

SOMMAIRE

	Pages
INTRODUCTION.....	1
PREMIERE PARTIE : CONSIDERATIONS THEORIQUES.....	2
I. Le sang	2
I.1. Les éléments figurés du sang	2
1. L'hématie	2
2. Les leucocytes	2
3. Les thrombocytes	2
I.2. Le plasma	4
II. L'Hématopoïèse et le microenvironnement hématopoïétique	5
II.1. Généralités	5
II.2. Cellules hématopoïétiques	5
II.3. Régulation de l'hématopoïèse	6
1- Les facteurs de croissance	7
2- Le microenvironnement médullaire	8
III. L'Erythropoïèse	9
III.1. Régulation de l'érythropoïèse	11
1. Cytokines régulant positivement l'érythropoïèse	11
2. Régulation positive de l'érythropoïèse	12
3. Régulation négative de l'érythropoïèse.....	14
4. Rôle des caspases dans la maturation terminale.....	16
5. Mécanismes de résistance à l'apoptose des érythroblastes	17
IV. Les Polyglobulies	18
IV.1. Définition de l'OMS	18
IV.2. Epidémiologie	18
IV.3. Pathogénie	18
1. Polyglobulie secondaire	18
- par hypoxémie tissulaire.....	19
- par sécrétion inappropriée d'érythropoïétine	20
2. Polyglobulie primitive	20

- Polyglobulie physiologique du nouveau-né	20
- Maladie de Vaquez	21
- Polyglobulie primaire familiale et congénitale (PFCP)	23 19
3. Erythrose pure ou idiopathique.....	23
IV.4. Circonstances de découverte	23
IV.5. Critère de diagnostic	24
IV.6. Orientation étiologique.....	27
IV.7. Diagnostic différentiel	29
IV.8. Traitement	29
1. Polyglobulies secondaires.....	29
2. Maladie de vaquez	30
IV.9. Evolution et pronostic.....	31
DEUXIEME PARTIE : DESCRIPTION DES CAS DE POLYGLOBULIE	33
TROISIEME PARTIE : COMMENTAIRES ET DISCUSSION	46
SUGGESTIONS ET PERSPECTIVES	56
CONCLUSION.....	57
ANNEXES.....	64

LISTE DES FIGURES

	Pages
Figure 1 : Schéma récapitulatif de l'hématopoïèse	6
Figure 2 : L'érythropoïèse	10
Figure 3 : Rôle de Jak2 dans la transduction du signal du récepteur de l'érythropoïétine	13
Figure 4 : Mutation V617F de Jak2 et modification conformationnelle	22

LISTE DES TABLEAUX

	Pages
Tableau II : Évolution de l'hémogramme chez le patient BEM	35
Tableau III : Évolution de l'hémogramme chez le patient TOT	37
Tableau IV : Évolution de l'hémogramme chez le patient AND	38
Tableau V : Évolution de l'hémogramme chez le patient ANDR	40
Tableau VI : Évolution de l'hémogramme chez le patient FID	41
Tableau VII : Évolution de l'hémogramme chez le patient RAK	42
Tableau VIII : Évolution de l'hémogramme chez le patient AND	43

ANNEXES

Annexe 1: Classement d'une polyglobulie à partir du volume globulaire

Annexe 2: Aspect macroscopique d'une polyglobulie comparée à du sang normal

Annexe 3 : Diagnostic d'une Polyglobulie

Annexe 4 : Critères révisés de l'OMS pour le PV 2007

Annexe 5 : Critères de la PV selon le PVSG (1996) et l'OMS (2001)

Annexe 6 : Automate pour analyse hématologique (ABX Pentra 80 ®)

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

ADN :	Acide Désoxyribo-nucléique
AKT :	Sérine-thréonine kinase
Bcl-lx:	Basal Cell Lymphoma extra large
BFU-E:	Burst Forming Unit Erythroid
BOM:	Biopsie Ostéomédullaire
CFU-	
GEMM:	Colony Forming Unit Granulocyte / Erythrocyte / Mégacaryocyte / Macrophage
CPE:	Culture de Progéniteurs Erythroïde
CSF :	Colony Stimulating Factors
EEC :	Endogenous Erythroid Colony
EFR :	Epreuve Fonctionnelle Respiratoire
EPO :	Erythropoïétine
GDS :	Gaz du Sang
Hb :	Hémoglobine
HRE:	Hypoxia Responsive Element
Ht:	Hématocrite
HIF:	Hypoxia Inductible Factor
Il:	Interleukine
JAK:	Just Another Kinase 2, Janus kinase 2
JH:	Jak Homolgy domain
LIF:	Leukemia Inhibitory Factor
MGG:	May Grunwald Giemsa
MIP:	Macrophage Inflammatory protein
OMS:	Organisation Mondiale de la Santé
PG:	Polyglobulie
PV:	Polycythemia vera (maladie de Vaquez)
PVSG:	Polycythemia Vera Study Group
SCF:	Stem Cell Factor
TGF:	Transforming Growth Factor

TNF: Tumor necrosis factor
TPO : Thrombopoïétine
VHL : Von Hippel Lindau

Rapport-Gratuit.com

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Le sang humain est composé de trois éléments cellulaires essentiels : les hématies, les leucocytes et les plaquettes. L'érythropoïèse est le processus par lequel l'organisme assure la production des hématies. Des anomalies peuvent survenir au cours de cette production telle que l'anémie, très fréquente, mais également l'augmentation de la masse sanguine, c'est-à-dire une polyglobulie (PG).

La polyglobulie est connue depuis longtemps comme étant une érythrocytose secondaire à une affection cardiaque. C'est en 1960 que le Polycythemia Vera Study Group (PVSG) a cherché à définir clairement la maladie. La réelle définition d'une polyglobulie est l'augmentation de la masse sanguine supérieure à 25% de la masse théorique selon le poids, la taille, et le genre.

Le risque immédiat de la polyglobulie est la survenue de thrombose artérielle ou veineuse menaçant le pronostic vital.

Notre étude a pour objectif de décrire l'aspect clinique, biologique et thérapeutique de cas de polyglobulie observés et suivis à l'unité paraclinique de formation et de recherche en hématologie du CHU/JRA Antananarivo.

Ainsi, la première partie sera consacrée aux considérations théoriques, la deuxième partie décrira les cas observés et la troisième partie traitera les commentaires et discussion.

CONSIDERATIONS THEORIQUES

I. LE SANG

Le sang, liquide hétérogène, est un tissu conjonctif constitué d'un milieu extracellulaire abondant, le plasma, et d'éléments figurés :

- Les hématies ou érythrocytes ou globules rouges
- Les leucocytes ou globules blancs
- Les plaquettes ou thrombocytes

Ces éléments figurés sont issus d'une cellule souche autorenewable, dite totipotente, présente en petite quantité dans la moelle osseuse. Sous l'influence de divers facteurs de croissance, elle prolifère et se différencie pour donner tous les types cellulaires rencontrés dans le sang. Les cellules sanguines sont donc, pour la plupart, des éléments de fin de lignées et donc la morphologie et les fonctions diffèrent :

- les hématies : cellules anucléées chez les mammifères, permettent par leur hémoglobine de transporter le dioxygène des poumons aux tissus
- les leucocytes : cellules nucléées, interviennent dans la réponse immunitaire non spécifique et spécifique
- les plaquettes : petits fragments cellulaires impliqués dans le processus d'hémostase

Ces éléments sont normalement en nombre constant dans le sang : les pertes naturelles (vieillesse cellulaire ou destruction après fonction) ou pathologiques (hémorragie, agression bactérienne) sont compensées rapidement par une production continue et régulée, c'est l'hématopoïèse, définie comme l'ensemble des mécanismes assurant la production continue des diverses cellules sanguines (1).

I.1. Les éléments figurés du sang

1. L'hématie

Cellule anucléée de 7,5 μm de diamètre et de 2 μm d'épaisseur moyenne, l'hématie se présente comme un disque biconcave. Son volume est d'environ 90 μm^3 . La face interne de la membrane plasmique est tapissée d'un squelette protéique très particulier, composé notamment de protéines telles que l'acrine, la spectrine, l'ankirine. Ce réseau, continu, souple et solide, donne à l'hématie sa forme caractéristique mais aussi sa plasticité et sa déformabilité, lui permettant ainsi de

parcourir tout un réseau capillaire extrêmement étroit. Une hématie normale, libérée par la moelle osseuse dans le sang, circule pendant 120 jours.

Au bout de cette phase, par incapacité à renouveler son stock enzymatique et à maintenir l'intégrité de sa membrane, elle présente des altérations membranaires et sera phagocytée par les macrophages tissulaires de la moelle osseuse et de la rate (hémolyse physiologique tissulaire). L'hématie, cellule sans noyau ni organites, peut être comparée à un sac à hémoglobine (Hb), renfermant environ 30pg d'Hb. Elle est à l'état normal, saturée en Hb à 33% environ (2).

2. Les leucocytes

Les leucocytes comportent plusieurs variétés identifiées grâce à leur taille et à des caractères cytologiques mis en évidence sur frottis coloré au MGG.

On distingue :

- Les granulocytes dont le noyau est segmenté ou polylobé qui renferment des granulations différenciées, spécifiques, et présentent des affinités tinctoriales bien définies lors de la coloration MGG. Ils regroupent les neutrophiles, éosinophiles et basophiles.
- Les lymphocytes dont le noyau n'est pas segmenté mais rond ou encoché, le cytoplasme ne présente pas de granulations (petit lymphocyte) ou présente quelques granulations azurophiles (grand lymphocyte).
- Les monocytes, à noyau segmenté, le plus souvent incurvé, contenant de fines granulations azurophiles.

3. Les thrombocytes

Ce sont les plus petits éléments figurés du sang. Ce sont des fragments cellulaires anucléés. Ils sont produits dans la moelle osseuse par fragmentation du cytoplasme granuleux d'une cellule médullaire : le mégacaryocyte. Un mégacaryocyte peut donner naissance à un très grand nombre de thrombocyte (entre 1 000 et 8 000).

I.2. Le plasma

Le plasma est une solution aqueuse renfermant :

- des ions qui règlent en grande partie la pression osmotique, l'équilibre acido-basique et la répartition de l'eau dans l'organisme, des protéines et quelques constituants organiques.
- des protéines qui peuvent être séparées en albumine, α -globulines (α_1 et α_2), β globulines selon leur mobilité électrophorétique.

II. L'HEMATOPOÏÈSE ET LE MICROENVIRONNEMENT HEMATOPOÏËTIQUE

II.1. Généralités

L'hématopoïèse correspond à l'ensemble des mécanismes qui conduisent à la formation de cellules sanguines. Les cellules sanguines sont des cellules, pour la plupart, très différenciées dont la durée de vie est très courte (quelques heures pour les polynucléaires, quelques jours pour les plaquettes et quelques semaines pour les hématies). L'hématopoïèse assure donc une production importante de cellules sanguines, de l'ordre de 10^{13} cellules sanguines par jour. Cette production est assurée par les cellules souches hématopoïétiques et est contrôlée afin de maintenir constant le nombre de cellules sanguines malgré les variations de consommation importantes liées aux processus pathologiques (hémorragies, infection...).

Chez l'homme, l'hématopoïèse fœtale a lieu au niveau du tissu conjonctif embryonnaire jusqu'au deuxième mois de vie, dans le foie fœtal du deuxième au sixième mois et devient médullaire à partir du quatrième mois. Après la naissance, l'hématopoïèse a lieu exclusivement dans la moelle osseuse (1,2).

II.2. Cellules hématopoïétiques

L'hématopoïèse comporte 4 compartiments (figure 1) :

- **les cellules souches pluripotentes** : cellules très primitives ayant un haut pouvoir de prolifération, capables d'auto renouvellement et de différenciation vers toutes les lignées hématopoïétiques.
- **les progéniteurs** : cellules capables de proliférer sans s'autorenouveler et de se différencier. Ces cellules sont déjà engagées vers une seule lignée cellulaire : BFU-E et CFU-E pour la lignée érythroblastique, BFU-Meg et CFU-Meg pour la lignée mégacaryoblastique, CFU-M pour la lignée granulomonocytaire, progéniteurs B et T pour les lymphocytes B et T.
- **les précurseurs** : cellules morphologiquement identifiables, correspondant à des cellules en cours de maturation avant leur passage dans la circulation sanguine.
- **les cellules matures** : cellules fonctionnelles qui circulent dans le sang.

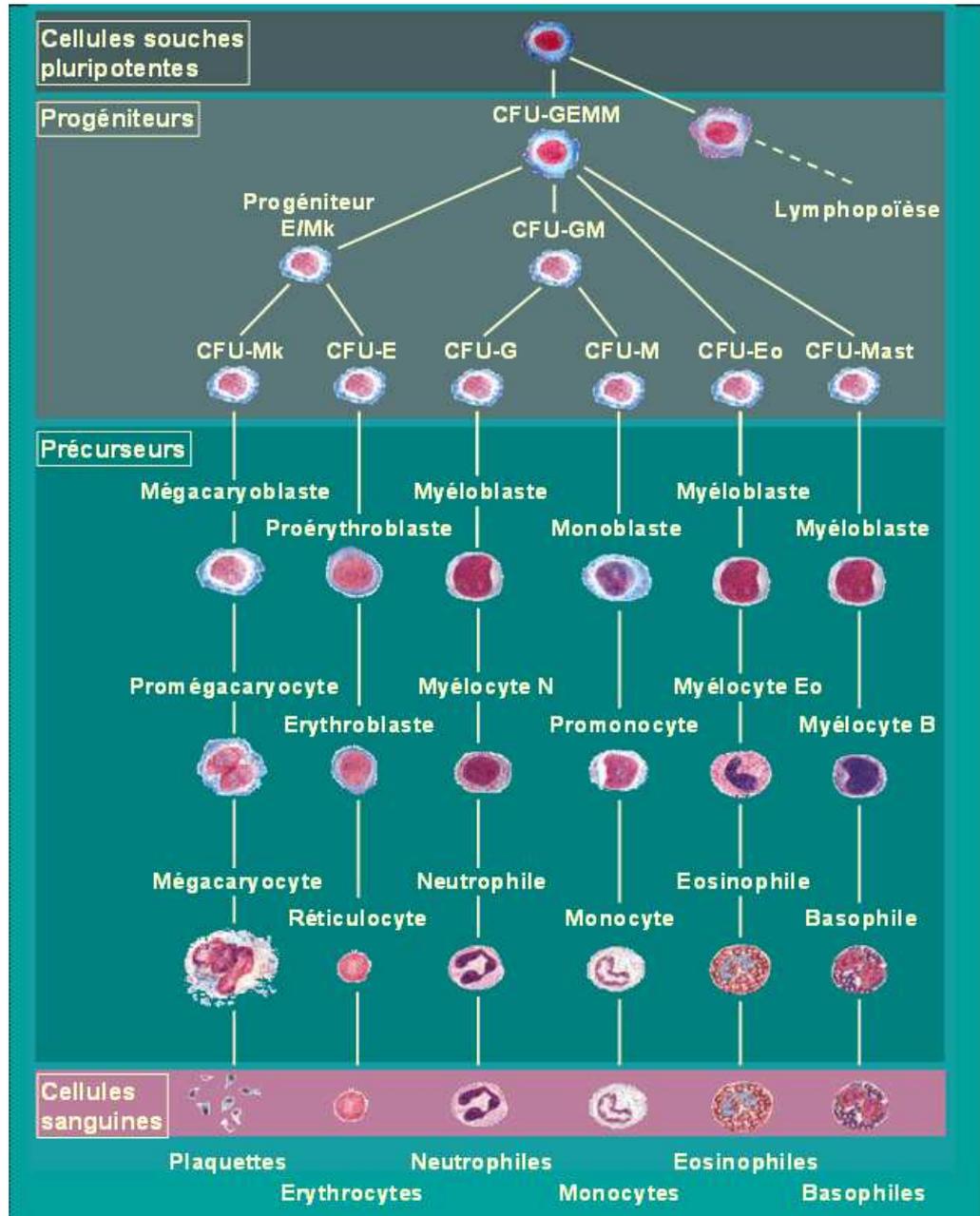


Figure 1: Schéma récapitulatif de l'hématopoïèse

Source : (2)

II.3. Régulation de l'hématopoïèse (2,3)

Les cellules souches de la moelle osseuse font partie des éléments indispensables à une hématopoïèse efficace. Deux éléments jouent également un rôle important dans la régulation de l'hématopoïèse, les facteurs de croissance et le microenvironnement médullaire.

1. Les facteurs de croissance

L'étude des cellules souches par culture de moelle in vitro a montré la nécessité de facteurs de croissance hématopoïétiques pour la survie, la différenciation, la multiplication et la maturation des cellules hématopoïétiques. Actuellement, au moins 30 facteurs de croissance ont été identifiés et leur gène cloné.

Les facteurs de croissance hématopoïétiques sont des glycoprotéines agissant comme des hormones hématopoïétiques. A l'exception de l'érythropoïétine (Epo), elles sont synthétisées par un grand nombre de cellules présentes dans divers organes comme les cellules endothéliales, fibroblastes, monocytes, lymphocytes.

Ils peuvent être divisés en 2 grands groupes principaux :

- les facteurs de régulation positive
- les facteurs de régulation négative
 - Les facteurs de régulation positive

Les facteurs de régulation positive se divisent en deux grands groupes :

-**les CSF** (*Colony Stimulating Factors*) sont capables d'induire la formation des colonies de cellules hématopoïétiques. Parmi les CSF, on trouve l'IL-3 (Interleukine-3), le GM-CSF (Granulocyte Macrophage-Colony Stimulating Factor), le G-CSF (Granulocyte Colony stimulating Factor), le M-CSF (Macrophage Colony Stimulating Factor), l'Epo, la TPO (Thrombopoïétine) et l'IL-5. Certaines de ces molécules agissent sur des progéniteurs précoces et ne sont pas spécifiques d'une lignée donnée (GM-CSF et IL-3). D'autres ont une action restreinte à une lignée donnée et sont nécessaires à l'acquisition des caractères de différenciation spécifiques des cellules matures (Epo et IL-5).

-**Les facteurs synergiques** qui ne sont pas des CSF pour les précurseurs hématopoïétiques mais agissent en synergie avec ceux-ci. Ils seraient indispensables pour mettre en cycle les cellules hématopoïétiques primitives. Parmi les facteurs synergiques, on trouve l'IL-1, l'IL-6, le LIF (Leukemia Inhibitory Factor) et le SCF (Stem Cell Factor).

- Les facteurs de régulation négative

La régulation négative de l'hématopoïèse reste mal connue. Les résultats issus des expériences in vitro doivent être interprétés avec une grande prudence, des

actions très différentes pouvant en effet apparaître en fonction du système de culture utilisé.

Plusieurs facteurs ayant une fonction de régulation négative ont cependant été caractérisés, parmi lesquels le TGF β (Transforming Growth Factor β), le TNF- α , l'AcSDKP (Séraspénide) et le MIP 1 α (Macrophage-Inflammatory Protein 1 α). Ces facteurs de régulation négative inhibent l'entrée en cycle des cellules hématopoïétiques.

2. Le microenvironnement médullaire

Le microenvironnement médullaire ou stroma médullaire est formé de différents types de cellules telles que les fibroblastes, cellules endothéliales, macrophages, cellules épithéliales et adipocytes. Il assure l'organisation générale de la moelle en « niches » hématopoïétiques favorables au maintien des cellules souches et contribue aussi à leur engagement et leur progression dans une lignée.

III. L'ÉRYTHROPOÏÈSE (4)

L'érythropoïèse est le processus qui conduit à la production des globules rouges. L'érythropoïèse primitive s'effectue dans le sac vitellin de l'embryon. Plus tard, une érythropoïèse qui a lieu dans le foie fœtal remplace cette érythropoïèse primitive.

Les érythrocytes de l'homme adulte proviennent d'une cellule souche hématopoïétique. Celle-ci va s'engager dans une voie de différenciation myéloïde, vers un progéniteur multipotent. Ce progéniteur appelé CFU-GEMM va ensuite se différencier vers un progéniteur restreint dans la voie érythroïde appelé BFU-E. Le BFU-E va proliférer à son tour et se différencier par étapes successives en environ trois semaines chez l'homme pour aboutir à la formation de précurseurs érythroblastiques morphologiquement reconnaissables au niveau médullaire (proérythroblastes et érythroblastes) puis de globules rouges matures dans le sang circulant (figure 2).

L'engagement des progéniteurs multipotents vers la voie érythroïde semble s'effectuer grâce à une combinaison d'expression de facteurs de transcription et en particulier du facteur GATA-1 qui permet la régulation positive des promoteurs des gènes érythroïdes comme la glycophorine A (GPA), l'hémoglobine, et le récepteur à l'érythropoïétine. En son absence, la production de globules rouges est impossible. Des expériences effectuées sur des cellules souches embryonnaires invalidées pour le gène de GATA-1 ont montré que, dans les phases précoces, la protéine GATA-1 pouvait être remplacée par d'autres facteurs de transcription de la famille GATA tels que GATA-2a. En revanche, GATA-1 est absolument nécessaire dans les phases tardives de l'érythropoïèse en régulant progressivement l'expression de la protéine anti-apoptotique Bcl-x.L. Les différents progéniteurs érythroïdes ont été définis grâce à leurs caractéristiques de culture en milieux semi solides. Les progéniteurs BFU-E vont donner des colonies érythroïdes contenant plusieurs centaines de milliers d'érythroblastes matures après vingt et un jours de culture chez l'homme. Les CFU-E (pour *Colony-Forming Unit-Erythroid*) qui sont les progéniteurs les plus matures vont donner des colonies d'environ 30 à 60 érythrocytes en moins d'une semaine. Grâce à ces techniques en milieux semi-solides, les caractéristiques immunophénotypiques et les besoins en facteurs de croissance de ces différents

progéniteurs ont pu être déterminés. Les progéniteurs les plus précoces expriment l'antigène CD34 et le récepteur au *stem cell factor* (SCF), c-Kit. A partir du stade BFU-E, le récepteur à l'érythropoïétine commence à être exprimé avec un maximum d'expression au niveau des CFU-E. Les antigènes spécifiques de la lignée érythroïde comme les antigènes des groupes sanguins ou la glycophorine A s'expriment au niveau des CFU-E. D'autres marqueurs non spécifiques comme le récepteur à la transferrine (RTf) fortement exprimé à partir des BFU-E, et l'antigène CD36 (également présent sur les mégacaryocytes et les monocytes matures) permettent d'identifier ces progéniteurs. Deux facteurs de croissance sont indispensables, le SCF pour les phases précoces jusqu'au stade CFU-E, et l'érythropoïétine (EPO) à partir des BFU-E tardifs jusqu'au stade des érythroblastes (4).

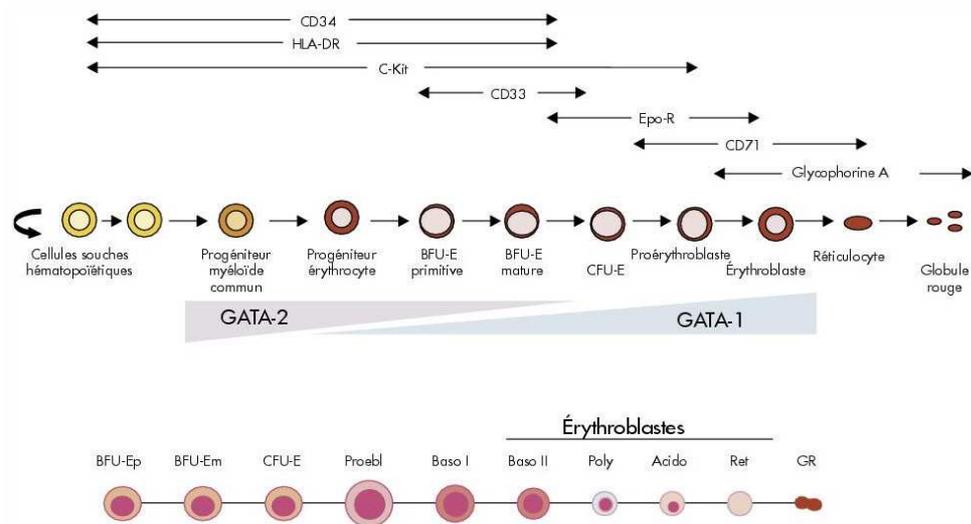


Figure 2: L'érythropoïèse

Source : (4)

Proebl : proérythroblaste; *Baso* : érythroblaste basophile; *Poly* : érythroblaste polychromatophile; *Acido* : érythroblaste acidophile; *Ret* : réticulocyte; *GR* : globule rouge.

III.1. Régulation de l'érythropoïèse (5)

Le système hématopoïétique assure la production continue de cellules afin de renouveler les éléments sanguins matures. L'homéostasie des cellules érythroïdes est contrôlée par l'action conjuguée de facteurs de croissance, l'activation de différentes voies de signalisation et des signaux négatifs. Cet ensemble de phénomènes régule la survie, l'expansion et la maturation des progéniteurs et des précurseurs érythroïdes.

1. Cytokines régulant positivement l'érythropoïèse

- Le Stem Cell factor (SCF)

Le SCF est fabriqué par les cellules stromales de la moelle osseuse. Il existe sous une forme soluble et une forme transmembranaire qui semble prédominer pour la régulation de l'érythropoïèse puisque les souris n'exprimant que la forme soluble sont anémiques. Le SCF agit sur son récepteur c-Kit qui est un récepteur à activité tyrosine kinase et va induire des signaux de survie et de prolifération pour les progéniteurs érythroïdes. En ralentissant la différenciation, il permet une expansion des progéniteurs les plus immatures ayant les potentiels prolifératifs les plus importants. Il agit en synergie avec d'autres facteurs pour la prolifération, notamment avec le GM-CSF et l'interleukine (IL)-3. Il pourrait également augmenter la sensibilité des CFU-E à l'Epo. L'activation de la PI3-kinase par c-Kit est sans doute une des voies principales responsable de la prolifération et la survie des érythroblastes par l'intermédiaire de la phosphorylation de la protéine AKT. Actuellement, il n'y a aucun argument démontrant l'existence d'une régulation de la production de SCF en fonction de l'hypoxie tissulaire ou à l'inverse en fonction de l'hyperproduction de globules rouges. Son expression semble constitutive.

- L'érythropoïétine (EPO) (4,5)

L'EPO est le facteur régulateur principal de l'érythropoïèse. Celle-ci est produite essentiellement par le rein et va agir au niveau de la moelle osseuse pour stimuler la production des globules rouges. Cette production va apporter de l'oxygène dans les cellules rénales qui vont alors diminuer leur synthèse d'EPO ce qui, en retour, aura pour conséquence une diminution de la production de globules rouges. Il existe à ce niveau une véritable régulation endocrine, le rein étant la «glande» productrice et la moelle osseuse l'organe cible. Physiologiquement, on a pu retrouver une parfaite corrélation entre le taux d'hémoglobine et le taux d'EPO. Pour un taux

d'hémoglobine normal aux alentours de 12 g/dl, le taux d'EPO circulante est d'environ 20 unités/l. Ce dernier va augmenter en fonction de la baisse du taux d'hémoglobine pour atteindre environ 200 unités/l lorsque l'hémoglobine atteint 7 g/dl. Cette production est altérée de façon significative au cours de nombreuses pathologies à l'origine d'une anémie. L'Epo peut également être produite en moindre mesure dans le foie par les hépatocytes et cellules d'Ito.

L'érythropoïèse est finement régulée de façon à ce que le nombre de globules rouges produits soit en adéquation avec les besoins en oxygène des tissus périphériques.

L'étude de la régulation de l'EPO par la teneur en oxygène a conduit à l'identification du facteur de transcription HIF. HIF est un dimère constitué de deux sous unités a et b. La sous-unité a est régulée par l'hypoxie : en normoxie, HIF-a se lie à la protéine VHL et est rapidement dégradée après ubiquitination par le protéasome ; en hypoxie, HIF-a est stabilisé et peut alors se lier à la sous unité b et d'autres protéines comme p300 pour se fixer sur les HRE présents dans le promoteur de ses gènes cibles. L'érythropoïèse est aussi régulée positivement (système rénine angiotensine, IL-3, IL-6) ou négativement (Transforming Growth Factor (TGF)-b, caspases) par d'autres facteurs.

2. Régulation positive de l'érythropoïèse (5,6)

Le récepteur de l'Epo est présent à la surface des BFU-E et des CFU-E sous la forme d'homodimères. La fixation de l'Epo induit un changement de conformation du récepteur et l'activation de la tyrosine kinase JAK2 qui est pré-associée au domaine cytoplasmique du récepteur, dans sa région juxta-membranaire. JAK2 en association avec d'autres kinases telles que Lck, Lyn, Btk et/ou c-Kit va moduler la phosphorylation des 8 résidus tyrosines cytoplasmiques du récepteur, situés dans sa partie distale. Ces tyrosines phosphorylées vont recruter des effecteurs à domaines SH2 : STAT5, Cis-1, SHIP-1, Shp2, SOCS-3, Shp1, Grb2, CrkL, Lyn et la sous-unité p85 de la PI-3 kinase. Il semble bien établi que les voies activées par le récepteur de l'Epo permettent la prolifération et la survie des cellules par l'intermédiaire des voies JAK2- STAT5, PI-3 kinase et probablement MAP kinases.

a. La voie JAK-STAT

L'EPO stimule la phosphorylation de JAK2 dont la fonction est indispensable à l'activation des voies de signalisation en aval du récepteur (figure 3). Bien que JAK2 soit capable d'activer STAT1 et STAT3 lors de l'érythropoïèse de stress, les cibles majeures de JAK2 recrutées par le récepteur sont les protéines STAT5A et STAT5B. Après phosphorylation, ces protéines vont s'hétérodimériser puis migrer dans le noyau pour augmenter l'expression de certains gènes. STAT5 joue un rôle important dans le maintien de l'érythropoïèse fœtale et lors de la réponse au stress. Il n'y a pas encore de gène de différenciation érythroïde spécifiquement induit par STAT5. Cependant, STAT5 agit en synergie avec GATA1 pour augmenter l'expression de Bcl-xL, permettant la survie cellulaire.

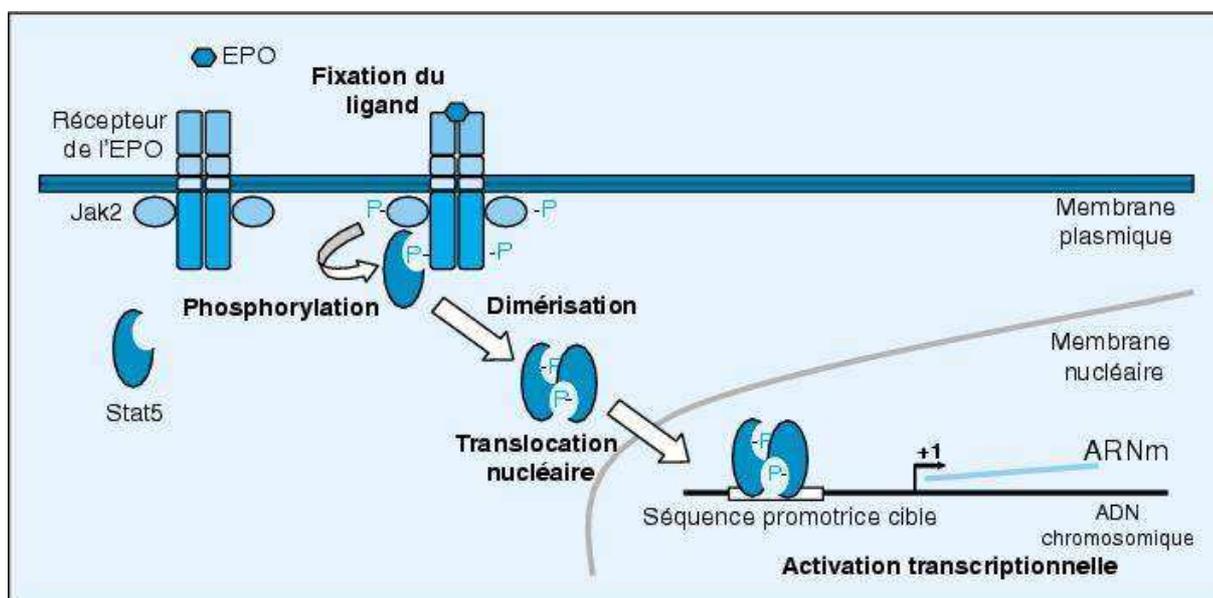


Figure 3 : Rôle de Jak2 dans la transduction du signal du récepteur de l'érythropoïétine

Source : (6)

b. La voie PI-3 kinase

L'Epo active la voie PI-3 kinase directement en recrutant sa sous-unité régulatrice p85 ou indirectement par interaction avec Cbl, Gab1, Gab2 ou IRS-2. La sérine/thréonine kinase AKT est activée en aval de la PI-3 kinase par l'intermédiaire d'un second messenger, PIP3 qui nécessite l'activité de la protéine kinase C (PKC). Parmi les substrats d'AKT, le facteur de transcription FOXO3a a une fonction importante dans la régulation de la différenciation puisque les souris *-/-* sont anémiques. Ce facteur de transcription régule entre autres BTG1 et p27 Kip1. D'autres substrats d'AKT comme BAD, GSK3 ou la survivine jouent également un rôle important dans la régulation de la survie cellulaire.

c. La voie MAP kinase

Après stimulation par l'Epo, la voie Ras est activée soit directement par l'intermédiaire de la protéine adaptatrice Grb2, soit indirectement, via SHC ou la tyrosine phosphatase SHP2. Ceci entraîne le recrutement et l'activation de SOS, puis l'activation de Raf-1 et finalement des MAP kinases, aboutissant à l'induction de l'expression de gènes précoces tels que c-fos, c-myc et c-jun.

Plusieurs MAP kinases sont activées par l'EPO. Les kinases Erk1/2 participent à la prolifération lors de la phase précoce de l'érythropoïèse et seraient au contraire réprimées pendant la maturation terminale. Les kinases JNK et p38 ont été décrites à l'origine comme des voies de réponse au stress.

Dans les érythroblastes primaires, 2 isoformes de JNK sont activées par l'Epo mais leur rôle n'est pas clairement défini. Dans plusieurs lignées cellulaires, une induction de la prolifération ou de la survie dépendante de JNK1 ou JNK2 a été mise en évidence. Cependant, une déficience en JNK2 dans des érythroïdes primaires semble au contraire accroître le potentiel prolifératif. Ainsi, le rôle et la régulation par l'Epo des kinases de la famille JNK et de p38 sont plus controversés (6).

3. Régulation négative de l'érythropoïèse (6,7)

a. Régulation négative au niveau moléculaire

La phosphorylation du récepteur de l'EPO est transitoire et revient à un état basal en environ 30 minutes. L'EPO-R est en effet rapidement déphosphorylé par plusieurs systèmes impliquant des phosphatases et les protéines SOCS qui jouent un rôle dans la dégradation de leurs substrats par la voie de l'ubiquitine. Parmi les phosphatases, on peut citer les phosphatases d'inositols tels que SHIP-1 ou SHIP-2 et la tyrosine phosphatase SHP-1 qui semblent jouer un rôle essentiel en se fixant directement au récepteur. Récemment, le rôle dans la régulation négative de l'érythropoïèse de deux kinases DIRK3 et DAPK2 a pu être mis en évidence. L'inactivation du gène DIRK3 accroît de façon importante la production de réticulocytes et protège de l'anémie. Enfin, la kinase DAPK2 est exprimée plus tardivement au cours de la maturation et pourrait exercer une fonction pro-apoptotique sur les érythroblastes.

b. Régulation négative au niveau cellulaire (8)

Pour éviter une trop forte production de globules rouges, l'érythropoïèse est régulée de façon négative. Cette régulation s'effectue essentiellement par le taux d'Epo circulante, mais également par un mécanisme paracrine faisant jouer les récepteurs de mort tels que Fas.

Fas-L en agissant sur son récepteur Fas induit le recrutement de la caspase-8 qui en retour active la caspase-3 pour induire le clivage d'un certain nombre de cibles conduisant à l'apoptose. En même temps, l'activation de la caspase-8 clive et active Bid, ce qui permet la dépoliarisation de la membrane mitochondriale. Il y a alors libération de cytochrome c dans le cytoplasme, ce qui aboutit à la formation de l'apoptosome et l'activation en cascade de la caspase-9 puis de la caspase-3 conduisant également à l'apoptose par la voie mitochondriale. Cette deuxième voie peut être inhibée par des taux élevés de Bcl-xL qui empêchent la dépoliarisation de la mitochondrie. Au niveau de l'érythropoïèse, la protéine GATA-1 est une des cibles de la caspase-3.

Son clivage va induire un arrêt de l'expression des gènes nécessaires à la maturation et ainsi un blocage de la différenciation. En parallèle, le clivage de GATA-1 va conduire à une diminution de l'expression du gène Bcl-xL.

Les érythroblastes en fin de différenciation (polychromatophiles ou acidophiles) expriment le ligand de Fas. Un modèle propose qu'au sein des îlots érythroblastiques de la moelle osseuse ces érythroblastes matures pourraient interagir directement avec les progéniteurs et les précurseurs plus précoces qui expriment le récepteur Fas pour induire l'arrêt de la maturation et l'apoptose. Ainsi, le taux d'érythroblastes matures dans la moelle pourrait contrôler rétroactivement l'érythropoïèse en induisant l'apoptose des précurseurs érythroblastiques. Dans ce modèle faisant intervenir Fas-Fas-L, l'Epo pourrait agir en bloquant les effets apoptotiques de Fas-L. En effet, en augmentant les taux de Bcl-xL, elle permettrait de bloquer la dépolarisation de la mitochondrie induite par Bid. Dans ce modèle, il faut donc considérer que l'activation de la caspase-3 qui suit l'activation de Fas passe essentiellement par la voie mitochondriale. Les caspases sont donc les enzymes clés de la régulation négative de l'érythropoïèse.

4. Rôle des caspases dans la maturation terminale (8, 9)

Les caspases sont activées au cours de l'érythropoïèse normale et cette activation est en relation avec les changements morphologiques observés au cours de la maturation terminale. Nous avons pu mettre en évidence une activation transitoire de la caspase-3 qui s'effectue au moment où les changements morphologiques des érythroblastes apparaissent. Cette activation se fait par la voie mitochondriale avec dépolarisation de sa membrane et activation de la caspase-9. Malgré l'activation des caspases exécutrices, les cellules n'entrent pas en apoptose. En effet, elles n'expriment pas de phosphatidylsérines à leur membrane et leur ADN n'est pas clivé.

L'ajout d'un inhibiteur des caspases comme le z-VAD à la culture érythroïde juste avant la phase d'activation des caspases entraîne un blocage de la différenciation érythroïde au stade basophile.

Cette observation a été confirmée et approfondie par l'inhibition spécifique de l'expression de la caspase 3 par ARN interférence (siRNA) montrant ainsi son rôle essentiel dans la différenciation érythroïde. Ces données ont également été confirmées dans les érythroblastes murins. Dans ce modèle, il a été montré que l'hyper-expression de Raf-1, qui prévient l'activation des caspases, empêche la

maturation érythroïde en inhibant la différenciation induite par les caspases (Kolbus et al. 2002). Un phénomène opposé est observé chez les souris *Raf1*^{-/-}.

Ainsi, le destin (apoptose versus différenciation) des précurseurs érythroïdes est décidé en aval de l'activation de la caspase-3.

5. Mécanismes de résistance à l'apoptose des érythroblastes (9,10)

Les modèles de différenciation qui nécessitent l'intervention des caspases posent le problème des mécanismes responsables de l'absence d'apoptose. Dans la plupart des systèmes, le taux d'activation des caspases et leur localisation ne semblent pas significativement différents entre apoptose et différenciation et ne peuvent donc pas expliquer le clivage préférentiel de certaines cibles.

Dans certains modèles comme celui de la différenciation des mégacaryocytes, l'activation des caspases pourrait avoir lieu dans des compartiments subcellulaires spécifiques. Les mécanismes qui sous-tendent à ces différences de localisation ne sont pas connus actuellement. Dans d'autres modèles comme celui de la spermatogénèse des drosophiles, des inhibiteurs des caspases comme les IAP pourraient se localiser dans différents compartiments pour bloquer de façon sélective l'activation des caspases et protéger certaines cibles.

Au cours de l'érythropoïèse, Bcl-xL est la principale protéine anti-apoptotique dont la fonction est d'inhiber l'ouverture des pores mitochondriaux et ainsi la libération vers le cytosol de molécules proapoptotiques (cytochrome c, Smac/DIABLO). Son rôle se situe en amont de l'activation des caspases et ne peut pas expliquer la différence de protection spécifique de certains substrats entre les érythroblastes cultivés en Epo et ceux dont l'apoptose est induite par privation d'Epo. Il existe donc d'autres mécanismes faisant intervenir des molécules anti-apoptotiques qui pourraient, en fonction de leur localisation, agir sur une cible pour empêcher son clivage par les caspases.

IV- LES POLYGLOBULIES (11)

IV.1 Définition de l'OMS

La polyglobulie (PG) doit être évoquée devant une hémoglobine: $\geq 18,5$ g/dl chez l'homme, $\geq 16,5$ g/dl chez la femme après 15 ans, ≥ 13 g/dl chez l'enfant (6 mois-6 ans), ≥ 15 g/dl chez l'enfant (6 ans-12 à 15 ans). Un hémocrite: $> 0,51$ chez l'homme, $> 0,47$ chez la femme. La PG est définie par l'augmentation de la masse sanguine $> 25\%$ de la masse théorique selon le poids, la taille, et le genre.

Cette masse sanguine permet d'éliminer les fausses PG.

IV.2 Epidémiologie

La polyglobulie n'est pas une maladie rare, mais, dans les maladies hématologiques chroniques, vient après la leucémie lymphoïde chronique et le myélome.

Le diagnostic de polyglobulie peut être envisagé à tout âge mais l'âge moyen de découverte est après 40 ans, seulement 6.5% des cas sont observés avant cet âge.

Concernant la maladie de Vaquez proprement dite, elle est exceptionnelle avant l'âge de 20 ans. L'âge moyen de début est de 60 ans. Il existe une prédominance masculine faible (sex-ratio 1,2/1). Son incidence est plus élevée chez les Caucasiens que chez les Asiatiques ou africains.

IV.3 Pathogénie (11,12)

Les polyglobulies vraies comprennent :

- les polyglobulies secondaires
- la polyglobulie primitive
- l'érythroïdisme pure ou idiopathique

1. Polyglobulie secondaire

Elles représentent le diagnostic différentiel principal de la maladie de Vaquez. Dans les polyglobulies secondaires, la polyglobulie est réactionnelle à une autre pathologie. Elles résultent soit d'une sécrétion inappropriée d'érythropoïétine soit d'une hypoxémie tissulaire entraînant une hypersécrétion d'érythropoïétine.

a. Polyglobulie par hypoxémie tissulaire (12,13)

Elles ont en commun l'absence de splénomégalie et la normalité des autres lignées hématologiques.

L'Epo sérique est habituellement augmentée mais un taux normal d'Epo n'exclut cependant pas le diagnostic de polyglobulie par hypoxémie en raison de la très grande dispersion des valeurs normales (rapport de 1 à 6 entre la limite inférieure et la limite supérieure de la norme).

Les principales causes sont :

- Les séjours prolongés en altitude (en général > à 2500 m). L'organisme s'adapte à la baisse de la pression partielle en oxygène par :

- une augmentation du débit cardiaque
- une augmentation du 2,3-DPG (2,3-diphosphoglycérate) intraérythrocytaire qui déplace la courbe de dissociation de l'hémoglobine vers la droite favorisant la délivrance de l'oxygène aux tissus

- une augmentation de la production d'Epo qui sera la cause de l'augmentation de la masse globulaire

- Les maladies pulmonaires responsables d'une hypoxémie chronique

- insuffisance respiratoire chronique
- syndrome de Pickwick qui associe obésité, somnolence, cyanose et hypercapnie. La gazométrie artérielle confirme l'hypoxémie et permet de rattacher la polyglobulie à la maladie respiratoire.

- Les intoxications oxycarbonées chroniques par tabagisme (>2 paquets par jour) ou exposition chronique professionnelle (gaz d'échappement) ou à domicile (mauvaise combustion et insuffisance d'aération). Un taux de carboxyhémoglobine >5% permettra de retenir cette hypothèse.

- Les cardiopathies congénitales avec shunt droite-gauche aboutissant à une désaturation artérielle. La polyglobulie disparaîtra après intervention chirurgicale.

- les hémoglobines anormales hyperaffines : l'affinité pour l'oxygène est augmentée et il en résulte donc une moindre délivrance tissulaire de l'oxygène transporté par l'hémoglobine. Plus de soixante mutations différentes responsables d'une polyglobulie sont connues. Dans la majorité des cas, la transmission s'effectue sur le mode autosomique dominant : une mutation hétérozygote est suffisante pour l'expression de la polyglobulie.

- Les déficits familiaux en 2,3 DPG entraînant une augmentation de l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène.

b. Polyglobulie par sécrétion inappropriée d'Erythropoïétine

La polyglobulie peut être secondaire à des maladies rénales ou hépatiques. La polyglobulie accompagne ces pathologies avec une fréquence variable mais en général faible. Néanmoins il est indispensable d'éliminer une telle cause secondaire dans tout bilan de polyglobulie vraie par une échographie abdominale.

Les principales causes sont :

- Rénales :

- cancer du rein (polyglobulie dans 1 à 5% des cas)
- pathologie vasculaire rénale : des polyglobulies ont été décrites dans des sténoses de l'artère rénale
- polykystose rénale ou kyste solitaire du rein
- hydronéphrose

- Cancer primitif du foie : la polyglobulie est présente dans 3 à 10% des cas.

- Hémangioblastomes cérébelleux : de découverte exceptionnelle, il s'agit d'une polyglobulie par sécrétion d'une substance Epo-like. Les examens neuroradiologiques ne sont indiqués qu'en cas de symptomatologie clinique.

2. Polyglobulie primitive

- Polyglobulie physiologique du nouveau-né (14)

C'est la polyglobulie transitoire physiologique néonatale. Elle est la conséquence d'une érythropoïèse fœtale accrue, liée à la relative hypoxie de l'environnement intra-utérin, l'hypoxie étant un facteur stimulant de l'érythropoïèse.

Après la naissance, l'augmentation soudaine de l'oxygénation des tissus entraîne une diminution de l'érythropoïèse, et ce jusqu'à 6 à 8 semaines après la naissance. Le taux d'hémoglobine diminue progressivement d'environ 10 g/dl par semaine, et atteint le minimum de 115 g/dl entre 2 et 6 mois.

L'érythropoïèse, stimulée par la diminution du taux d'hémoglobine reprend vers le deuxième mois, ce qui permet d'assurer le maintien d'un taux d'hémoglobine autour de 120g/dl pendant la première année de vie, et ce malgré l'augmentation importante du volume sanguin parallèle à la croissance staturo-pondérale.

Après l'âge de 2 ans, le taux d'hémoglobine augmente progressivement, mais les valeurs adultes ne sont atteintes qu'après la puberté.

- Maladie de Vaquez (15)

La prévalence de la substitution V617F de Jak2 dans la maladie de Vaquez par séquençage du gène à partir de l'ADN des granulocytes de patients atteints de cette maladie est élevée. Cette substitution est localisée dans le domaine appelé JH2 (Jak homology 2) ou pseudokinase de forte homologie de séquence avec le domaine kinase JH1 mais dépourvu d'activité catalytique.

Cette mutation ponctuelle de G en T du nucléotide 1849 de l'exon 12 du gène JAK2 est une mutation faux-sens aboutissant à la substitution d'une valine par une phénylalanine (V617F).

JH2 a une fonction régulatrice importante permettant l'auto-inhibition de l'activité tyrosine kinase. Le domaine JH1 porte l'activité catalytique qui repose sur trois boucles identifiées par modélisation tri-dimensionnelle à partir d'homologie de séquences d'autres domaines tyrosine kinase dont la structure a été déterminée : la boucle catalytique, la boucle de fixation de l'ATP et la boucle d'activation. Cette boucle d'activation possède deux conformations. La première correspond à la protéine inactive en absence de fixation du ligand au récepteur membranaire. Dans ce cas, la conformation de la boucle permet une interaction stabilisatrice entre JH1 et JH2 par interaction entre L1001 et P1002 (JH1) et C618 (JH2). La seconde conformation correspond à Jak2 activée après fixation du ligand à son récepteur. Il se produit alors une ouverture des sites de JH1 intervenant dans la catalyse. La conformation « activée » fait apparaître des interactions défavorables entre V1010 et

K1011 (JH1) et V617 (JH2). JH2 joue donc un rôle modulateur de l'activité tyrosine kinase via probablement l'acide aminé V617 muté dans la maladie de Vaquez.

La mutation V617F augmente l'activité tyrosine kinase de Jak2 et entraîne une dérégulation du domaine kinase JH1 de Jak2. Cette dérégulation du domaine JH1 liée à la mutation entraîne en aval une augmentation de l'activité transcriptionnelle de Stat5. L'activité transcriptionnelle de Stat5 induite par le Jak2 humain mutant V617F dans les cellules gamma-2A déficientes en Jak2 est indépendante des cytokines et de la présence du récepteur à l'Epo (16).

L'influence de la mutation V617F de Jak2 sur la viabilité et la croissance a été étudiée sur un modèle de cellules BaF3 transfectées stables cultivées en l'absence d'IL-3 pendant 6 à 10 jours. Ont été transfectés le vecteur contenant le gène JAK2 sauvage, le vecteur contenant le gène JAK2 muté V617F et le vecteur seul. La comparaison de la viabilité des cellules au-delà du sixième jour montre que seules les cellules transfectées avec Jak2 V617F se sont multipliées et que les autres cellules n'ont pas survécu (figure 4).

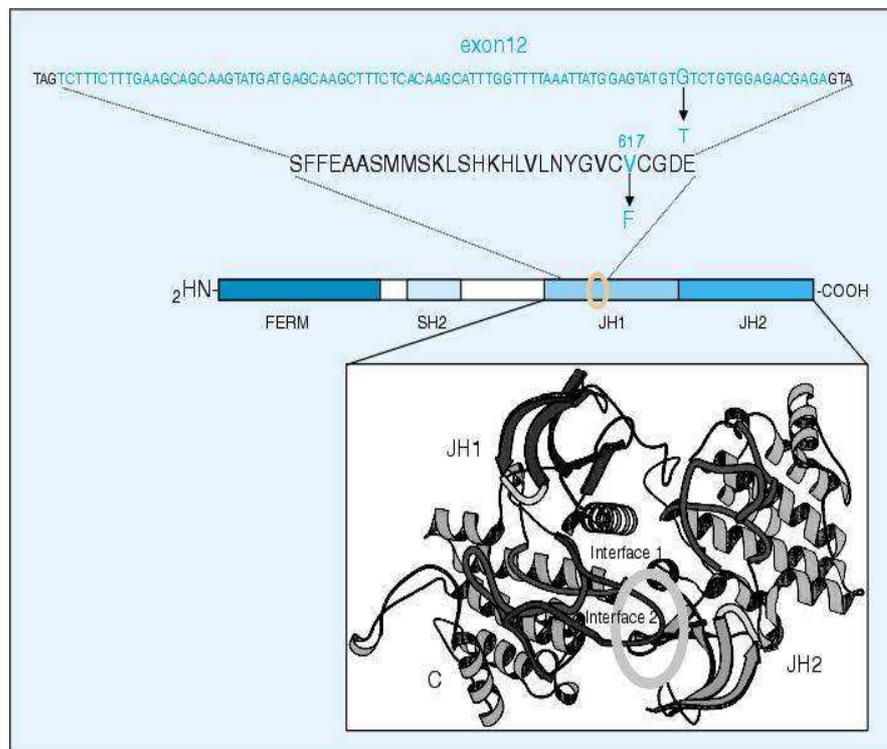


Figure 4 : Mutation V617F de Jak2 et modification conformationnelle (18)

(En encadré est représentée la zone d'interaction entre les domaines JH1 et JH2)

- Polyglobulie primaire familiale et congénitale (PFPC) (19)

Elles résultent d'une mutation au niveau du gène du récepteur de l'érythropoïétine. Dans toutes ces mutations, la portion cytoplasmique du récepteur de l'érythropoïétine est tronquée. C'est cette portion qui est responsable de l'interruption du signal suivant la liaison avec l'érythropoïétine. Il en résulte une hypersensibilité des précurseurs érythroïdes à l'érythropoïétine aboutissant à une hyperplasie érythroïde avec érythrocytose absolue. La transmission de ces érythrocytoses congénitales est dominante.

3. L'Erythrose pure ou idiopathique (20)

C'est une PG absolue acquise où la prolifération est limitée à la lignée rouge. Malgré un examen approfondi, aucune cause de PG secondaire n'est retrouvée et pourtant les critères d'une maladie de Vaquez ne sont pas présents. Cette entité représente 5 à 10 % des érythrocytoses absolues acquises non secondaires. Plusieurs mécanismes étiopathogéniques ont été proposés. Il peut s'agir pour certains patients de variations physiologiques, pour d'autres, dans 5 à 10 % des cas, quelques années après le début de la maladie, les critères d'une maladie de Vaquez apparaissent. Pour quelques patients, cette érythrocytose idiopathique pourrait représenter une prolifération clonale n'intéressant que la série rouge. Dans certains cas, une cause d'érythrocytose secondaire est présente mais non identifiée, comme les hypoxémies intermittentes nocturnes. Le diagnostic de ce type de PG est un diagnostic d'élimination. Les patients sauf ceux qui évoluent vers une maladie de Vaquez, sont en principe à l'abri des transformations hématologiques tardives (leucémie aiguë, splénomégalie myéloïde) mais sont soumis au risque de complications vasculaires, ce qui justifie de les traiter.

IV.4 Circonstance du diagnostic (20, 21)

Le diagnostic est évoqué sur un examen hématologique fait à titre systématique ou prescrit pour une cause sans rapport avec la polyglobulie. Ce sont souvent les signes fonctionnels ou une érythrose de la peau et des muqueuses qui attirent l'attention et motivent la consultation. Les symptômes les plus fréquents sont la fatigue, les céphalées, les vertiges, les paresthésies, les acouphènes, les troubles

visuels. Tous ces signes sont liés à l'hyperviscosité. Le prurit après la toilette est très évocateur, de même que les érythromélgies. Dans la majorité des cas c'est une complication vasculaire qui fait découvrir la maladie : hémiplégie, infarctus du myocarde, artérite des membres inférieurs, phlébite, hémorragie.

IV.5 Critères de diagnostic

Hématocrite, volume globulaire

Les limites supérieures des valeurs de référence pour l'hématocrite sont de 0.51 chez l'homme et de 0.47 chez la femme. L'élévation de l'hématocrite au-dessus de ces chiffres sur un échantillon sanguin prélevé dans des conditions basales (chez un sujet bien hydraté, non perfusé, en position couchée, non à jeun mais à distance d'une ingestion de corps gras), et obtenu sans occlusion veineuse définit la PG.

Un volume globulaire mesuré dans la fourchette de plus ou moins 25 % de la valeur prédite inclut 98 % des hommes normaux et 99 % des femmes normales. Un volume globulaire augmenté est défini pour les Européens comme dépassant la valeur normale théorique de plus de 25 %. À la mesure du volume globulaire, il est souhaitable d'associer la mesure du volume plasmatique (VP) par dilution de l'albumine marquée par l'iode 125. La mesure du VP n'est pas nécessaire pour le diagnostic d'une érythrocytose absolue mais elle est utile pour le diagnostic d'une fausse polyglobulie, due à une hémococoncentration par baisse du volume plasmatique. Si l'hématocrite est supérieur à 60 % chez l'homme et à 55 % chez la femme, il y a plus de 90 % de chances que le volume globulaire soit excessif.

Un volume globulaire est le point de départ de l'exploration d'une polyglobulie permettant de distinguer les érythrocytoses apparentes, ou fausses polyglobulies, et les érythrocytoses absolues ou vraies polyglobulies.

L'hémogramme

À lui seul, cet examen de base est souvent très suggestif du diagnostic de PG due à la maladie de Vaquez lorsqu'il existe une franche élévation des trois lignées myéloïdes. Dans plus de la moitié des cas, la leucocytose dépasse $12 \cdot 10^9/l$ avec polynucléose neutrophile, et la thrombocytose dépasse $400 \cdot 10^9/l$. Un traitement martial pourrait être prescrit avant de mesurer le volume globulaire chez des patients

avec un hémocrite normal et un déficit en fer. En cas de splénomégalie, il peut exister une érythrocytose absolue, même si l'hémocrite est dans les limites normales, en raison du *pool* sanguin splénique et de l'augmentation du volume plasmatique.

L'augmentation des trois lignées sanguines ne doit pas dispenser de la recherche d'une cause secondaire de polyglobulie.

Saturation en oxygène du sang artériel (SaO₂) et carboxy-hémoglobine (CoHb)

La mesure de la SaO₂ est effectuée par un oxymètre au niveau du pouls qui peut également souvent donner le taux de carboxy-hémoglobine (GHb). Dans les érythrocytoses primitives, la SO₂ est supérieure à 92 %. Toutefois, la diminution intermittente de SO₂, si elle est prolongée, peut être responsable d'érythrocytose secondaire. La réduction nocturne de la SO₂ en dessous de 92 % avec des valeurs diurnes normales est responsable de 20 % des augmentations de volume globulaire classées dans les érythrocytoses idiopathiques (22).

Échographie abdominale

Elle permet d'écartier une lésion hépatique comme un hépatome et de préciser la taille de la rate dont la palpation est difficile chez un sujet obèse et qui doit être significativement augmentée de volume pour être palpable.

L'examen des reins est un temps important de l'échographie dans les érythrocytoses absolues. La lésion la plus fréquente est la présence d'un ou plusieurs kystes. En dehors de la polykystose rénale, il est exceptionnel que des kystes solitaires du rein soient responsables d'une érythrocytose. L'échographie permet surtout de s'assurer de l'absence de cancer du rein qui s'accompagne d'érythrocytose secondaire dans 1 à 5% des cas.

Examen de la moelle et caryotype

Au stade du diagnostic de maladie de Vaquez, le myélogramme n'a pas d'intérêt dans la PG sauf pour faire un caryotype médullaire. L'étude histologique de la moelle est plus utile comme l'ont souligné différents auteurs, il existe une hyperplasie des trois lignées avec une augmentation des mégacaryocytes de grande

taille, souvent hyperploïdes, et une augmentation de la réticuline. La biopsie médullaire, examen agressif, devrait être réservée aux cas douteux où les critères objectifs de PV sont insuffisants ou dissociés.

Le caryotype médullaire peut apporter un bon appoint au diagnostic en montrant une anomalie médullaire clonale qui est l'un des critères majeurs de PV. 10 à 15% des patients ont une anomalie chromosomique acquise avant tout traitement. Les modifications les plus fréquentes sont des trisomies 1, 8, 9 et des anomalies ou délétions 13q et 20q.

Étude de la clonalité par des sondes d'ADN liées aux chromosomes X

Les techniques de biologie moléculaire démontrant la clonalité d'une polyglobulie ne s'appliquent qu'aux femmes hétérozygotes, et sont complexes et coûteuses. L'utilisation de la sonde du gène HUMARA a permis d'identifier les chromosomes X parentaux chez près de 90% des femmes. La monoclonalité des granulocytes chez la femme ayant une PV a un intérêt diagnostique certain. Toutefois la mise en évidence de granulocytes clonaux chez 20 à 30% des femmes âgées normales diminue la portée de cette constatation dans la PV.

Érythropoïétine sérique

Sa valeur varie selon les techniques mais s'échelonnent en général entre 5 et 25 UI/L.

Le dosage de l'EPO sérique a été développé afin de distinguer les polyglobulies secondaires des primitives. Cependant, la physiologie de l'EPO ne permet pas de corréler le taux de l'hormone à la cause d'une polyglobulie. En effet, la diminution de l'EPO sérique dans la maladie de Vaquez est fréquente, mais pas constante, et un taux d'EPO normal peut être rencontré lors de polyglobulies liées à l'hypoxie. Ainsi, si un taux d'EPO élevé suggère une hypoxie tissulaire à l'origine de la polyglobulie, un taux normal ne permet pas d'exclure une polyglobulie secondaire.

Culture in vitro des progéniteurs érythroblastiques

Les BFU.E dans la PV sont hypersensibles à différents facteurs de croissance : *Stem cell factor*, IL3, érythropoïétine, *Insulin-like growth factor*. La culture de la fraction

mononucléée non adhérente des cellules sanguines de patients avec PV en milieu contenant du sérum sans addition d'érythropoïétine aboutit à la croissance de BFU.E dénommées colonies érythroïdes endogènes (EEC). Ce fait non observé chez les sujets normaux est très en faveur d'une PV.

Recherche de la mutation acquise V617F de JAK2 (22, 23)

La mutation JAK2V617F est très fréquemment trouvée (95%) chez les patients atteints de polyglobulie de Vaquez (PV), mais moins souvent chez les patients atteints de thrombocytémie essentielle (TE) (50-70%) ou de myélofibrose primitive (MP) (environ 50%). La charge mutationnelle (quantité d'allèles JAK2 mutés) est aussi variable selon la pathologie, typiquement forte dans les PV, plus faible dans les TE. Ces différences reflètent à la fois l'importance du clone muté et le statut homozygote ou hétérozygote de la mutation. La présence de la mutation JAK2, et possiblement la charge mutationnelle retentissent sur le phénotype clinico-biologique des syndromes myéloprolifératifs et sur leur profil évolutif.

Nous ne ferons que citer certains examens biologiques classiques dont l'utilité dans la PG n'est pas démontrée et qui sont peu spécifiques.

- La ferritinémie est souvent abaissée
- Le taux de vitamine B₁₂ est augmenté en liaison avec l'hyperleucocytose
- L'appréciation de la fonction rénale et hépatique se justifie par l'observation de rares érythrocytoses secondaires dues à une insuffisance rénale modérée ou à une cirrhose.
- Une hyperuricémie témoigne de l'existence d'un hypercatabolisme.

IV.6 : Orientation étiologique

Le diagnostic étiologique d'une polyglobulie comprend les étapes suivantes :

* *Affirmer la polyglobulie vraie* par la mesure isotopique du Volume Globulaire Total. Si le volume globulaire dépasse de 25 % les valeurs théoriques, la polyglobulie vraie peut être affirmée.

* *Éliminer les étiologies les plus fréquentes de polyglobulie secondaire :*

- polyglobulies par hypoxie tissulaire dues à une désaturation artérielle en O_2 , une simple gazométrie artérielle met en évidence la diminution de la pression partielle en oxygène (PO_2) et de la saturation en oxygène (SaO_2)

- polyglobulies par sécrétion inappropriée d'érythropoïétine (EPO) : soit augmentation de la production d'EPO en rapport avec une hypoxie tissulaire rénale localisée (pathologie vasculaire rénale, kystes ou tumeurs du rein...), soit production d'EPO ou d'une substance EPO-like par une tumeur (hépatomes, hémangioblastomes cérébelleux, fibromes utérins...), soit hypersécrétion d'un autre facteur hormonal susceptible d'accroître l'érythropoïèse : adénomes surrenaliens, maladie de Cushing...

* *Rechercher des arguments en faveur d'une polyglobulie primitive.* Ainsi, l'association d'une splénomégalie (75 % des cas) avec une hyperleucocytose et une hyperplaquettose modérée est le meilleur argument devant une polyglobulie vraie en faveur de la maladie de Vaquez. La biopsie médullaire confirme l'hypercellularité de la moelle et montre une diminution des espaces graisseux, une hyperplasie de la lignée mégacaryocytaire et parfois une fibrose réticulinique. Le myélogramme n'est pas nécessaire. En cas de doute, l'étude de la culture des progéniteurs médullaires constitue un argument important ; elle révèle en effet une augmentation du nombre des colonies érythroblastiques et surtout une prolifération en l'absence d'EPO. Les examens complémentaires montrent les résultats suivants : une concentration en EPO normale ou abaissée (alors que la valeur est souvent élevée dans les polyglobulies secondaires), une saturation en oxygène du sang artériel normale, une VS très diminuée ou nulle, des fonctions plaquettaires souvent anormales, une fréquente hyperuricémie, une concentration en vitamine B12 sérique et en transcobalamines normale ou augmentée.

* *Rechercher des causes plus rares de polyglobulie secondaire, en particulier chez un sujet jeune.* Il s'agit de polyglobulies par hypoxie tissulaire dues à un défaut de transfert de l'oxygène des hématies aux tissus. L'étude fonctionnelle de l'hémoglobine (Hb) révèle une P50 abaissée (pression partielle d'oxygène O_2 à laquelle l'hémoglobine est à mi-saturation) et donc une hyperaffinité érythrocytaire pour l' O_2 responsable d'une polyglobulie compensatrice. Plusieurs étiologies peuvent en être responsables : intoxication chronique au monoxyde de carbone (tabagisme le

plus souvent), méthémoglobulinémies toxiques (nitrites, nitrates...) ou congénitales, polyglobulie familiale par hémoglobine anormale hyperaffine pour l'O₂, déficit en 2,3 DPG.

IV.7 Diagnostic différentiel (23)

Il faut éliminer les fausses polyglobulies ou polyglobulies apparentes : augmentation des globules rouges, de l'hématocrite et de l'hémoglobine mais sans augmentation significative du volume globulaire total.

Les deux exemples de fausse polyglobulie (pseudopolyglobulie) sont :

- La **β-thalassémie mineure** : les globules rouges sont augmentés mais l'hémoglobine et l'hématocrite sont normales voire très souvent un peu diminuées. Il existe une microcytose très importante tout à fait caractéristique.

- Les **déshydratations importantes** qui réalisent une hémococoncentration. L'hémogramme sera contrôlé après hydratation correcte.

Particulièrement, pour la maladie de Vaquez, éliminer les autres **syndromes myéloprolifératifs** (notamment thrombocytémie essentielle)

IV.8 Traitement (23)

1. Polyglobulies secondaires

- Traitement étiologique (quand il est possible)
- Saignées

But

Diminution rapide de l'hypervolémie et de l'hyperviscosité supprimant ainsi la cause principale de complications vasculaires. Ramener l'hématocrite < 0,45(femme) ; 0,50 (homme)

Méthode

Prélèvement de 300 à 400 ml de sang deux fois par semaine (ramenant en quelques jours un hématocrite normal) réalisé en milieu hospitalier, de façon lente, à répéter en fonction de l'évolution de l'hématocrite.

Dans les formes avec très forte inflation globulaire (Hte > 60% ou hémoglobine >20g/100ml), des volumes plus importants peuvent être retirés (jusqu'à

500ml avec remplacement volumique par un soluté macromoléculaire pour éviter une chute trop rapide du volume sanguin total).

Les saignées répétées provoquent une carence martiale qui réduit l'érythropoïèse et permet quelquefois d'obtenir une certaine stabilisation de la polyglobulie. Il ne faut pas corriger la carence martiale ainsi créée sous risque de relancer immédiatement l'érythropoïèse.

Une carence martiale excessive peut cependant entraîner une thrombocytose réactionnelle quelquefois marquée.

- Chimiothérapie

Hydréa® ou Vercyte® 1cp/2j

2. Maladie de Vaquez

- Saignées (cf modalités PG secondaires)
- La chimiothérapie

Les produits les plus utilisés sont

- hydroxyurée, gélules à 500 mg : la dose d'attaque est de 2 à 4 gélules par jour et la posologie d'entretien est de 1 à 2 gélules par jour.

- pipobroman, comprimé à 25 mg : la dose d'attaque est de 2 à 4 cp par jour puis la dose sera diminuée au bout de 2 à 3 semaines. La dose d'entretien est de 50 mg par semaine à 25 mg par jour.

L'avantage des chimiothérapies est le bon contrôle de la composante plaquettaire ou leucocytaire de la prolifération quand elle est marquée. Les inconvénients sont la nécessité de contrôler régulièrement l'hémogramme (environ 1 fois par mois) et pour les agents alkylants (Vercyte) le risque à long terme de favoriser l'acutisation en leucémie aiguë en particulier s'ils ont été associés au 32P.

- Le phosphore 32

La posologie utilisée habituelle est de 0,1 mCi/kg en dose unique (de préférence par voie veineuse pour éviter les variations d'absorption digestives d'un sujet à l'autre). Une rémission est obtenue dans 80 à 95 % des cas en 2 à 3 mois (période pendant laquelle il faut poursuivre les saignées). La durée de rémission peut

varier de 6 mois à plus de 5 ans avec une médiane de 2,5 ans. Une surveillance simple est suffisante pendant cette période (un hémogramme tous les 2 à 3 mois).

IV.9 Evolution et complications (24)

-Thromboses

Elles sont liées à l'hyperviscosité induite par l'inflation globulaire. Ce risque de thromboses est souvent corrélé au taux d'hématocrite. Il est recommandé d'essayer de faire baisser l'hématocrite à 45 % ou en dessous. Une thrombocytose importante est également un facteur de risque de thrombose. Ces thromboses veineuses (membres inférieurs, veines cérébrales) ou artérielles ont un impact important sur la survie (responsables de 10 à 15 % des décès).

- Les **manifestations hémorragiques** sont rares, sauf cependant en cas d'intervention chirurgicale. Un polyglobulique qui doit être opéré, quelle que soit la raison de l'intervention chirurgicale, doit être mise en rémission complète, sur les trois lignées, si c'est possible, avant l'intervention.

Dans la maladie de Vaquez

-Fibrose médullaire

Son apparition est quasi constante. Elle est présente chez 10 % des sujets dès le diagnostic. Dans un premier temps la fibrose est asymptomatique. Avec son aggravation, elle se traduira par une réduction de l'intensité de la polyglobulie puis par une anémie. Sur le plan clinique, il s'y associera une splénomégalie, siège d'une métaplasie myéloïde (hématopoïèse extramédullaire), qui pourra devenir douloureuse (infarctus spléniques).

-Leucémie aiguë

La fréquence d'apparition est estimée à 10 à 20 %. Cette fréquence est dépendante du traitement et plus importante en cas de traitement par agent alkylant ou phosphore radioactif. La moitié des cas sont rencontrés dans les 5 premières années mais le risque de les voir apparaître persiste certainement jusqu'à 20 ans voire au-delà.

L'acutisation peut suivre une période de myélodysplasie ou même de myélofibrose. Le pronostic d'une leucémie secondaire à une maladie de Vaquez est,

comme pour toutes les leucémies secondaires, très sombre avec une médiane de survie de moins de 6 mois après la transformation aiguë.

DESCRIPTION DES CAS DE POLYGLOBULIE

I. OBJECTIFS

Notre étude a pour objectif de décrire l'aspect clinique, biologique et thérapeutique de cas de polyglobulie observés et suivis à l'unité paraclinique de formation et de recherche en hématologie du CHU/JRA Antananarivo.

II. MATERIEL ET METHODES

II.1. Cadre de l'étude

Il s'agit de cas observés à l'unité paraclinique de formation et de recherche en hématologie (UPFR) au Centre Hospitalier Universitaire, Joseph Ravoahangy Andriananavalona (CHU/JRA) d'Antananarivo. Cette unité reçoit et traite les demandes d'analyses hématologiques provenant des

- services des centres hospitaliers universitaires (CHU) d'Antananarivo et de ses environs
- services de formations cliniques privés et cabinets médicaux
- provinces

II.2. Type d'étude

Il s'agit d'une étude descriptive rétrospective.

II.3. Période d'étude

Il s'agit de cas de PG ayant été suivi régulièrement au laboratoire durant l'année 2012.

II.4. Population d'étude

Sont inclus, les patients qui sont suivis régulièrement (au moins un hémogramme tous les deux mois au sein du laboratoire) après le diagnostic de polyglobulie.

Sont exclus, les résultats qui rentrent dans le critère de diagnostic de PG mais sans confirmation ni suivi après le diagnostic.

II.5. Critère de positivité

Ont été considéré comme polyglobulie tout résultat dont

- Hématocrite supérieur à 0.51 chez l'homme et de 0.47 chez la femme et l'enfant.
- Hémoglobine supérieure à 18,5g/dl chez l'homme et supérieure à 16,5g/dl chez la femme.

II.6. Paramètres étudiés

Nous avons saisi dans nos fiches de collecte de données les paramètres suivant

- le genre
- l'âge du patient
- L'origine
- les résultats d'hémogramme
- le taux de réticulocytes, vitesse de sédimentation des hématies
- les résultats de médullogramme, caryotype, recherche de la mutation JAK2

II.7. Considération éthique

Respect de l'anonymat et confidentialité des résultats.

III. LES CAS DE POLYGLOBULIE

III.1. Observation 1

Monsieur BEM..., âgé de 45 ans, originaire de Toamasina, personnel administratif, non fumeur, sportif modéré, est hospitalisé dans le service de médecine interne en Mars 2010 pour des épisodes de céphalées, vertiges et de crises érythromélagiques déclenchées au contact du froid, évoluant depuis plusieurs mois.

L'examen clinique est sans particularité, hormis une légère surcharge pondérale (index de masse corporelle = 28).

Aucun antécédent personnel ni familial particulier n'a été noté : aucune notion d'exposition à des produits chimiques ni de radiations, ni tabagisme, ni de cardiopathie n'a été signalé.

Un hémogramme est alors réalisé, on retrouve une polyglobulie assez importante (Hb = 193 g/l, Ht = 0.58), avec une leucocytose à polynucléose neutrophile et une thrombocytose modérée (respectivement $13 \times 10^9 /L$ et $599 \times 10^9/L$). L'hémogramme est recôntrolé après quelques semaines, après avoir éliminé une déshydratation on retrouve de nouveau une Hb =186 g/l et hématocrite =0.60. On a alors retenu le diagnostic de polyglobulie vraie, même si la mesure de la masse globulaire totale n'a pas pu être faite.

Tableau II : Évolution de l'hémogramme chez le patient (BEM)

HEMOGRAMME	Avril 2010	Mai 2010	Décembre 2012
Globules Rouges	$8,1 \cdot 10^{12} /l$	$6,7 \cdot 10^{12} /l$	$6,1 \cdot 10^{12} /l$
Hémoglobine g/l	186	204	174
Hématocrite	0.60	0.62	0.51
VGM μ^3	74	92	84
TGMH pg	22	30	28
CCMH g/	306	330	337
Globules Blancs	$13 \cdot 10^9 /l$	$7 \cdot 10^9 /l$	$8.6 \cdot 10^9 /l$
Plaquettes	$189 \cdot 10^9 /l$	$362 \cdot 10^9 /l$	$362 \cdot 10^9 /l$
Réticulocytes	$70 \cdot 10^9 /l$	$28 \cdot 10^9 /l$	$26 \cdot 10^9 /l$

Le bilan étiologique permet dans un premier temps d'éliminer une cause de polyglobulie secondaire (échocardiographie, tomодensitométrie abdomino-pelvienne et cérébrale, électrophorèse de l'Hb normales). L'étude cytologique, génétique et moléculaire de la moelle osseuse écarte dans un deuxième temps un syndrome myéloprolifératif classique (myélogramme montrant une moelle riche avec hyperplasie de la lignée érythrocytaire, caryotype normal). La culture des progéniteurs érythroïdes n'a pas été faite. Enfin la recherche de la mutation JAK2 Val617Phe est négative.

Chez ce patient, nous avons retenu le diagnostic de polyglobulie vraie, cependant, l'on ne peut affirmer qu'il s'agit d'une maladie de Vaquez.

Sur le plan thérapeutique, Le sujet a été traité par des saignées répétées de 300ml deux à trois fois par semaine pendant environ 2 semaine au début jusqu'à normalisation du taux d'hémoglobine (cible : Hte < 45%), puis tous les 3 mois.

Concernant son évolution, aux contrôles systématiques de l'hémogramme, une stabilisation du taux d'hémoglobine et hématocrite a été notée au début, puis l'évolution est fluctuante avec succession des épisodes de complications thrombotiques.

III.2. Observation 2

Monsieur TOT..., âgé de 60 ans, originaire de Toamasina, pilote de carrière, non fumeur consulte pour des épisodes d'érythrose faciale évoluant depuis quelques années. Cette érythrose est accentuée lors du passage en altitude lié son travail.

L'examen clinique est sans particularité, un bon état général, absence de signe d'hyperviscosité, l'examen de l'appareil cardio-vasculaire, de l'appareil respiratoire sont normaux. On n'a pas retrouvé de splénomégalie.

Aucun antécédent personnel particulier n'a été noté. Cependant, dans la famille, du côté paternel, on note un antécédent de syndrome myéloprolifératif dont la nature n'a pas été précisé.

Un hémogramme est alors réalisé, on retrouve une polyglobulie assez importante (Hb = 180g/l, Ht = 0.54), avec une leucocytose à polynucléose neutrophile et une thrombocytose modérée (respectivement $13,3 \times 10^9$ /L et

540x 10⁹/L). L'hémogramme est recôntrolé après quelques semaines, après avoir éliminé une déshydratation et on retrouve de nouveau une Hb =191 g/l et hématocrite =0.60. On a alors retenu le diagnostic de polyglobulie vraie.

Tableau III : Évolution de l'hémogramme chez le patient (TOT)

HEMOGRAMME	Juin 2003	Août 2003	Novembre 2012
Globules Rouges	7,5. 10 ¹² /l	6,0.10 ¹² /l	5.9.10 ¹² /l
Hémoglobine g/l	191	169	160
Hématocrite	0.60	0.53	0.50
VGM μ ³	80	87	85
TGMH pg	25	27	27
CCMH g/l	319	320	320
Globules Blancs	13,3.10 ⁹ /l	28,8.10 ⁹ /l	.10 ⁹ /l
Plaquettes	404.10 ⁹ /l	609.10 ⁹ /l	.10 ¹⁹ /l
Réticulocytes	70. 10 ⁹ /l	102. 10 ⁹ /l	80.10 ⁹ /l

Le bilan étiologique a permis d'éliminer une polyglobulie secondaire (échocardiographie, tomодensitométrie abdomino-pelvienne et cérébrale normales). Par contre, l'électrophorèse de l'hémoglobine retrouve un profil AS.

La biopsie ostéomedullaire a montré une hypercellularité avec prédominance des lignées érythroïdes, granulocytaires et mégacaryocytaires. Le caryotype est normal. La recherche de la mutation JAK 2(JAK V617F) est positive.

Nous avons alors retenu le diagnostic d'une maladie de Vaquez : 2 critères majeurs (JaK 2 positive + Hb>18,6g/l ; Ht>0,52) et un mineur (hypercellularité à la BOM)

Chez ce patient, il n'est pas exclu que la polyglobulie ait été majorée par une exposition prolongée aux hautes altitudes.

Sur le plan thérapeutique, le sujet a reçu comme traitement d'attaque des saignées répétées de 300 ml deux à trois fois par semaine pendant environ 2 semaine au début jusqu'à normalisation du taux d'hémoglobine (cible : Hte < 45%), puis tous les 3 mois.

Ensuite, les saignées son relayées par Vercyte® comprimé 25mg à raison de 2 comprimé par jour avec surveillance de la numération sanguine toute les semaines au début puis tous les 2 mois.

III.3. Observation 3

Monsieur AND..., âgé de 61 ans, originaire d'Antananarivo, grand fumeur, consulte en Avril 2012 pour des épisodes de céphalées et des vertiges, évoluant depuis des mois.

L'examen clinique est sans particularité, un bon état général, l'examen de l'appareil respiratoire ainsi que les autres appareils sont normaux. On note l'absence de splénomégalie.

Il n'a aucun antécédent personnel ni familial particulier.

L'hémogramme retrouve une polyglobulie isolée (Hb = 193g/l, Ht = 0,58), avec des chiffres de globules blancs et de plaquettes dans les valeurs de référence (respectivement $7,2 \times 10^9$ et $190 \times 10^9/L$). Un contrôle de l'hémogramme retrouve une Hb = 198 g/l et hématocrite = 0.60. On a alors retenu le diagnostic de polyglobulie vraie.

Tableau IV : Évolution de l'hémogramme chez le patient (AND)

EMOGRAMME	Mai 2011	Août 2011	Mars 2012
Globules Rouges	$7,8. 10^{12} /l$	$6,4.10^{12} /l$	$7.36.10^{12} /l$
Hémoglobine g/l	198	178	166
Hématocrite	0,62	0,55	051
VGM μ^3	80	85	70
TGMH pg	25	27	22
CCMH g/l	320	321	325
Globules Blancs	$12,4.10^9/l$	$24,3.10^9/l$	$13.10^9 /l$
Plaquettes	$210.10^9 /l$	$761.10^9 /l$	$522.10^9 /l$
Réticulocytes	$89. 10^9/l$	$25. 10^9/l$	$70.10^9 /l$

La gazométrie artérielle ainsi que les épreuves fonctionnelles respiratoires reviennent normales.

La biopsie ostéoméduillaire, le caryotype, l'électrophorèse de l'hémoglobine sont normaux. La recherche de la mutation JAK 2(JAK V617F) est négative.

Nous avons alors retenu le diagnostic de polyglobulie secondaire probablement à une intoxication tabagique chronique.

Sur le plan thérapeutique, en plus de l'arrêt du tabac, le sujet a été traité par des saignées répétées de 300 ml deux à trois fois par semaine pendant environ 2 semaine au début jusqu'à normalisation du taux d'hémoglobine (cible : Hte < 45%), puis tous les 3 mois.

Son évolution est stationnaire avec stabilisation de l'hémoglobine aux alentours de 160g/l, aucune complication n'est apparue jusqu'à ce jour.

III.4. Observation 4

Monsieur ANDR..., âgé de 42 ans, originaire d'Antsirabe, se plaignant depuis plusieurs semaines d'érythrose du visage et des extrémités ainsi que de prurit au contact de l'eau chaude.

L'examen clinique est sans particularité, un bon état général, l'examen de l'appareil respiratoire ainsi que les autres appareils sont normaux. On note la présence de splénomégalie modérée.

Il n'a aucun antécédent personnel ni familial particulier.

Biologiquement, l'hémogramme retrouve une polyglobulie (Hb=184g/l, Ht=0,53), avec leucocytose à polynucléose neutrophile et des chiffres de plaquettes dans les valeurs de référence (respectivement $14,9 \times 10^9$ et $450 \times 10^9/L$). Un contrôle de l'hémogramme retrouve une Hb=196 g/l et hématocrite =0.57. On a alors retenu le diagnostic de polyglobulie vraie.

Tableau V : Évolution de l'hémogramme chez le patient (ANDR)

HEMOGRAMME	Mai 2011	Août 2011	Avril 2012
Globules Rouges	$7,8. 10^{12} /l$	$6,4.10^{12} /l$	$4.16.10^{12} /l$
Hémoglobine g/l	198	178	154
Hématocrite	0,62	0,55	0.47
VGM μ^3	80	85	110
TGMH pg	25	27	37
CCMH g/l	320	321	324
Globules Blancs	$12,4.10^9/l$	$24,3.10^9/l$	$7.5.10^9 /l$
Plaquettes	$210.10^9 /l$	$761.10^9 /l$	$441.10^9 /l$
Réticulocytes	$89. 10^9/l$	$25. 10^9/l$	$40.10^9 /l$

Il s'agit d'une polyglobulie vraie mais dont l'étiologie exacte n'a pas pu être établie étant donné qu'on n'a pas pu effectuer les bilans d'investigation biologique nécessaires.

Néanmoins, après avoir répondu dans un premier temps aux saignées seules, la polyglobulie reste actuellement partiellement maîtrisée après introduction d'un traitement myélosuppresseur (Hydréa® gélules 500mg à raison de 2 gélules par jour)

Son évolution est stationnaire avec stabilisation de l'hémoglobine aux alentours de 160g/l, aucune complication n'est apparue jusqu'à ce jour.

III.5. Observation 5

Monsieur FID ... âgé de 76 ans, indopakistanaï, commerçant, vient consulter pour des épisodes d'érythroïse faciale, de prurit aquagénique, et de crises érythromélagiques évoluant depuis des mois.

L'examen clinique est normal, hormis la présence d'une splénomégalie.

Il n'a aucun antécédent personnel ni familial particulier.

Biologiquement, l'hémogramme retrouve une polyglobulie (Hb=220g/l, Ht=0,68), une leucocytose à polynucléose neutrophile, thrombocytose

(respectivement $12,7 \times 10^9$ et $680 \times 10^9/L$) et une hyperéosinophilie. Un contrôle de l'hémogramme retrouve une Hb =196 g/l et hématocrite =0.57. On a alors retenu le diagnostic de polyglobulie vraie.

Tableau VI : Évolution de l'hémogramme chez le patient (FID)

HEMOGRAMME	Avril 2011	Mai 2011	Octobre 2012
Globules Rouges	$9,0. 10^{12} /l$	$8,4.10^{12} /l$	$5.10.10^{12} /l$
<hr/>			
Hémoglobine g/l			
Hématocrite	198	199	159
VGM μ^3	0,65	0,63	0.49
TGMH pg	72	76	96
CCMH g/l	22	23	31
	304	317	325
<hr/>			
Globules Blancs	$12,7.10^9/l$	$10.10^9/l$	$9.10^9 /l$
Plaquettes	$680.10^9 /l$	$700.10^9 /l$	$800.10^9 /l$
Réticulocytes	$96. 10^9/l$	$25. 10^9/l$	$36.10^9 /l$

Le bilan étiologique permet dans un premier temps d'éliminer une cause de polyglobulie secondaire (échocardiographie, tomodensitométrie abdomino-pelvienne et cérébrale, électrophorèse de l'Hb normales). La recherche de la mutation JAK2 est positive. A la BOM, on observe une hypercellularité érythroblastique et mégacaryocytaire.

Il s'agit d'une Maladie de Vaquez.

Le sujet a été traité par des saignées répétées de 300 ml deux à trois fois par semaine pendant environ 2 semaine au début jusqu'à normalisation du taux d'hémoglobine (cible : Hte < 45%), puis tous les 3 mois relayé par Hydréa® gélules 500mg. Aux contrôles systématiques de l'hémogramme, on note une évolution favorable.

III.6. Observation 6

Monsieur RAK... âgé de 63 ans, originaire d'Antananarivo, consulte pour l'apparition insidieuse d'une érythrose faciale en quelques mois accompagnée de crise erythroméalgique.

L'examen clinique est normal, hormis la présence d'une splénomégalie.

Il n'a aucun antécédent personnel ni familial particulier.

Biologiquement, l'hémogramme retrouve une polyglobulie isolée (Hb=220g/l, Ht=0,67), leucocytes et plaquettes normaux (respectivement $8,8 \times 10^9$ et $360 \times 10^9/L$). Un contrôle de l'hémogramme retrouve une Hb=204g/l et hématocrite =0.62. On a alors retenu le diagnostic de polyglobulie vraie.

Tableau VII : Évolution de l'hémogramme chez le patient (RAK)

HEMOGRAMME	Mai 2010	Juin 2010	Juin 2012
Globules Rouges	$6,7. 10^{12} /l$	$6,8.10^{12} /l$	$6.73.10^{12} /l$
Hémoglobine g/l	204	195	204
Hématocrite	0,62	0,60	0.62
VGM μ^3	92	87	92
TGMH pg	30	29	30
CCMH g/l	330	324	330
Globules Blancs	$3,6.10^9/l$	$8,8.10^9/l$	$3.6.10^9 /l$
Plaquettes	$360.10^9 /l$	$453.10^9 /l$	$360.10^9 /l$
Réticulocytes	$48. 10^9/l$	$29. 10^9/l$	$78.10^9 /l$

Comme bilan étiologique, seul le myélogramme a pu être fait, avec une moelle de richesse augmentée, avec présence de nombreux mégacaryocytes et hyperplasie de la lignée érythroblastique.

La recherche de la mutation JAK2 n'a pas été faite.

Après avoir éliminé les causes de fausses polyglobulies, on a retenu le diagnostic de polyglobulie vraie, mais on ne peut affirmer s'il s'agit d'une maladie de Vaquez.

Après avoir répondu dans un premier temps aux saignées seules, la polyglobulie reste actuellement partiellement maîtrisée après introduction d'un traitement myélosuppresseur (par Hydréa® gélules 500mg)

On note une évolution fluctuante.

III.7. Observation 7

Monsieur AND... âgé de 61 ans, originaire d'Antananarivo, personnel administratif retraité, se plaignant en Mars 2012 de céphalées permanentes évoluant depuis quelques mois.

L'examen clinique est normal, absence de splénomégalie.

Il n'a aucun antécédent personnel ni familial particulier.

Biologiquement, l'hémogramme retrouve une polyglobulie isolée (Hb = 180g/l, Ht = 0,54), une leucocytose et les plaquettes sont normaux (respectivement 13×10^9 et $400 \times 10^9/L$). Un contrôle de l'hémogramme retrouve une Hb = 186g/l et hématicrite = 0.60. On a alors retenu le diagnostic de polyglobulie vraie.

Tableau VIII : Évolution de l'hémogramme chez le patient (AND)

HEMOGRAMME	Mai 2011	Juin 2011	Mars 2012
Globules Rouges	$8,1 \cdot 10^{12} /l$	$6,1 \cdot 10^{12} /l$	$5,76 \cdot 10^{12} /l$
Hémoglobine g/l	186	174	140
Hématocrite	0,60	0,51	0,40
VGM μ^3	80	84	71
TGMH pg	27	28	25
CCMH g/l	320	337	342
Globules Blancs	$15 \cdot 10^9 /l$	$8,6 \cdot 10^9 /l$	$12 \cdot 10^9 /l$
Plaquettes	$158 \cdot 10^9 /l$	$362 \cdot 10^9 /l$	$608 \cdot 10^9 /l$
Réticulocytes	$71 \cdot 10^9 /l$	$30 \cdot 10^9 /l$	$100 \cdot 10^9 /l$

Comme bilan étiologique, seul le myélogramme a pu être fait, avec une moelle de richesse augmentée, avec présence de nombreux mégacaryocytes et hyperplasie de la lignée érythroblastique.

La recherche de la mutation JAK2 n'a pas été faite.

Il s'agit d'une polyglobulie vraie mais les informations que nous avons ne nous permettent pas d'avancer le diagnostic exact.

Le sujet a été traité par des saignées répétées de 300 ml deux à trois fois par semaine pendant environ 2 semaines au début jusqu'à normalisation du taux d'hémoglobine (cible : Hte < 45%), puis tous les 3 mois.

On note une évolution favorable au traitement.

On note une évolution favorable.

III.8. Observation 8

Monsieur RAB... âgé de 29 ans, originaire d'Antananarivo, le sujet est hospitalisé en service de chirurgie viscérale pour une douleur abdominale atroce évoluant depuis quelques jours avec amaigrissement et asthénie.

A l'examen clinique, on observe une altération de l'état général, obnubilation, contracture abdominale, le patient était en état de choc.

Aucun antécédent particulier n'a été signalé.

Biologiquement, l'hémogramme retrouve une polyglobulie isolée (Hb=210g/l, Ht=0,61), une leucocytose sont normaux et une discrète thrombopénie est observée (respectivement $10 \times 10^9/l$ et $116 \times 10^9/l$). Malheureusement, on n'a pas pu contrôler l'hémogramme. Mais nous avons retenu le diagnostic de polyglobulie vraie.

Le patient n'a pas pu bénéficier de bilan étiologique.

Il s'agit d'une polyglobulie vraie dont l'étiologie reste inconnue, le diagnostic n'a pu être fait qu'au stade de complication.

Le sujet n'a pu bénéficier que des mesures de réanimation de base.

Le sujet est décédé après quelques heures de son arrivée à l'hôpital.

L'autopsie révèle une nécrose ischémique du pancréas.

III.9. Observation 9

L'enfant RAK... âgé de 13 ans, originaire d'Antananarivo est adressé en consultation, en Oncologie en novembre 2012 pour le bilan d'une polyglobulie découverte fortuitement à l'occasion d'un bilan d'altération de l'état général. Il est le

premier et unique enfant de parents non consanguins. Aucun antécédent hématologique personnel ou familial n'est trouvé. La grossesse et la période périnatale se sont déroulées sans problème. Cliniquement, il n'y a aucun symptôme, mis à part une érythrose cutanéomuqueuse faciale. La saturation transcutanée en oxygène est de 98 %.

Biologiquement, l'hémogramme retrouve une polyglobulie isolée (Hb = 191g/L, Ht = 0,55 avec des chiffres de globules blancs et de plaquettes dans les valeurs de référence (respectivement 7×10^9 et $257 \times 10^9/L$). La polyglobulie n'a pas été confirmée par la mesure isotopique de la masse globulaire totale. Le taux d'érythropoïétine est également très augmenté. Le bilan étiologique retrouve à l'échocardiographie une masse abdomino-pelvienne. Enfin, le bilan d'une polyglobulie primitive n'était pas fait.

Il s'agit donc d'une polyglobulie secondaire à taux d'EPO élevé.

L'enfant n'a pu bénéficier que des mesures de réanimation de base, ensuite l'enfant est perdu de vue.

COMMENTAIRES ET DISCUSSION

I- EPIDEMIOLOGIE

La polyglobulie n'est pas une maladie rare, mais, dans les maladies hématologiques chroniques, vient après la leucémie lymphoïde chronique et le myélome. (25)

Concernant l'incidence de la polyglobulie, Il est difficile de donner des chiffres précis, d'une part parce que les statistiques de mortalité prennent en compte essentiellement la cause immédiate de la mort, et ne citent pas souvent la maladie potentiellement responsable, d'autre part, parce que la polyglobulie vraie, syndrome myéloprolifératif, peut être confondue avec les polyglobulies secondaires.

Dans la série de cas que nous avons rapporté, l'âge des patients rejoint ce que rapporte la littérature avec un pic de fréquence après l'âge de 60 ans, cinq patients sur neuf ont 60 ans ou plus, et les trois autres patients sont aux alentours de la quarantaine. Nous avons un cas pédiatrique dont l'étiologie exacte reste inconnue. Nous avons cependant observé une prédominance masculine.

Selon la littérature, la fréquence des polyglobulies augmente l'âge. Les statistiques indiquent un âge moyen au diagnostic de l'ordre de 60 ans avec une incidence égale dans les deux sexes avec un sex- ratio de 1,2 : 1 (26). Très rare avant 40 ans, elle est tout à fait exceptionnelle chez l'enfant.

L'âge maximal au diagnostic dans notre série de cas est de 76 ans. En effet, dans les séries publiées, peu de cas ont été diagnostiqués après 90 ans, c'est probablement à cause du refus d'inclure ces malades très âgés dans un protocole d'exploration et de traitement prédéterminé.

Dans les pays développés, il s'agit d'une maladie assez fréquente mais mal recensée, les chiffres, ainsi, varient entre 5 et 20 cas par million d'individus et par an (27).

A Madagascar, l'incidence de cette maladie n'est pas connue actuellement. Toutefois, on peut dire que sa fréquence est relativement rare par rapport aux autres pathologies hématologiques car nous n'avons retrouvé que 9 cas de polyglobulie vraie suivi régulièrement en 2012 à l'UPFR Hématologie du CHU/JRA. Cette fréquence pourrait être sous-estimée du fait du manque de dépistage et d'un défaut de prescription d'un hémogramme. En plus, de nombreux cas de polyglobulie sont

perdus de vue avant même la confirmation du diagnostic ou au tout début du traitement.

II - DONNEES PHYSIOPATHOLOGIQUES

Connaitre la physiopathologie exacte d'une polyglobulie est devenu un élément clé dans la mise en place d'un diagnostic précis du type de PG. Ce dernier est nécessaire non seulement pour comprendre l'anomalie à l'origine du désordre, mais également pour suggérer un traitement et prévoir le pronostic.

Dans notre étude, seul 3 patients ont pu bénéficier de la recherche de la mutation de JAK 2, dont deux sont revenues positives. En effet, cet examen n'est pas encore disponible en routine dans notre unité, en même temps, c'est un examen qui coûte encore cher. Seuls peu de patients peuvent bénéficier de cet examen. Pourtant, si cet examen est disponible facilement, on pourra éliminer rapidement les polyglobulies secondaires, s'il revient positif ou dans le cas contraire, poursuivre l'investigation sur une cause secondaire.

Si la mutation JAK2V617F est fortement associée à la maladie de Vaquez, il est apparu d'emblée qu'elle n'est pas spécifique de la maladie. La majorité des études s'accorde maintenant sur l'existence d'une mutation JAK2V617F dans 95 % des maladies de Vaquez, 50 à 70 % des thrombocytémies essentielles, et environ 50 % des myélofibroses primitives (26) (27)(28).

La « charge mutationnelle » (pourcentage de JAK2V617F par rapport à JAK2 total) étant souvent élevée lors des polyglobulies de Vaquez, la détection de la mutation par des techniques peu sensibles suffit souvent. Il est alors indispensable de mettre en œuvre une technique de sensibilité suffisante. On trouve dans la littérature scientifique plus d'une quinzaine de techniques différentes permettant de détecter, et souvent de quantifier la mutation JAK2V617F. Il faut simplement retenir que ne sont désormais acceptables pour le diagnostic que les techniques permettant de détecter de faibles charges mutationnelles. Certains auteurs ont proposé de rechercher la mutation sur plaquettes ou polynucléaires purifiés pour augmenter la sensibilité de détection. Mais ces techniques n'ont plus d'intérêt pour la simple détection de la mutation (29).

Ainsi, la découverte de la mutation ponctuelle acquise V617F de Jak2 est une avancée considérable dans la compréhension des mécanismes des PG permettant une leur classification.

III – ETIOLOGIE

Plusieurs étiologies sont à l'origine des polyglobulies et en font une maladie hétérogène. Le diagnostic étiologique d'une polyglobulie comprend les étapes suivantes : tout d'abord, affirmer la polyglobulie vraie par la mesure isotopique du VGT. Ensuite éliminer les étiologies les plus fréquentes de polyglobulie réactionnelle avant de rechercher des arguments en faveur d'une polyglobulie primitive (29, 30).

Dans notre série de cas, nous avons retrouvé l'étiologie de la polyglobulie dans deux de nos cas grâce à la recherche de la mutation JAK2. Pour le reste des cas, même après avoir éliminé toutes les causes de polyglobulie secondaire, les critères de diagnostic que nous avons ne nous permettent pas de confirmer un diagnostic exact.

On peut mentionner que les études faites pour chercher une cause toxique, notamment agents chimiques ou radiations pour rattacher la polyglobulie à une cause toxique, n'ont montré rien de significatif dans les cas que nous avons étudié.

Les polyglobulies posent parfois au clinicien des problèmes de diagnostic étiologique qui peuvent nécessiter le recours à des examens spécialisés. Et souvent, comme dans notre série, l'on arrive à éliminer les causes de PG secondaires mais après, les critères qui permettent de confirmer une cause primitive ne sont pas souvent suffisants.

IV – ORIENTATION DIAGNOSTIQUE

La difficulté du diagnostic de la polyglobulie réside dans l'existence de nombreuses situations de polyglobulie secondaire qu'il faudra éliminer.

Diagnostic clinique

La découverte de la maladie est le plus souvent fortuite, devant la constatation à l'hémogramme d'une augmentation de l'hémoglobine, de l'hématocrite et des globules rouges (31).

Des signes fonctionnels traduisant l'hyperviscosité sanguine peuvent attirer l'attention soit seulement à l'apparition des complications thrombotiques, veineuses ou plus rarement artérielles.

Notre étude rejoint la littérature, car la majorité des cas de polyglobulie est découvert lors d'un hémogramme systématique ou demandé à l'apparition des signes d'hyperviscosité sanguine, mais aucun en stade de complication.

Un sujet parmi les 9 était totalement asymptomatique au moment du diagnostic. Le même cas de PG asymptomatique est rapporté en 2000, chez un homme de 32 ans, dont l'étiologie retenue était l'existence d'hémoglobine hyperaffine par anomalie structurale de la chaîne beta de la globine.

Une splénomégalie est retrouvée dans un peu moins de la moitié des cas toujours de taille modérée.

Diagnostic biologique

- Hémogramme

Chez nos patients le taux d'hémoglobine se situe en moyenne aux alentours de 19g/dl. L'hématocrite est en moyenne de 60% au diagnostic. Le volume globulaire moyen est normal dans la majorité des cas, nous avons observé cependant un cas de microcytose.

Les leucocytes sont normaux ou augmentés, elle est souvent supérieure à 12Giga/l chez nos patients. Une hyperleucocytose a été retrouvée chez deux des neuf patients et 3 d'entre eux présentaient une hyperéosinophilie.

Une thrombocytose modérée est souvent rencontré.

La bonne tolérance habituelle de la polyglobulie explique le retard au diagnostic atteignant souvent des mois, voire des années. Il est habituel de retrouver, sur des numérations anciennes et des taux d'hémoglobine et d'hématocrite anormalement élevés, une hyperplaquetose qui n'ont pas attiré l'attention du médecin dans la mesure où le malade ne se plaignait de rien.

On remarque que le diagnostic de polyglobulie devient de plus en plus fortuit en raison de l'absence fréquente de symptomatologie clinique et de la multiplication des hémogrammes systématiques.

- Médullogramme

Le myélogramme joue un rôle moindre dans le diagnostic de polyglobulie. Néanmoins, il permet de faire un caryotype, mais celui-ci est rarement anormal chez les malades non traités (10 - 20 % des cas), sans anomalie spécifique, ni de valeur pronostique (32).

- Biopsie osteomedullaire

La biopsie médullaire apporte une information éventuelle, lorsqu'on note une densité excessive des mégacaryocytes en l'absence de thrombocytose particulière, et l'existence d'une myélofibrose réticulinique est habituelle dans tous les syndromes myélo-prolifératifs, alors qu'elle est rare dans les PG secondaires (33).

- Biologie moléculaire

La recherche de la mutation JAK2 par les techniques de biologie moléculaire doit donc être rapidement réalisée pour confirmer une PV et éliminer une polyglobulie secondaire. Mais la présence d'une autre mutation de JAK2 que la V617F (mutations situées dans l'exon 12 du gène, décrites en 2007, et qui pourraient expliquer la majorité des PV V617F négatives) doit également être recherchée (34).

- Le dosage de l'érythropoïétine sérique (35)

Cet examen est devenu courant, depuis l'utilisation des immuno-essais. Dans plus de 90 % des cas, les polyglobulies ont un taux anormalement bas. Les PV sont statistiquement différentes des PG secondaires, mais il faut tenir compte de l'hématocrite, parce que des PG secondaires avec un hématocrite très élevé peuvent avoir un chiffre d'érythropoïétine bas. Le dosage de l'érythropoïétine sérique devrait être inclus dans le bilan initial des polyglobulies mais si possible après la correction initiale de l'excès de l'hématocrite, pour montrer que, alors que ce dernier est ramené à 50 %, le taux de l'EPO reste inférieur à 10 UI/l.

- La culture des progéniteurs érythroïdes (6,38)

L'intérêt de la culture des progéniteurs érythroïdes (CPE) dans le diagnostic étiologique des polyglobulies est indiscutable. Selon une étude rétrospective réalisée par Lauvin et al, la CPE a une efficacité diagnostique de 88 %. Elle peut ainsi être utile dans le bilan de certains accidents thromboemboliques en facilitant le diagnostic étiologique des polyglobulies et le traitement précoce s'il s'agit d'une Maladie de Vaquez. Cependant, Les techniques de culture sont chères, non standardisées et disponibles dans peu d'hôpitaux, ce qui en limite l'intérêt comme outil diagnostique de portée générale. D'autre part, sa spécificité n'est pas de 100 %.

Au total, peu d'examens suffisent pour faire le diagnostic, et ne nécessitent en pratique jamais d'hospitalisation. Il est d'autant plus étonnant d'être souvent amené à dépouiller des dossiers lourds, dont la constitution a été coûteuse, et où une grande partie des informations n'a pas d'intérêt pratique.

- Evolution

L'espérance de vie des malades polyglobuliques est, dans les séries publiées, très voisine de celle des patients du même âge (34,35). Mais ceci ne s'applique qu'aux cas traités par des méthodes adéquates, et, surtout, suivis d'une façon satisfaisante. On doit insister sur ce second point, car l'obtention d'une bonne rémission initiale explique, mais ne légitime pas, l'absence d'un suivi convenable. Plusieurs des patients, mis en rémission initialement, nous ont été réadressés ultérieurement à la suite d'un accident vasculaire cérébral, ou d'une thrombose artérielle des membres inférieurs, pouvant avoir amené à une amputation, parce qu'on n'avait pas surveillé leur maladie, et de ce fait manqué le diagnostic de rechute.

C'est le cas de l'un de nos patients, qui jusqu'alors avait une polyglobulie bien stabilisée du fait d'une prise en charge précoce et adéquate mais qui au fil des années, était le sujet d'accident vasculaire cérébral, par manquement au traitement.

A côté de la maintenance de l'hématocrite, les autres facteurs de risques sont, l'âge, l'existence d'antécédents vasculaires, la présence d'un diabète, mais la maintenance du chiffre des plaquettes est d'intérêt discuté. Le degré de la thrombocytose chez les sujets traités n'a pas paru significatif dans les statistiques. Cependant, il est à peu près sûr que les sujets dont les plaquettes sont supérieures à 800 G/l ont un facteur de risque indiscutable. Dans la surveillance, et le traitement de fond des polyglobuliques, la maintenance du chiffre des plaquettes en dessous de ce seuil doit être obtenue (36).

Les manifestations hémorragiques sont rares, sauf en cas d'intervention chirurgicale. Un polyglobulique qui doit être opéré, quelle que soit la raison de l'intervention chirurgicale, doit être mis en rémission complète, sur les trois lignées, si c'est possible, avant l'intervention. Selon certaines publications, en cas d'intervention chirurgicale grave chez un patient polyglobulique mal contrôlé, le risque de mort ou de complications est trois fois supérieur chez ceux mal contrôlés que chez ceux en rémission (37).

Les thromboses veineuses existent, mais ne paraissent pas très fréquentes dans cette maladie sauf comme complication post-opératoire (38).

Enfin, une complication rare, mais observée fréquemment chez le sujet jeune, est la thrombose des veines sus-hépatiques (maladie de Budd-Chiari). Elle apparaît presque exclusivement chez les sujets âgés de moins de 50 ans, souvent moment de la poussée initiale (39). C'est en tout cas une complication grave, avec un taux de mortalité très élevé, et qui légitime que les polyglobulies du sujet jeune soient traitées au moins aussi vite que celles du sujet âgé.

Le risque de cancer chez les polyglobuliques a été étudié dans de nombreuses statistiques. En outre, on pouvait se poser la question du risque cancérigène des thérapeutiques utilisées. Dans l'état actuel, il semble bien qu'il n'y ait pas de risque statistique excessif de cancer épithélial, si on compare les polyglobuliques et les sujets témoins du même âge, et ceci quel que soit le traitement utilisé. (40)

- Traitement (40)

Les saignées doivent être utilisées comme traitement d'attaque, lorsque l'hématocrite dépasse 53 - 55 % chez la femme, 56 - 58 % chez l'homme. C'est en effet une situation où le risque vasculaire lié à l'excès de l'hématocrite ne permet pas d'attendre l'efficacité des autres thérapeutiques. Cette thérapeutique par les saignées doit être utilisée aussi bien chez les sujets relativement jeunes que chez les sujets les plus âgés, et la crainte de l'utiliser chez les sujets de plus de 75 ans est tout à fait illégitime, parce qu'au contraire ces sujets ont un risque vasculaire particulièrement élevé. Elles doivent être suffisantes, et faire baisser le plus rapidement possible l'hématocrite.

Concernant nos sept cas, ils ont reçu comme traitement d'attaque, des saignées pour faire diminuer rapidement l'hématocrite et relayé ensuite par la chimiothérapie comme traitement de fond. Cependant, un des problèmes que nous avons souvent rencontré est l'abandon au long cours du traitement ainsi que des suivis réguliers de l'hémogramme. Pour y remédier, nous essayons, à chaque consultation, de rassurer le patient et surtout de l'informer le plus complètement possible sur sa maladie. Ces patients sont revus périodiquement en consultation spécialisée, tous les 6 mois ou tous les ans, afin de s'assurer de la bonne observance du traitement et de l'absence de survenue de signes évocateurs d'une transformation hématologique.

Les saignées doivent être utilisées comme traitement d'attaque, lorsqu'il y a une polyglobulie sévère, mais non pas comme traitement de fond, à l'exception des sujets très jeunes, notamment les femmes en période d'activité génitale et souhaitant avoir des enfants, à la condition toutefois que la thrombocytose reste en dessous de $800 - 1000 \cdot 10^9/l$.

- les médicaments non radio-mimétiques

L'hydroxyurée est le médicament le plus utilisé, son efficacité est excellente, permettant d'obtenir la rémission dans plus de 90 % des cas, avec peu de toxicité. Il faut noter cependant que, chez les patients âgés de plus de 80 ans, l'hydroxyurée peut être dangereuse, entraînant éventuellement des thrombocytopenies très sévères. Ce traitement doit être exclu chez les patients les plus âgés. Le traitement d'entretien est généralement bien supporté. Enfin, et surtout, l'hydroxyurée qui maintient très

généralement bien la lignée rouge ne maintient souvent pas bien la lignée plaquettaire. Au minimum, une surveillance stricte est nécessaire.

Le Vercyte entraîne lui aussi au moins 90 % de rémission complète, en environ deux mois. Cette rémission est obtenue, comme pour l'hydroxyurée, sur les trois lignées. Ce médicament exige également un traitement d'entretien, bien que les rémissions non entretenues soient plus durables qu'avec l'hydroxyurée. En cas d'arrêt, la rechute survient en quelques mois, alors qu'avec l'hydroxyurée elle survient en quelques semaines.

Deux problèmes se posent concernant ces médicaments. Le premier est celui de l'apparition de résistance. Très peu d'étude sont encore publiées la dessus mais cette hypothèse est indiscutable. Elle est plus fréquente, plus précoce, pour l'hydroxyurée que pour le Vercyte. Dans les cas de résistance, le passage d'un médicament à l'autre peut entraîner une nouvelle rémission, mais ce n'est pas systématique.

Le second et véritable problème est celui du risque de transformation en splénomégalie myéloïde ou en leucémie. Aucune statistique publiée ne donne d'information sur le risque de transformation en splénomégalie myéloïde. Pour ce qui concerne la transformation leucémique, certaines publications de la littérature, mais portant sur peu de cas, sont inquiétantes : un auteur italien indique un risque de transformation en leucémie aiguë chez les sujets traités par le Vercyte peu inférieur à celui observé chez les sujets traités par le P32.

- radiothérapie par le p32 ou usage des radio-mimétiques

Le phosphore radio-actif (P32) a été le premier agent utilisé de façon systématique, et bien étudié, pour le traitement des polyglobulies. C'est, indiscutablement, la thérapeutique de référence. La rémission induite par le phosphore est particulièrement durable, ce qui implique une action sur la cellule souche hématopoïétique très primitive. La durée moyenne de rémission est de l'ordre de 3 ans, avec des cas exceptionnels qui dépassent 8 ou 10 ans. La tolérance du traitement d'attaque est excellente, et la surveillance peut se limiter à une numération faite chaque deux mois.

- Les limites de cette étude

La découverte récente de la mutation JAK2V617F apporte une contribution décisive au diagnostic de la PV puisqu'elle est retrouvée dans plus de 90% des cas. La recherche de cette mutation par les techniques de biologie moléculaire doit donc être rapidement réalisée pour confirmer une maladie de Vaquez et éliminer une polyglobulie secondaire.

Si la recherche de la mutation JAK2V617F se révèle négative, le diagnostic de PV doit alors s'appuyer sur les critères habituels évoqués plus haut.

Cette étude génétique a manqué dans notre travail, seul trois de nos patients a pu en bénéficier. Le diagnostic étiologique a été basé seulement sur la clinique et par élimination des causes secondaires dans la majorité des cas.

SUGGESTIONS ET PERSPECTIVES

SUGGESTIONS ET PERSPECTIVES

Nous avons pu constater tout que la polyglobulie est une pathologie, moins fréquente que l'anémie, mais dont les complications peuvent être aussi bien redoutables. Il se peut cependant que cette fréquence soit largement sous estimée, dues patients auraient pu échapper au diagnostic soit par ignorance, soit par éloignement.

L'imperfection des moyens aussi bien pour le clinicien que le biologiste entrave la recherche des autres pathologies pour asseoir le diagnostic de PG. Mais malgré ces obstacles matériels, le diagnostic de cette maladie est tout à fait possible à Madagascar et dans tous les pays en voie de développement.

Pour améliorer le diagnostic de cette maladie, et ainsi connaître l'incidence réelle de cette maladie à l'échelle nationale, nous nous permettons d'avancer quelques suggestions.

Favoriser les enseignements post universitaires afin de faire connaître aux praticiens l'importance de la recherche de cette maladie, du fait des complications essentiellement thrombotiques.

Encourager les médecins pour la demande d'un hémogramme systématique chez tout patient de plus de 50 ans.

Suspecter une PG devant la persistance d'une augmentation du taux d'hématocrite et hémoglobine pendant une période de plus de deux mois après avoir éliminer au préalable les causes de PG secondaire, notamment, la déshydratation.

Connaître la conduite à tenir devant une polyglobulie pour éviter les complications.

CONCLUSION

CONCLUSION

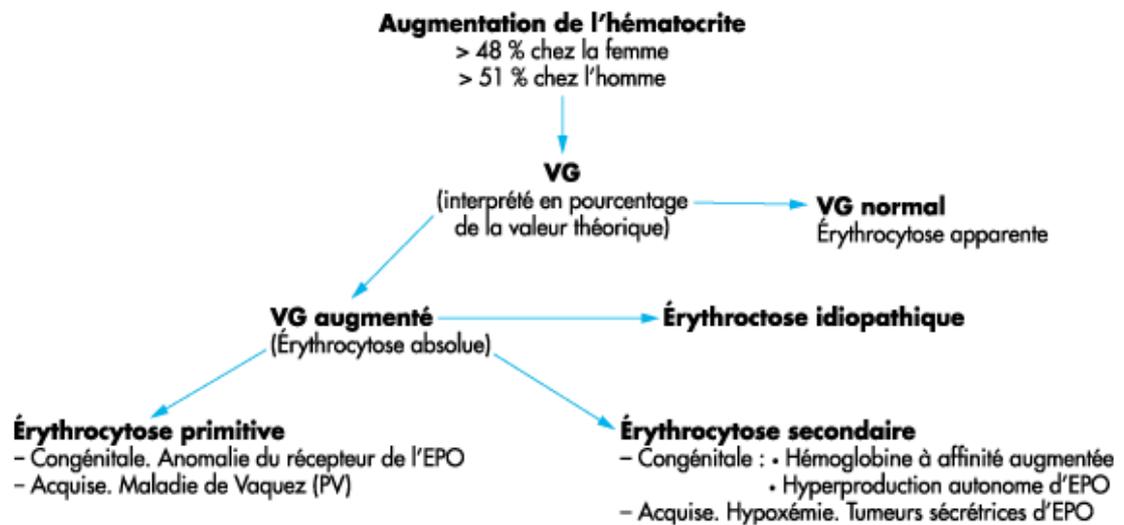
La Polyglobulie est un désordre hétérogène qui peut résulter de mécanismes moléculaires différents. Certaines polyglobulies étaient autrefois ainsi classées par manque d'informations sur les mécanismes physiopathologiques. Actuellement, elles sont souvent mieux comprises mais tous les mécanismes expliquant les polyglobulies sont encore loin d'être élucidés.

Le diagnostic précis du type de PG est nécessaire non seulement pour comprendre l'anomalie génétique à l'origine du désordre, mais également pour suggérer un traitement et prévoir le pronostic.

Par ailleurs, le risque majeur des polyglobuliques est un risque vasculaire. Seul un suivi rigoureux et régulier permet d'éviter l'apparition des complications. Néanmoins, Dans la très grande majorité des cas, lorsque le traitement est équilibré et efficace, le patient doit pouvoir mener une vie normale, sans restriction aucune, ni sur le plan professionnel, ni sur le plan social.

Enfin, à Madagascar, même si tous les examens d'exploration d'une polyglobulie ne sont pas disponibles ; il est tout à fait possible avec les moyens qu'on a de suivre et de traiter de façon adéquate les patients pour qu'ils puissent mener une vie quotidienne la plus proche possible de la normale.

ANNEXES



Annexe 1: Classement d'une polyglobulie à partir du volume globulaire (21)

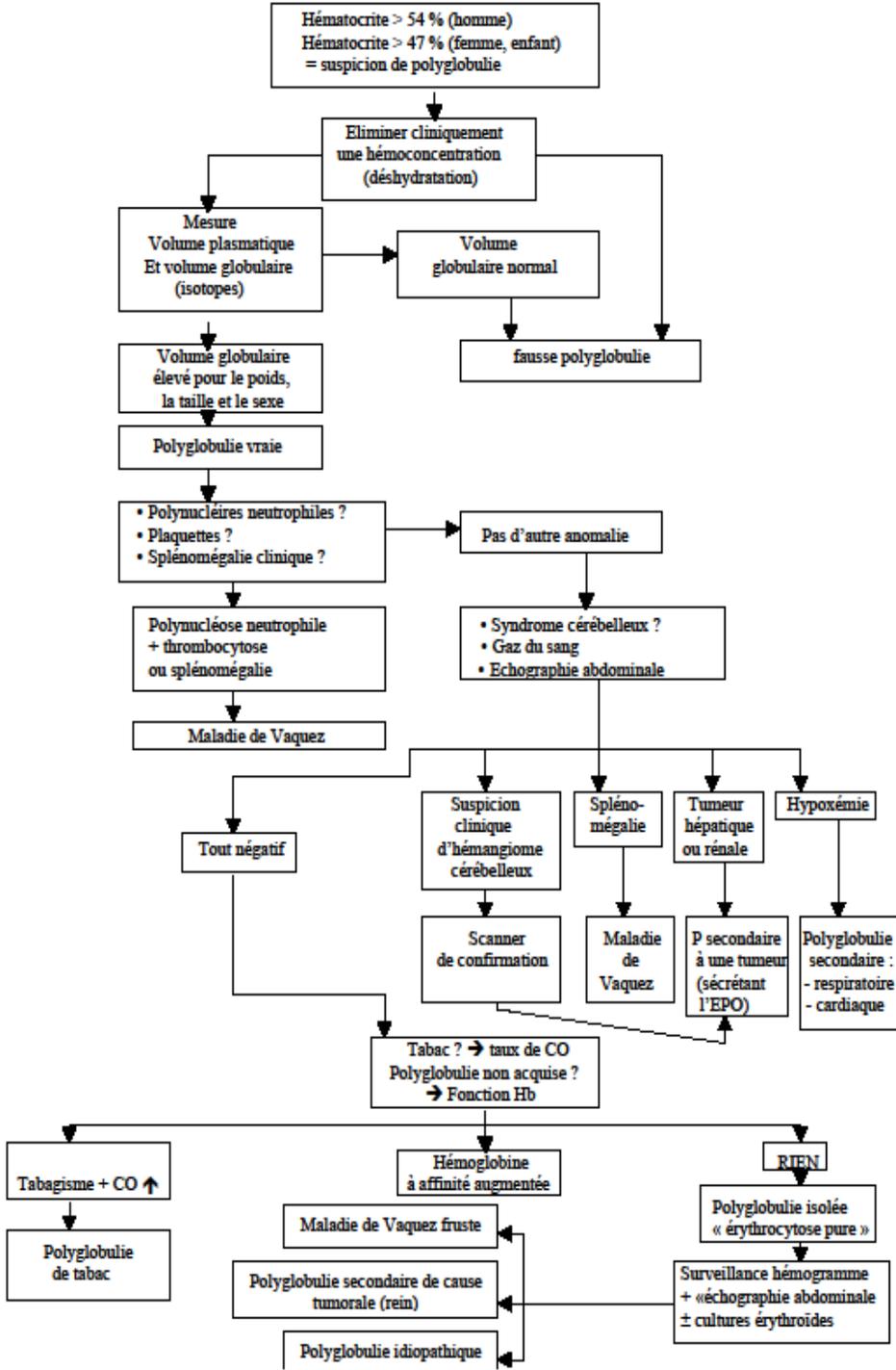


Annexe 2: Aspect macroscopique d'une polyglobulie comparée à du sang normal

(de gauche à droite : polyglobulie- sang normal-polyglobulie)

Laboratoire Hématologie CHU-JRA

DIAGNOSTIC D'UNE POLYGLOBULIE



Annexe 3 : Diagnostic d'une Polyglobulie (23)

Annexe 4 : Critères de la PV selon le PVSG (1996) et l'OMS (2001) (23)

Critères du PVSG modifié Pearson (1996)	Critères de l'OMS (WHO, 2001)
A1: Masse sanguine (>25% de théorique) ou Ht >60% chez l'homme, 56% chez la femme	A1: Masse sanguine > à 25% de la théorique ou Hb >18.5 g/dl chez l'homme, 16 g/dl chez la femme
A2: Pas de cause PG secondaire	A2: Pas de cause de PG secondaire
A3: Splénomégalie	A3: Splénomégalie
A4: Marqueur de clonalité	A4: Anomalie cytogénétique clonale (sauf Philadelphie)
	A5: Présence d'EEC.
B1: Thrombocytose (plaquettes >400000/mm ³)	B1: Thrombocytose > 400 x 10 ⁹ /mm ³
B2: Hyperleucocytose à PNN (>10000/mm ³)	B2: Hyperleucocytose > 12 x 10 ⁹ /mm ³
B3: Splénomégalie radiologique	B3: Myélofibrose diffuse avec hyperprolifération érythroïde et mégacaryocytose à la BOM.
B4: Présence d'EEC, ou taux sériques d'Epo bas.	B4: Taux sérique d'Epo diminué
A1+A2+ 1 autre critère A pose le diagnostic de PV	A1+A2+ 1 autre critère A pose le diagnostic de PV
A1+A2+ 2 critères B pose le diagnostic de PV.	A1+A2+ 2 critères B pose le diagnostic de PV.

PVSG : Polycythemia Vera Study Group ; OMS : Organisation mondiale de la Santé ; PNN : polynucléaires neutrophiles ; Epo : érythropoïétine ; VGI : volume globulaire isotopique.

Critères majeurs

1. Hb >18.5 g/dL chez l'homme, 16.5 g/dL chez la femme ou une autre évidence de l'augmentation de la masse sanguine.
2. La présence de JAK2 Val617Phe ou d'autres mutations similaires fonctionnelles comme les mutations de JAK2 exon 12.

Critères mineurs

1. Biopsie de moelle montrant une hypercellularité pour l'âge avec prédominance des lignées érythroïde, granulocytaire, et mégacaryocytaire.
2. Niveau d'érythropoïétine sérique au-dessous de la normale.
3. La formation de: EEC (Endogenous erythroid colony) in vitro.

Le diagnostic exige la présence des deux critères majeurs et 1 critère mineur

Ou la présence du premier critère majeur ainsi que 2 critères mineurs.

Annexe 5: Critères révisés de l'OMS pour le PV 2007 (20)



Annexe 6 : Automate pour analyse hématologique (ABX Pentra 80 ®)

BIBLIOGRAPHIE

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1- Christiane Joffin. Hématologie et immunologie. centre régional de documentation pédagogique d'Aquitaine 2000 ; 35-6.
- 2- Ingley E, Tilbrook PA, Klinken SP. New insights into the regulation of erythroid cells. *IUBMB Life* 2004; 56: 177-84.
- 3- Zanjani ED, Poster J, Burlington H, Mann LI, Wasserman LR. Liver as the primary site of erythropoietin formation in the fetus. *J Lab Clin Med* 1977; 89:640-4.
- 4- The chronic myelo-proliferative disorders. *J.J. Michiels edit. Leukemia. Lymphoma* 1996; 22: 1-172.
- 5- Barosi G. Investigation and management of polycythaemia/erythrocytosis. *Blood* 2009 ; 113 : 4829-4833.
- 6- Chasis JA, Mohandas N. Erythroblastic islands: niches for erythropoiesis. *Blood* 2008; 112: 470-8.
- 7- Koury MJ, Sawyer ST, Brandt SJ. New insights into erythropoiesis. *Curr Opin Hematol* 2002; 9: 93-100.
- 8- Porcher C, Swat W, Rockwell K, Fujiwara Y, Alt FW, Orkin SH. The T cell leukemia oncoprotein SCL/tal-1 is essential for development of all hematopoietic lineages. *Cell*. 1996; 86: 47-57.
- 9- Flanagan JG, Chan DC, Leder P. Transmembrane form of the kit ligand growth factor is determined by alternative splicing and is missing in the Sld mutant. *Cell* 1991; 64:1025-35.

- 10- Winter SS, Howard T, Ware RE. Regulation of expression of the human erythropoietin receptor gene. *Blood Cells Mol Dis* 1996; 22: 214-24.
- 11- Zon LI, Youssoufian H, Mather C, Lodish HF, Orkin SH. Activation of the erythropoietin receptor promoter by transcription factor GATA-1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991; 88: 10638-41.
- 12- Zamai L, Secchiero P, Pierpaoli S, Bassini A, Papa S. TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) as a negative regulator of normal human erythropoiesis. *Blood* 2000; 95: 3716-24
- 13- Arcasoy MO, Amin K, Chou SC, Haroon ZA, Varia M. Erythropoietin and erythropoietin receptor expression in head and neck cancer: relationship to tumor hypoxia. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 20-7.
- 14- Vardiman JW, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood* 2009 ; 114: 937-951.
- 15- Conférence de Consensus sur les polyglobulies. *Nouv Rev Fr Hematol* 1994; 36 : 141-208.
- 16- Courtois G, Vandekerckhove J, Dussiot M, Kersual J. L'érythropoïèse tardive: une mort avortée. *Hématologie* 2007;13: 400-8.
- 17- Wasserman et al. Polycythemia Vera and the myelo-proliferative disorders. *Philadelphia* 1994; 361 pages.
- 18- Leimberg MJ, Prus E, Konijn AM, Fibach E. Macrophages function as a ferritin iron source for cultured human erythroid precursors. *J Cell Biochem* 2008; 103:1211-8.

- 19- Buck I, Morceau F, Cristofanon S, Heintz C, Chateauvieux. Tumor necrosis factor alpha inhibits erythroid differentiation in human erythropoietin-dependent cells involving p38 MAPK pathway, GATA-1 and FOG-1 downregulation and GATA-2 upregulation. *Biochem Pharmacol*. 2008. 100-114.
- 20- Zermati Y, Fichelson S, Valensi F. Transforming growth factor inhibits erythropoiesis by blocking proliferation and accelerating differentiation of erythroid progenitors. *Exp Hematol* 2000; 28:885-94.
- 21- Zamai L, Secchiero P, Pierpaoli S. TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) as a negative regulator of normal human erythropoiesis. *Blood* 2000; 95:3716-24.
- 22- Lin FK, Suggs S, Lin CH, Browne JK et al. Cloning and expression of the human erythropoietin gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82: 7580-4.
- 23- Lacombe C, Mayeux P. Biology of erythropoietin. *Haematologica* 1998; 83: 724-32.
- 24- Goldberg MA, Glass GA. The regulated expression of erythropoietin by two human hepatoma cell lines. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 7972-6.
- 25- Pearson TC, Messinezy M. The diagnostic criteria of polycythaemia rubra vera. *Leuk Lymphoma* 1996; 22 Suppl 1: 87-93.
- 26- Baxter EJ, Scott LM, Campbell PJ, East C, Fourouclas N, Swanton S, Vassiliou GS, Bench AJ, Green AR. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. *Lancet* 2005; 365: 1054-61
- 27- Eastwood A, Hopkins WG. Stability of hemoglobin mass over 100 days in active men. *J Appl Physiol* 2008; 104: 982-5.

- 28-James C, Ugo V, Le Couédic. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera. *Nature* 2005; 434: 1144-8.
- 29-Vainchenker W, Constantinescu SN. A unique activating mutation in JAK2(V617F) is at the origin of polycythemia vera and allows a new classification of myeloproliferative diseases. *Am Soc Hematol Educ Program* 2005; 195-200.
- 30-Rain JD. Maladie de Vaquez. *Rev. Prat.* 2005; 55: 1659-68.
- 31-Guidelines for the diagnosis, investigation and management of polycythaemia/erythrocytosis. *British Journal of Haematology* 2005; 130: 174-95.
- 32-Thiele, J., Kvasnicka, H.M., Zankovich, R. & Diehl, V. The value of bone marrow histology in differentiating between early stage Polycythemia vera and secondary (reactive) Polycythemia. *Haematologica* 2001; 86: 368-74.
- 33-Najean Y., Rain JD for the French Polycythemia Study Group . Treatment of polycythemia vera: the use of hydroxyurea and pipobroman in 292 patients under the age of 65 years. *Blood* 1997; 90:3370.
- 34-Kralovics R, Guan Y, Prchal JT. Acquired uniparental disomy of chromosome 9p is a frequent stem cell defect in polycythemia vera. *Exp Hematol* 2002; 30: 229-36.
- 35-Pierre R, Imbert M, Thiele J, Vardiman JW. World Health Organization Classification of Tumours; Pathology and Genetics of Tumours of Hematopoietic and Lymphoid Tissues. *London* 2001; 32-34.

- 36- Teofili L, Martini M, Cenci T. Epigenetic alteration of SOCS family members is a possible pathogenetic mechanism in JAK2 wild type myeloproliferative diseases. *Int J Cancer* 2008; 123 (7) :1586-92.
- 37- Tepperman AD, Curtis JE, McCulloch EA. Erythropietic colonies in cultures of human marrow. *Blood* 1974; 44:659-69.
- 38- Tong W, Zhang J, Lodish HF. Lnk inhibits erythropoiesis and Epo-dependent JAK2 activation and downstream signaling pathways. *Blood* 2005; 105: 4604-12.
- 39- Wajcman H, Kister J, Galacteros F. Hb Saint Nazaire (beta 103[G5]Phe-->Ile): a new example of polycythemia due to a hemoglobin variant with increased oxygen affinity. *Am J Hematol* 1993; 44:16-21.
- 40- Zang H, Sato K, Nakajima H. The distal region and receptor tyrosines of the Epo receptor are non-essential for in vivo erythropoiesis. *EMBO J.* 2001; 20:3156-66.

PERMIS D'IMPRIMER

LU ET APPROUVE,

Le Président du mémoire

Signé : Professeur **RASAMINDRAKOTROKA Andry**

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Le Doyen de la Faculté de Médecine d'Antananarivo

Signé : Professeur **ANDRIAMANARIVO Mamy Lalatiana**

Nom et prénom : FENOMANANA Jocia

Titre de mémoire : POLYGLOBULIE A L'UPFR HEMATOLOGIE

Rubrique : Biologie médicale

Nombre de figure : 09

Nombre de pages : 57

Nombre de tableaux : 08

Nombre de bibliographie : 40

RESUME

La polyglobulie est une pathologie hématologique courante dont la fréquence est souvent sous-estimée par rapport à l'anémie.

L'objectif de ce travail est de rapporter des cas de polyglobulie vus à l'UPFR-Hématologie pour améliorer le diagnostic et la prise en charge des patients.

Selon cette étude, le pic de fréquence de la polyglobulie est à 60 ans. Deux patients sur les sept étudiés ont pu avoir un diagnostic précis grâce à la recherche de la mutation JAK2. Par ailleurs, l'importance de l'hémogramme est à souligner, c'est à la foi un moyen d'orientation diagnostique et de surveillance important.

Concernant le traitement les saignées sont utilisées comme traitement d'attaque, relayée ensuite par la chimiothérapie.

Mots clés : pathologie – polyglobulie – anémie – hématologie – diagnostic

Directeur de mémoire : Pr. RASAMINDRAKOTROKA Andry

Adresse de l'auteur : Lot IJ 7 Ter Ambavahaditokana Itaosy – Antananarivo (102).

SUMMARY

The polyglobulia is a typical hematological pathology which frequency is underestimated as compared with the anemia.

This work is to report some cases of polyglobulia at the UPFR-Hématologie to improve the diagnosis and the patient care.

The pick of polyglobulia's frequency is at 60 years old. Only two patients in the seven we have reported benefit from the research of JAK2 mutation and have diagnosis.

Bloods numeration is an important means of supervision and help to make diagnosis. The treatment goes by "saignées" and chemotherapy.

Key words : pathology – polyglobulia – anemia – hematology – diagnosis

Thesis advisor : Pr. RASAMINDRAKOTROKA Andry

Author's address : Lot IJ 7 Ter Ambavahaditokana Itaosy – Antananarivo (102).