces deux mutations.

Matériels et méthodes. Nous avons généré deux modèles conditionnels de souris knock-in (KI) pour les *Calr del52* et *ins5* avec une queue C-terminale mutée humanisée. Les paramètres sanguins et les différents compartiments hématopoïétiques de la moelle osseuse (MO) et de la rate ont été analysés sur une année.

Résultats. Les souris KI *del52* et *ins5* développent une thrombocytose et une hyperleucocytose dépendantes du statut hétérozygote (het) ou homozygote (hom) de *del52* ou *ins5*, ce phénotype est plus marqué pour *del52*. Contrairement aux souris het, seules les TE des souris hom *del52* progressent vers une fibrose splénique mais non médullaire, avec une splénomégalie importante. La MO et la rate des souris het et hom *del52* présentent une hyperplasie mégacaryocytaire (MK) révélée par histochimie et cytométrie en flux avec une ploïdie plus élevée que pour les MK sauvages (WT). Dans la MO, la fréquence des MK augmente principalement aux dépens des cellules érythroïdes. La rate de ces souris est caractérisée par une hyperplasie MK et érythroïde. La fréquence des progéniteurs immatures (cellules SLAM et LSK) est augmentée dans la MO et la rate des souris *del52*, surtout dans les souris KI hom. Les progéniteurs MK sont augmentés et indépendants de la thrombopoïétine. Enfin, en réalisant des greffes compétitives entre des cellules de MO de souris KI hom *del52* ou *ins5* et des cellules WT GFP+, nous avons constaté que les cellules hom *del52* étaient capables de prendre l'avantage sur les cellules WT et d'induire une thrombocytose à partir d'une prise de greffe compétitive initiale à 10 % plus rapidement que les cellules hom *ins5*.

Conclusion. Globalement, ces résultats démontrent que *CALR del52* et *ins5* sont suffisantes pour induire, de manière dose-dépendante, une thrombocytose évoluant vers une fibrose chez la souris KI *del52*, imitant ainsi la physiopathologie des patients atteints de NMP. Ces souris KI nous permettront d'étudier *in vivo* comment les mutants *CALR* entraînent un avantage clonal et la coopération avec d'autres gènes mutés et pourront servir de modèles pré-cliniques.

08-18 PPAR γ , une cible thérapeutique dans la myélofibrose ?

J. Lambert^{*1}, S. Joseph¹, C. Calderon¹, K. Sii-Felice¹, I. Plo², J.J. Kiladjian³, E. Soler⁴, W. Vainchenker², J.L. Villeval², P. Rousselot⁵, S. Prost¹

¹ Service des thérapies innovantes, Commissariat à l'énergie atomique et aux énergies alternatives, Fontenay-aux-Roses ; ² Inserm, UMR 1170, Université Paris-Sud, Gustave Roussy, Villejuif ; ³ Centre d'Investigations Cliniques, Hôpital Saint-Louis, Paris ; ⁴ Molecular hematopoiesis UMR 5535, IGMM, Montpellier ; ⁵ Hématologie et Oncologie, CH de Versailles, Le Chesnay

Introduction. La myélofibrose (MF) est un néoplasme myéloprolifératif de pronostic sombre faute de traitement curatif en l'absence d'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques. La MF résulte d'interactions complexes entre 1) le clone hématopoïétique malin, 2) l'installation d'un contexte inflammatoire et 3) les composants de la niche hématopoïétique responsables du remodelage du microenvironnement médullaire ; chacun de ces points constituant une cible thérapeutique potentielle. Il a été rapporté que l'activation du récepteur nucléaire PPAR γ a une action

antiproliférative et diminue le pool de cellules souches leucémiques dans la leucémie myéloïde chronique. Par ailleurs, l'activation du récepteur PPAR γ présente des propriétés anti-inflammatoires notamment au niveau des mégacaryocytes et des monocytes. Enfin, la capacité de PPAR γ à inhiber la production de protéines profibrotiques a été rapportée au niveau des tissus hépatiques, rénaux, intestinaux et de la peau. Dans ce travail nous évaluons *in vitro*, *ex vivo* et dans des modèles murins de MF le potentiel thérapeutique de ligands de PPAR γ .

Résultats. *In vitro*, le traitement par un ligand de PPAR γ , la pioglitazone, freine la myéloprolifération en réduisant la viabilité cellulaire et la clonogénicité des cultures de lignées cellulaires *JAK2^{V617F}* ou de progéniteurs hématopoïétiques CD34+ provenant de patients atteints de polyglobulie de Vaquez (PV) ou de MF. Dans le modèle murin de PV *JAK2^{V617F}*, le traitement précoce des souris par pioglitazone permet une réduction de l'hématocrite comparativement aux souris non traitées soulignant le potentiel antiprolifératif de la pioglitazone. *In vitro*, la stimulation par le TGF β 1 induit des gènes profibrotiques tels que le *connective tissue growth factor* (CTGF), le collagène A1 ou la fibronectine dans des modèles de stroma médullaire murin (lignée MS5) et humains (lignée HS5 et fibroblastes médullaires de patients). L'ajout de pioglitazone contrecarre l'induction de la transcription de ces gènes cibles du TGF β 1, suggérant une action antifibrotique directe des ligands de PPAR γ . Par des analyses de ChIP-seq et de surexpression, nous montrons que la répression de la voie de signalisation du TGF β 1 pourrait être médiée par une titration de la protéine p300, un cofacteur de transcription commun à l'induction des gènes cibles de PPAR γ comme à ceux du TGF β 1. Enfin, dans deux modèles murins de MF (*JAK2^{V617F}* et TPOhigh), le traitement par ligands de PPAR γ réduit la leucocytose, suggérant un effet sur l'inflammation, et réduit significativement l'anémie liée à la fibrose médullaire. L'analyse anatomopathologique des fémurs et des rates confirme cette action antifibrotique, mettant en évidence une fibrose moins étendue chez les souris traitées comparées aux souris contrôles.

Conclusion. Par son action simultanée sur le clone malin, l'inflammation et le microenvironnement, PPAR γ apparaît comme un médicament candidat pertinent dans la prise en charge de la Myélofibrose.

08-19 Analyse de la mutation *JAK2^{V617F}* dans les néoplasies myéloprolifératives hors leucémie myéloïde chronique : expérience du centre tunisien

I. Ouahchi^{*1}, D. Hmida¹, A. Bennour¹, K. Zahra², H. Regaieg², N. Ben Sayed², E. Bouslama², M. Zaier², Y. Benyoussef², M.A. Laatiri³, A. Khelif², H. Sennana¹, A. Saad¹

¹ cytogénétique, génétique moléculaire et biologie de la reproduction, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie ; ² Hématologie clinique, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie ; ³ Hématologie clinique, CHU Fattouma Bourguiba, Monastir, Tunisie

Introduction. Les néoplasies myéloprolifératives (NMP) « non-leucémie myéloïde chronique (LMC) » sont des pathologies chroniques regroupant principalement la polyglobulie de Vaquez (PV), la thrombocythémie essentielle (TE) et la myélofibrose primitive (MFP). Elles sont caractérisées par la présence, à des fréquences variables, de la mutation *JAK2^{V617F}*. La mise en évidence de ce marqueur moléculaire est fondamentale au cours du diagnostic de ces différentes pathologies. Nous rapportons dans ce travail les résultats de recherche de la mutation *JAK2^{V617F}* dans une série de patients du centre Tunisien.

Patients et méthodes. Notre étude a été réalisée sur 54 prélèvements sanguins provenant de patients suspects d'être atteints de NMP (20 cas suspects de PV, 33 de TE et un cas de MFP) et chez lesquels le diagnostic de LMC a été éliminé. Pour la recherche de la mutation *JAK2^{V617F}*, nous avons adopté la technique de discrimination allélique TaqMan en utilisant un kit commercial *JAK2* Mutascreen (Ipsogen) contenant un mélange d'amorces et de sondes spécifiques de l'allèle sauvage et de l'allèle muté respectivement.

Résultats. La moyenne d'âge des patients était de 60 \pm 20 ans. La plupart des patients étaient de sexe masculin. La recherche de la mutation *JAK2^{V617F}* a montré 21 (39 %) cas positifs ; huit sur 20 patients (40 %) suspects de PV, 12 sur 33 (37 %) cas suspects de TE et le cas de MFP.

Conclusion. Notre étude a montré que la technique de discrimination allélique TaqMan est un outil sensible, fiable et reproductible pour la détection de la mutation *JAK2^{V617F}*. Dans la continuité de ce travail, et en plus de l'augmentation de la taille de l'échantillon, les cas de TE et de MFP négatifs pour la mutation *JAK2* sont en cours d'analyse par séquençage à la recherche des mutations *CALR* et *MPL*.