



Diagnostic des syndromes myéloprolifératifs : critères et arbres diagnostiques

Avec un âge médian au diagnostic proche de 60 ans, les syndromes myéloprolifératifs (SMPs) non LMC sont des pathologies touchant les adultes dans la deuxième moitié de la vie. Les critères diagnostiques ont été revus depuis la découverte en 2005 de la mutation JAK2V617F, retrouvée dans 95 % des cas de polyglobulie de Vaquez (PV), dans environ la moitié des cas de thrombocytémie essentielle (TE) et de myélofibrose primaire (MFP)⁽¹⁾.

La classification OMS 2008 des syndromes myéloprolifératifs intègre les critères classiques du diagnostic et les avancées plus récentes de la biologie moléculaire⁽²⁾.

Circonstances de découverte

Le diagnostic de SMP est suspecté devant un hémogramme qui montre, selon les cas, une augmentation de l'hémoglobine, de l'hématocrite, des plaquettes, des leucocytes, une myélémie, des érythroblastes circulants. Souvent réalisé à titre systématique, l'hémogramme peut avoir été réalisé après un événement vasculaire, une crise de goutte, ou la découverte d'une splénomégalie, qui dans ce contexte est un argument clinique fort en faveur d'un SMP. Plus spécifiquement, les patients polyglobuliques peuvent présenter une érythrose faciale, un prurit provoqué par l'eau (prurit aquagénique), ou des signes neurosensoriels d'hyperviscosité sanguine (céphalées, acouphènes, vertiges) notamment lorsque l'hématocrite dépasse 60 %, seuil à partir duquel la viscosité sanguine augmente de façon exponentielle. Une thrombose veineuse inaugurant la maladie est fréquente, elle peut concerner des sites inhabituels tels les gros troncs veineux du système splanchnique ou encore le système cave inférieur réalisant le syndrome de Budd-Chiari. Des embolies pulmonaires, des thromboses artérielles, des accidents vasculaires cérébraux thrombotiques sont également possibles. Le risque hémorragique est moins important et se résume souvent à de petites hémorragies muqueuses parfois responsables d'une carence martiale pouvant masquer partiellement une polyglobulie. Des crises d'érythromélagies, douleurs paroxystiques avec gonflement des extrémités (mains, pieds) le plus souvent déclenchées par le chaud, sont associées aux thrombocytoses.

Diagnostic d'une maladie de Vaquez

1^{er} étape : suspecter puis affirmer la polyglobulie

L'hémogramme montre par définition une élévation de l'hémoglobine supérieure au 99^e percentile des valeurs spécifiques de référence en fonction de l'âge, du sexe, de l'altitude de résidence. Les valeurs retenues sont celles de 16,5 g/dL chez la femme et 18,5 g/dL chez l'homme. (tableau 1). Cette définition ne permet pas d'écarter une hémococoncentration. Seule la mesure isotopique du volume globulaire total (VGT) ou « masse sanguine » permet d'affirmer une « polyglobulie vraie ». Elle est définie par un VGT supérieur à 125 % de la normale. À l'ère des classifications moléculaires, la masse sanguine est de moins en moins réalisée et la disponibilité – ou pas – de l'examen est aujourd'hui un critère important influant sur la pratique clinique⁽³⁾. Le seul point consensuel reste que la mesure du VGT n'est pas utile si l'hématocrite est supérieur à 56 % chez une femme ou à 60 % chez un homme car la polyglobulie est alors certaine. À noter que l'hématocrite (> 47 % chez la femme ; > 54 % chez l'homme) a longtemps été

le critère principal de diagnostic d'une polyglobulie au lieu de l'hémoglobine : les 2 paramètres sont le plus souvent corrélés, et l'hématocrite reste très utilisé pour le suivi thérapeutique.

2^e étape : affirmer son caractère primitif

Dans la maladie de Vaquez, il existe fréquemment une thrombocytose et parfois une hyperleucocytose modérée. Le dosage plasmatique d'érythropoïétine (EPO) est majeur pour différencier polyglobulie primitive (EPO basse) et secondaire (EPO élevée), il est donc à réaliser d'emblée, avant toute saignée⁽⁴⁾. Après une première saignée le taux d'EPO reste interprétable s'il est bas ou subnormal mais il perd toute signification s'il est élevé. La mise en évidence de la mutation JAK2V617F est devenu un critère majeur (tableau 1). L'OMS recommande de vérifier la présence d'au moins 1 critère mineur associé. Il faut donc réaliser d'emblée le dosage d'EPO en même temps que la recherche de la mutation JAK2V617F, ce qui évitera une exploration médullaire. Au total, le diagnostic de polyglobulie de Vaquez est simple dans 95 % des cas : il faut éliminer une polyglobulie secondaire et mettre en évidence la mutation JAK2V617F, qui dans ce contexte signe le diagnostic.

Comment affirmer une maladie de Vaquez si la mutation de JAK2V617F n'est pas détectée ?

Cette situation concerne environ 5 % des patients atteints de polyglobulie primitive. Il est important de commencer par confirmer la réalité de la polyglobulie (mesure du VGT) afin de ne pas entreprendre une démarche diagnostique complexe et coûteuse. Le diagnostic différentiel avec une polyglobulie secondaire requiert alors la même démarche rigoureuse que celle qui était appliquée avant la découverte de la mutation JAK2V617F :

- Dosage de l'érythropoïétine : c'est l'élément clé car l'association polyglobulie et taux d'EPO bas est un argument très fort en faveur d'une maladie de Vaquez.
- Rechercher la présence de l'ensemble des autres critères mineurs, ce qui implique un prélèvement de moelle osseuse comprenant une biopsie médullaire et une aspiration pour mise en culture.
- Compléter le bilan moléculaire à la recherche d'une mutation fonctionnellement équivalente : recherche des mutations de l'exon 12 de JAK2 identifiées en 2007⁽⁵⁾ qui seront détectées chez 2 à 3 % voire d'autres mutations exceptionnelles (exons 13-17 de JAK2, LNK, EZH2...).⁽⁶⁾ Lorsque les critères de PV ne sont pas réunis il faut alors rechercher une polyglobulie secondaire. Le diagnostic étiologique repose sur l'analyse du taux d'EPO et des paramètres des gaz du sang (GDS) à la recherche d'une anomalie des mécanismes senseurs de l'oxygène, d'une

■ Auteur



Christophe MARZAC
Hémato-biologiste.

Expertise :

Outils de diagnostic et de suivi des hémopathies myéloïdes.
Membre du Groupe Français des Biologistes Moléculaires des Hémopathies Malignes (GBMHM) et de l'équipe INSERM UMRs 872 (Université Pierre et Marie Curie).
Membre du CS du FIM.

Déclaration publique

d'intérêts :
Aucun.

Correspondance :

christophe.marzac@sat.aphp.fr

Coécrit avec :

Valérie UGO
PU-PH au Laboratoire d'Hématologie du CHRU de Brest et membre de l'unité INSERM U1078.
valerie.ugo@chu-brest.fr

Aude ALINE-FARDIN

AHU au laboratoire d'anatomie et cytologie pathologiques, Hôpital Saint-Antoine, Paris.



Retrouvez cet article en version enrichie sur notre application *Horizons Hémato*

MOTS CLÉS

POLYGLOBULIE DE VAQUEZ, THROMBOCYTÉMIE ESSENTIELLE, MYÉLOFIBROSE, JAK2V617F.

Tableau 1 : Critères diagnostiques de polyglobulie de Vaquez, de thrombocytemie essentielle et de myélofibrose primaire (OMS 2008)⁽²⁾

| | PV | TE | MFP |
|--------------------------|--|--|---|
| Critères majeurs | <ul style="list-style-type: none"> • Polyglobulie définie par \uparrowHb > 18,5 g/dl (homme) ou > 16,5 g/dl (femme) ou \uparrowHt* ou \uparrowVGI > à 125 % de la valeur théorique • Mutation JAK2V617F ou similaire (mutation de l'exon 12 de JAK2) | <ul style="list-style-type: none"> • Plaquettes \geq 450 G/L • Prolifération mégacaryocytaire avec une morphologie de grands mégacaryocytes matures • Absence de critères OMS diagnostiques de LMC, de PV, de MFP, de SMD ou de toute autre hémopathie • Présence de la mutation JAK2V617F ou d'un autre marqueur de clonalité ou absence de cause de thrombocytose réactionnelle | <ul style="list-style-type: none"> • Prolifération et atypies mégacaryocytaires avec fibrose réticulinique et/ou collagène • Ou, en l'absence de fibrose, les changements morphologiques des mégacaryocytes doivent être accompagnés d'une augmentation de la cellularité médullaire et d'une prolifération granuleuse (définition d'un stade pré-fibrotique de la MFP) • Absence de critères OMS diagnostiques de LMC, de PV, de SMD ou de toute autre hémopathie • Présence de la mutation JAK2V617F ou d'un autre marqueur de clonalité ou absence de cause de fibrose médullaire secondaire |
| Critères mineurs | <ul style="list-style-type: none"> • Myéloprolifération des 3 lignées sur la biopsie médullaire (panmyélose) • EPO sérique basse • Pousse spontanée de colonies érythroblastiques <i>in vitro</i> | | <ul style="list-style-type: none"> • Érythromylémie • LDH augmentées • Anémie • Splénomégalie palpable |
| Le diagnostic requiert : | Les 2 critères majeurs + 1 critère mineur ou Le premier critère majeur et 2 critères mineurs | Les 4 critères sont nécessaires. | Les 3 critères majeurs + 2 critères mineurs |

* L'augmentation de l'hémoglobine (Hb) et de l'hématocrite (Ht) sont aussi définis ainsi : Hb ou Ht > 99^e percentile des valeurs théoriques pour l'âge, le sexe, et l'altitude de résidence. À défaut les seuils respectifs de 15 g/dL et 17 g/dL peuvent être utilisés s'il peut être démontré que le patient présentait antérieurement un taux basal d'Hb inférieur d'au moins 2 g/dL en l'absence de carence martiale. VGI : volume globulaire isotopique. BOM : biopsie ostéomédullaire. PNN : polynucléaires neutrophiles. EPO : érythropoïétine. LMC : Leucémie myéloïde chronique. SMD : syndrome myélodysplasique. OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

■ Ce qu'il faut retenir

- La recherche de mutation JAK2V617F à partir d'un échantillon sanguin fait partie du bilan initial de toute suspicion de syndrome myéloprolifératif. L'apport diagnostique de la quantification de l'allèle muté est discuté.
- Devant une polyglobulie, le dosage d'EPO doit être réalisé avant toute saignée et tout traitement pour être interprétable.
- La recherche d'une mutation de l'exon 12 de JAK2 doit être réservée aux cas de polyglobulies JAK2V617F négatives avec taux sérique d'EPO abaissé et/ou autre critère mineur positif.
- Lorsque JAK2 n'est pas muté, le bilan hématologique doit d'abord affirmer le diagnostic de SMP avant d'en préciser le type. La TE reste un diagnostic d'élimination et la réalisation d'une biopsie médullaire est fortement recommandée.
- Les mutations de MPL sont peu fréquentes, mais leur recherche peut être utile au cours du bilan diagnostique d'une thrombocytose ou d'une myélofibrose JAK2V617F négative. La recherche des mutations de CBL, LNK, TET2, ASXL1, EZH2 (etc.) n'est pas (encore) réalisée en routine.

hémoglobine hyperaffine pour l'oxygène (carboxyhémoglobine, méthémoglobine, déficit en 2,3 BPG) d'une pathologie pulmonaire ou cardiaque cyanogène. Finalement, lorsqu'aucune anomalie n'est retrouvée, l'existence d'une polyglobulie vraie isolée est appelée érythrocytose pure⁽⁶⁾. Il faut noter que la classification OMS 2008 ne prend plus directement en compte certains critères mineurs de la classification OMS 2001 (caryotype, splénomégalie, thrombocytose, hyperleucocytose). Or la présence d'un caryotype anormal ou d'une splénomégalie reste un argument majeur en faveur d'une hémopathie qu'il ne permet pas cependant toujours de classer.

Diagnostic d'une thrombocytemie essentielle

Il se pose devant une thrombocytose chronique, définie par un chiffre de plaquettes supérieur à 400 G/L et vérifié à quelques semaines d'intervalle, sans étiologie évidente (principalement syndrome inflammatoire chronique, carence martiale et splénectomie). En l'absence de signe clinique ou biologique accompagnateur évocateur de SMP comme une hyperleucocytose avec ou sans myélémie ou une splénomégalie, ou de complication vasculaire, les explorations hématologiques ne seront en pratique débutées qu'au delà de 450 G/L. Le diagnostic de TE reste un diagnostic d'élimination, que JAK2 soit muté ou non (tableau 1). En effet, quand la recherche de mutation JAK2^{V617F} est positive, le diagnostic de SMP est hautement probable, mais il peut s'agir d'une polyglobulie masquée ou d'une myélofibrose primaire débutante. Selon les séries publiées, 30 à 50 % des cas de TE ne sont pas mutés pour

JAK2. Il peut alors être utile de rechercher une mutation de MPL, retrouvée dans 2 à 5 % des cas⁽⁷⁾.

Diagnostic de myélofibrose

Dans la myélofibrose primaire, les anomalies initiales de l'hémogramme sont variables. L'anémie est fréquente, mais il existe des formes hyperleucocytaires ou leucopéniques. Les plaquettes peuvent être élevées, normales ou diminuées. L'élément le plus caractéristique de l'hémogramme est la présence d'une érythromylémie associée à des déformations des globules rouges, les dacryocytes ou hématies en larmes. L'examen de référence est la biopsie ostéomédullaire. La moitié seulement des cas de myélofibrose primaire sont mutés JAK2V617F. Les mutations de MPL sont retrouvées dans 10 % des MFPV617F négatives, mais aussi dans environ 5 % des TE. Le diagnostic des formes débutantes ou préfibrotiques peut être difficile. Le caryotype n'est pas utile au diagnostic mais à l'évaluation pronostique de la MFP.

Conclusion

Devant un hémogramme suspect de SMP, la recherche de mutation JAK2V617F est l'examen clé. Lorsque JAK2V617F est positif, le diagnostic d'hémopathie maligne myéloïde chronique est certain, il reste ensuite à classer l'hémopathie. Si JAK2V617F est négatif, la question est d'abord celle de l'existence ou pas d'une hémopathie, et le bilan recherchera selon la présentation initiale à la fois une cause secondaire et l'ensemble des critères de SMP.

■ Références

1. James C, Ugo V, Le Couedic JP, et al. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera. *Nature*. 2005; 434 :1144-1148.
2. Tefferi A and Vardiman JW. Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasms: The 2008 World Health Organization criteria and point-of-care diagnostic algorithms. *Leukemia*. 2008; 22(1): 14-22.
3. Cassinat B, Laguille C, Gardin C, de Beco V, Burcheri S, Fenaux P, et al. Classification of myeloproliferative disorders in the JAK2 era: is there a role for red cell mass? *Leukemia*. 2008; 22(2): 452-3.
4. Girodon F, Lippert E, Mossuz P, Dobo I, Boiret-Dupre N, Lesesve JF, Hermouet S, Praloran V. JAK2V617F detection and dosage of serum erythropoietin: first steps of the diagnostic work-up for patients consulting for elevated hematocrit. *Haematologica*. 2007; 92 (3): 431-2.
5. Scott LM, Tong W, Levine RL, Scott MA, Beer PA, Stratton MR, et al. JAK2 exon 12 mutations in polycythemia vera and idiopathic erythrocytosis. *N Engl J Med*. 2007; 356(5): 459-68.
6. Vainchenker W, Delhommeau F, Constantinescu SN, Bernard OA. New mutations and pathogenesis of myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 2011; 118(7): 1723-35.
7. Patnaik MM, Tefferi A. The complete evaluation of erythrocytosis: congenital and acquired. *Leukemia*. 2009; 23(5): 834-44.
8. Pardanani AD, Levine RL, Lasho T, Pikman Y, Mesa RA, Wadleigh M, et al. MPL515 mutations in myeloproliferative and other myeloid disorders: a study of 1182 patients. *Blood*. 2006; 108(10): 3472-6.

Figure 1 : Stratégie diagnostique actuelle devant une polyglobulie JAK2V617F négative

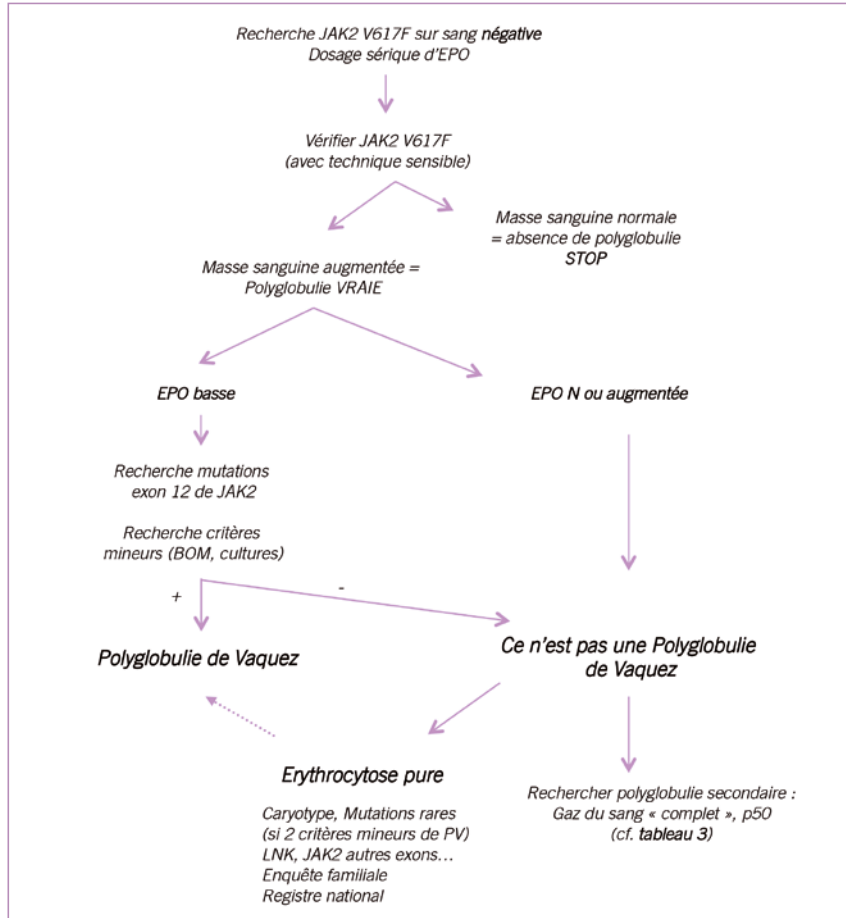


Figure 2 : Exploration d'une thrombocytose chronique
*La réalisation d'une masse sanguine est utile devant une thrombocytose associée à une valeur d'Hb ou d'Ht à la limite supérieure de la normale pour distinguer TE et PV (risque thrombotique plus élevé et pronostic global moins bon dans la PV que dans la TE)

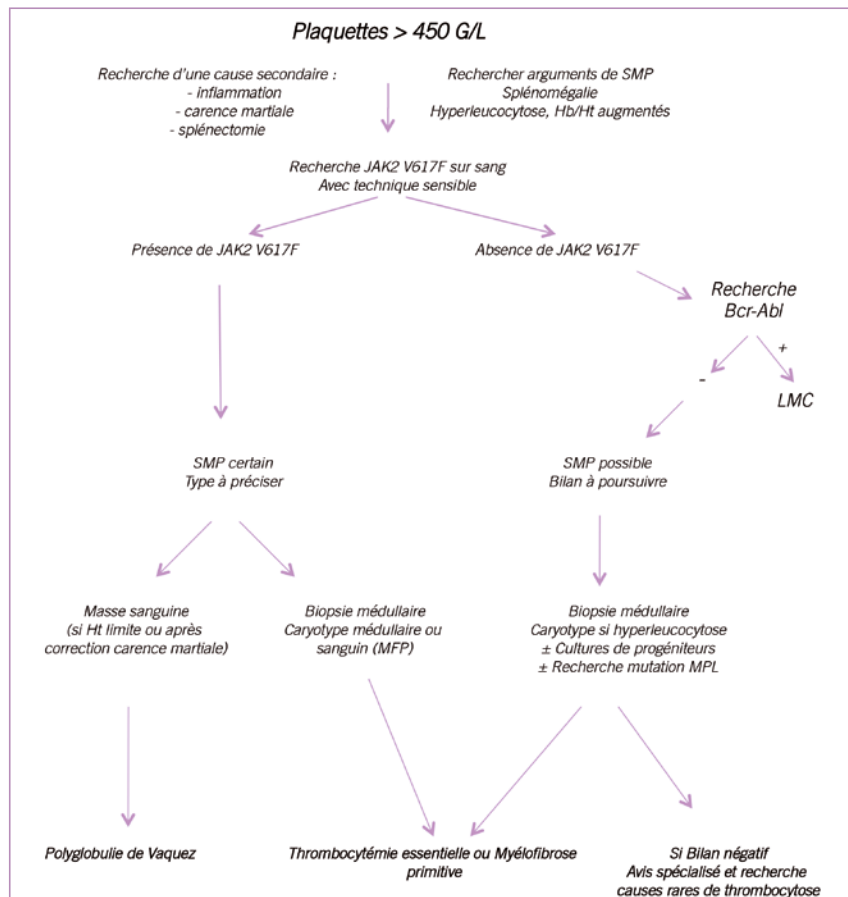


Tableau 3 : Hémogrammes typiques des SMPs non LMC

| | TE | PV | MFP |
|-----------------------------|-----------------|----------------------|---|
| GB (G/L) | N ou peu ↗ | N ou peu ↗ | N ou ↗ (< 50 G/L) |
| Hb g/dL | N | ↗ | ↘ |
| Ht (%) | N | ↗ | ↘ |
| Plaq (G/L) | ↗ | N ou ↗ | ↘, N ou ↗ |
| Formule leucocytaire | N | N, myélémie possible | Myélémie, érythroblastes, blastes < 5 % |
| Morphologie | Macroplaquettes | Macroplaquettes | Dacryocytes, macroplaquettes |

Tableau 2 : Causes de polyglobulie à taux d'EPO élevé

| Affections associées à une hypoxémie (pO ₂ artérielle diminuée) | Affections à pO ₂ normale associées à une hypoxie tissulaire | Affections avec oxygénation normale des tissus | Erythrocytose avec mutation <i>PHD2</i> , <i>HIF1A</i> |
|---|---|--|--|
| Exposition à la haute altitude | Exposition au monoxyde de carbone (HbCO-carboxyhémoglobine) | Production d'érythropoïétine par une tumeur (rein, foie, fibrome utérin) | |
| Maladies pulmonaires | Hémoglobines variantes de haute affinité pour l'oxygène | Maladies du rein (polykystose rénale et syndrome de Bartter) | |
| Hypoventilation alvéolaire (apnée du sommeil, maladie du système nerveux central) | Méthémoglobinémie | Intoxication par le cobalt | |
| Maladie cardiovasculaire avec shunt gauche-droit (cardiopathie congénitale cyanogène) | Déficit en 2, 3-diphosphoglycéromutase | Polyglobulie de type Chuvash (mutation gène VHL- von Hippel Lindau) | |

Quantification de JAK2V617F

La quantification du taux de JAK2V617F à la phase initiale ou au cours du traitement pourrait avoir une valeur diagnostique et pronostique mais des études prospectives sont encore nécessaires pour le confirmer. Cet examen pourrait devenir utile à l'ère des thérapies ciblées pour suivre la diminution du clone malin. Il est important de rappeler que la présence de la mutation JAK2^{V617F} ne permet pas de distinguer entre thrombocythémie essentielle, polyglobulie de Vaquez et myélofibrose primaire. Le taux d'allèle muté est un reflet partiel du phénotype clinique observé mais il ne peut être recommandé en pratique quotidienne.

Culture de progéniteurs érythroblastiques

À partir d'une aspiration de moelle, un nombre déterminé de cellules mononucléées contenant les progéniteurs sont mises en culture soit avec érythropoïétine (EPO) soit sans EPO. Au bout de 8 à 15 jours on observe la présence ou non de colonies (CFU-E ; BFU-E) et celles-ci sont dénombrées.

La présence de colonies dans la culture sans EPO est pathologique et constitue un argument fort en faveur d'un SMP. On appelle ces colonies « spontanées » ou endogènes (« *endogenous erythroid colonies* » ou EEC en anglais).

La protéine JAK2V617F présente une activation constitutive en étant en permanence phosphorylée. Ceci se traduit *in vitro* par l'obtention de ces colonies érythroblastiques spontanées. Des colonies spontanées ont été également observées dans des cas de polyglobulie sans mutation JAK2V617F, suggérant l'existence de mutations fonctionnellement équivalentes

Diagnostic différentiel et pièges diagnostiques

Devant un hémogramme suspect de SMP, le diagnostic différentiel se pose différemment selon le résultat de la recherche de mutation JAK2V617F. Lorsque JAK2V617F est positif, le diagnostic d'hémopathie maligne myéloïde chronique est certain, mais il peut, parfois, s'agir d'un syndrome myéloprolifératif atypique, d'une myélodysplasie ou d'un syndrome mixte myélodysplasique/ myéloprolifératif.

Si JAK2V617F est négatif, la question est d'abord celle de l'existence ou pas d'une hémopathie, et le bilan recherchera selon la présentation une cause secondaire de polyglobulie, de thrombocytose, ou d'hyperleucocytose.

Devant une polynucléose avec ou sans myélémie, ou même une thrombocytose isolée, la recherche de BCR-ABL ou d'une translocation t(9;22) est obligatoire pour ne pas passer à côté d'une LMC. À noter qu'il a été rapporté d'exceptionnels cas doubles mutés BCR-ABL et JAK2V617F. Pour la suite de la démarche, le caryotype et la biopsie ostéoméduillaire sont donc les examens clés. Certaines situations cliniques peuvent masquer une polyglobulie vraie : une carence martiale favorisée par un saignement chronique entraîne une normalisation du taux d'Hb, la NFS évoque alors une TE voire une MFP (poikilocytose due à la carence martiale) mais il existe une microcytose et une hypochromie évocatrices qui feront pratiquer un bilan martial. La correction de la carence martiale démasque alors la polyglobulie.

Une myélofibrose peut avoir une origine infectieuse, auto-immune, inflammatoire, métastatique (etc.) ou se voir dans d'autres hémopathies malignes (leucémie à tricholeucocytes, lymphome, myélodysplasie).

Figure 4 : Charge mutationnelle (% JAK2V617F/ JAK2 total) et phénotype habituellement observé

« > , = » indique la fréquence relative en fonction de la charge mutationnelle
« (TE) » indique la rareté des cas de TE homozygote pour JAK2V617F

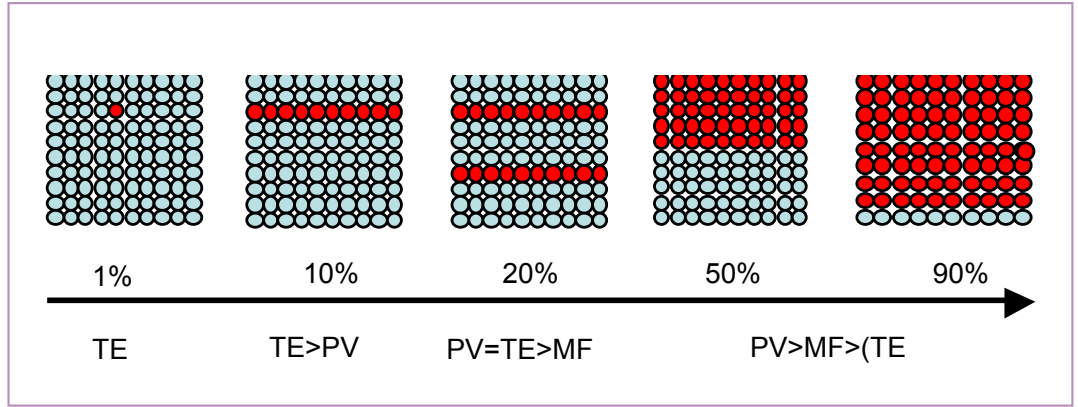


Figure 5 : Colonies érythroblastiques après coloration spécifique à la benzidine

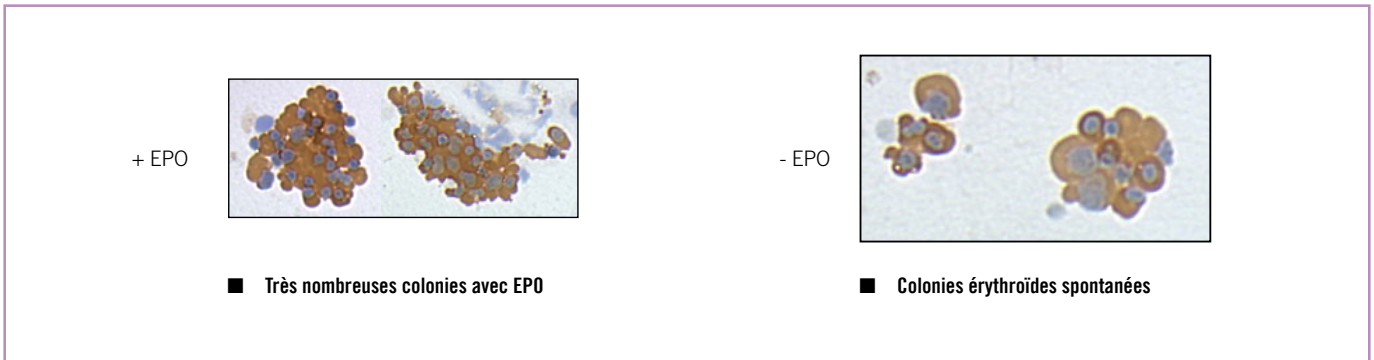


Figure 3 :

A Polyglobulie de Vaquez. Hyperplasie des trois lignées hématopoïétiques. Persistance de quelques adipocytes. (HE x 200)

B Thrombocytémie essentielle. Grand mégacaryocyte, non hyperchromatique, à noyau hyperlobé. (HE x 1000)

C Myélofibrose de grade 1. Réseau réticulinique peu dense. (Coloration de Gordon Sweet x 200)

D Myélofibrose de grade 3. Réseau réticulinique dense. (Coloration de Gordon Sweet x 200)

Iconographie :
Dr. Aude ALINE-FARDIN,
hôpital St-Antoine

