

THROMBOCYTEMIE ESSENTIELLE

Aspects cliniques et biologiques

J.J. Kiladjian

Hôpital Avicenne
Université Paris XIII

LES SYNDROMES MYELOPROLIFERATIFS

- ✓ Proliférations clonales
- ✓ Cellules myéloïdes
- ✓ Dérivées d'un progéniteur néoplasique
- ✓ Maturation relativement normale
- ✓ Evolution leucémique possible
- ✓ Différences MDS :
 - Hématopoïèse efficace
 - Absence de dysplasie

CLASSIFICATION OMS

✓ Myeloproliferative diseases

- Chronic myelogenous leukemia
- Chronic neutrophilic leukemia
- Chronic eosino. leukemia, HES
- Chronic idiopathic myelofibrosis
- Polycythaemia vera
- Essential thrombocythaemia
- MPD, unclassifiable

✓ Myelodysplastic / MPD

- Chronic myelomonocytic leukemia
- Atypical CML
- JMML
- Other MDS/MPD, unclassifiable

EPIDEMIOLOGIE

Ruggeri, Ann Intern Med, 2003

- ✓ Etude prospective italienne de 1993 à 1996
- ✓ 10000 sujets sains inclus (age < 65 ans)
- ✓ Thrombocytose > $400 \cdot 10^9/l$ dans 99 cas
- ✓ Confirmée dans 8 cas (8%)
- ✓ 3 avaient une TE, 1 a développé une TE
- ✓ Prévalence de 400 cas par million
(PV : $300/10^{12}$)

CRITERES DIAGNOSTIQUES DE TE PVSG

- ✓ Thrombocytose $> 600.10^9/l$
- ✓ VGI normal ou Hb < 13 g/dl
- ✓ Absence de fer MO, et absence d'augmentation > 1 g de l'Hb après traitement martial
- ✓ Fibrose collagène absente ou $< 1/3$ BOM si erythro-myélémie ou splénomégalie
- ✓ Absence de chromosome Philadelphie

CRITERES DIAGNOSTIQUES DE TE

Europe - TVSG

Clinical criteria		Pathological criteria	
A1	Persistent increase of platelet count: in excess of $400 \times 10^9/l$	B1	Predominant proliferation of enlarged to giant megakaryocytes with hyperlobulated nuclei and mature cytoplasm, lacking conspicuous cytological abnormalities. No proliferation or immaturity of granulopoiesis or erythropoiesis
A2	Normal spleen or only minor splenomegaly on echogram		
A3	Normal or increased LAP-score, and normal ESR	B2	No or only borderline increase in reticulin
A4	Spontaneous megakaryocyte colony formation (CFU-Meg) and or endogenous erythroid colony formation (EEC)		
A5	No signs or cause of reactive thrombocytosis (RT)		
A6	No preceding or allied other subtype of MPD, CML or MDS		
A7	Absence of the Ph-chromosome		

CRITERES DIAGNOSTIQUES DE TE OMS

- ✓ Thrombocytose $> 600.10^9/l$
- ✓ BOM :
 - Prolifération lignée MK
 - Grands MK matures
- ✓ Absence d'argument pour :
 - PV
 - LMC
 - Myélofibrose
 - MDS
 - Thrombocytose réactionnelle
 - *Thrombocytose familiale
(mutations TPO)*

CRITERES DIAGNOSTIQUES DE TE

En conclusion :

- ✓ Absence de critère positif
- ✓ Diagnostic d'élimination
- ✓ Procédure diagnostique longue
- ✓ Plus ou moins invasive et coûteuse

CRITERES DIAGNOSTIQUES DE TE jusqu'ou aller ?

- ✓ Eliminer une thrombocytose réactionnelle :

Finding	Clonal Thrombocytosis*	Secondary (Reactive) Thrombocytosis
Splenomegaly	Yes, in about 40% of patients	No
Peripheral-blood smear	Giant platelets	Normal platelets
Platelet function	May be abnormal	Normal
Bone marrow megakaryocytes		
No.	Increased	Increased
Morphologic features	Giant, dysplastic forms with increased ploidy; associated with large masses of platelet debris	Normal

CRITERES DIAGNOSTIQUES DE TE jusqu'ou aller ?

- ✓ Eliminer une thrombocytose réactionnelle :

Transient processes

Acute blood loss

Recovery ("rebound") from thrombocytopenia

Acute infection or inflammation

Response to exercise

Sustained processes

Iron deficiency

Hemolytic anemia

Asplenia (e.g., after splenectomy)

Cancer

Chronic inflammatory or infectious diseases

Connective-tissue disorders

Temporal arteritis

Inflammatory bowel disease

Tuberculosis

Chronic pneumonitis

Drug reactions

Vincristine

All-trans-retinoic acid

Cytokines

Growth factors

CRITERES DIAGNOSTIQUES DE TE

jusqu'ou aller ?

- ✓ Eliminer une LMC :
 - 1 à 3% des LMC ont une thrombocytose isolée
(Savage, BJH, 1997 ; Emilia, Cancer Genet Cytogenet, 1998)
 - Avantages caryotype médullaire :
 - Cytologie MDS
 - 5q-
 - Autre anomalie clonale

CRITERES DIAGNOSTIQUES DE TE jusqu'ou aller ?

- ✓ Eliminer une polyglobulie :
 - 50% des PV ont une thrombocytose
(Kiladjian, Hematol J, 2003)
 - Souvent masquée par carence martiale
 - Pronostic « vasculaire » très différent

CRITERES DIAGNOSTIQUES DE TE jusqu'ou aller ?

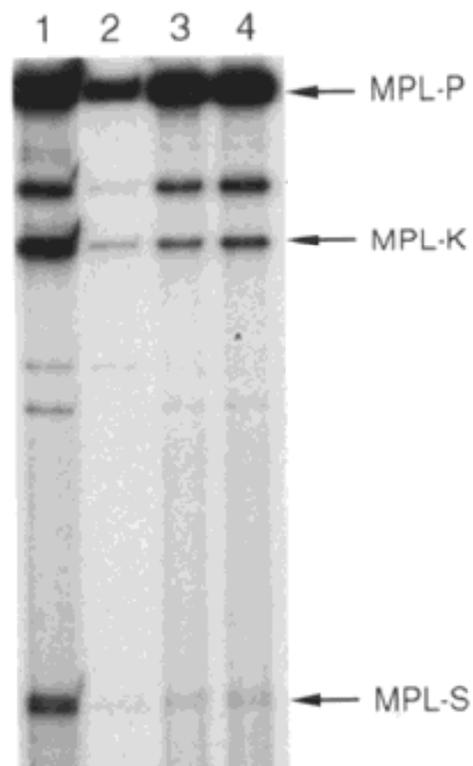
- ✓ Bilan souhaitable :
 - NFS (hémolyse, asplénie, SM, MDS, LMC)
 - Bilan martial, Sd inflammatoire
 - Echo abdominale
 - Masse sanguine
 - Bcr-abl sang
 - BOM (si doute, protocole, ...)

CULTURES DE PROGENITEURS MK

- ✓ Pousse « spontanée » CFU-MK :
- ✓ A partir de PBMC (*Li, Br J Haematol, 1996*)
 - Pousse dans 6/6 TE
 - Inhibition par ASO anti-mpl
- ✓ A partir de CD34+ (*Taksin, Blood, 1999*)
 - Pousse dans 20/20 TE
 - Inhibition par MPLs

NOUVEAUX MARQUEURS : MPL

- ✓ Etude des isoformes de c-mpl :



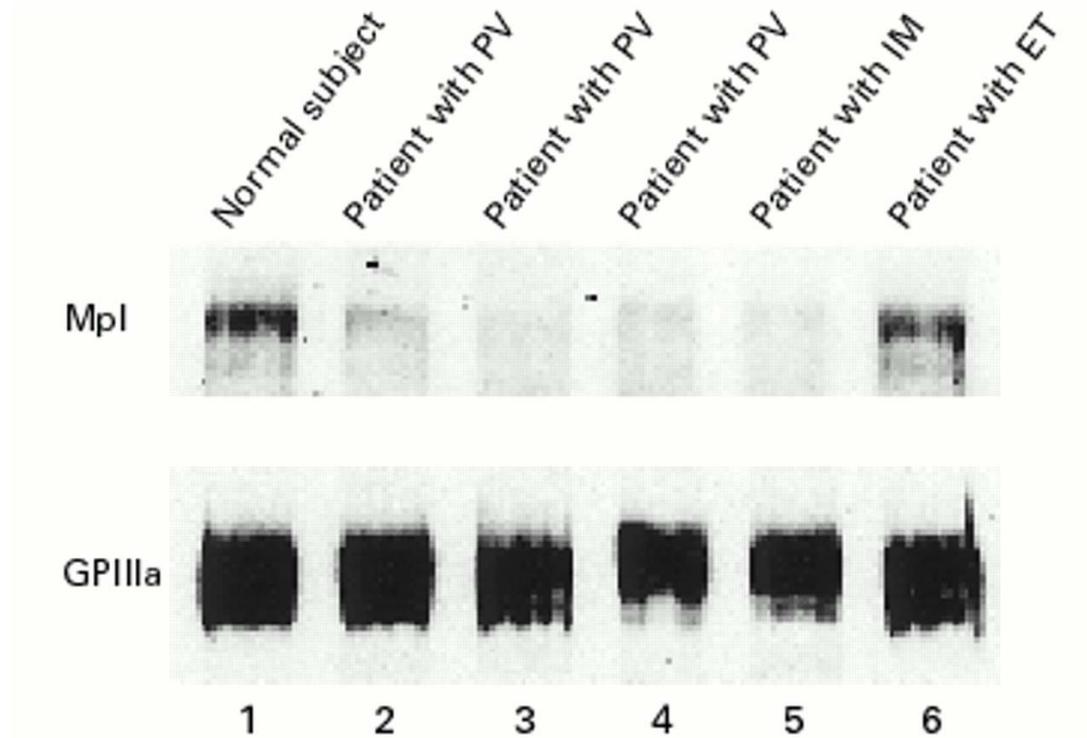
- 2 nouvelles isoformes
- Pas de différence d'expression relative des isoformes

NOUVEAUX MARQUEURS : MPL

- ✓ Recherche de mutations :
 - Absence de mutation (2 polymorphismes)
par séquençage ADNc plaquettaire
(Kiladjian, Leukemia, 1997)
 - Absence de mutation (1 polymorphisme)
par séquençage ADN leucocytaire
(Taksin, Blood, 1999)
 - Mpl Baltimore
(Moliterno, PNAS, 2004)

NOUVEAUX MARQUEURS : MPL

- ✓ Anomalies d'expression :



NOUVEAUX MARQUEURS : PRV1

Diagnosis	PRV-1 Northern blot		
	Number of patients	PRV-1-positive	PRV-1-negative
Patients	30	15	15
Healthy controls	34	0	34

NOUVEAUX MARQUEURS : PRV1

	PRV-1-positive	PRV-1-negative	<i>p</i> value
	Median (range or %)	Median (range or %)	
Age at diagnosis	43 (22–59)	50 (28–78)	0.169
Time between diagnosis and sample (years)	7.4 (0.4–17.2)	5.2 (0.8–10.7)	0.180
Hemoglobin (g/dl)			
a	14.7 (10.4–16.0)	13.4 (11.3–15.7)	0.125
b	14.3 (11.5–16.5)	13.7 (10.4–16.2)	0.636
Hematocrit (%)			
a	43.0 (32–49)	41.0 (35–45)	0.119
b	42.0 (36–50)	41.0 (32–47)	0.619
Platelets ($\times 10^9/l$)			
a	940 (648–1928)	930 (623–1715)	0.901
b	640 (187–1421)	655 (322–1150)	0.812
Leukocytes ($\times 10^9/l$)			
a	9.7 (7.6–43.5)	7.8 (4.9–16.0)	0.099
b	8.0 (2.3–13.4)	7.3 (3.1–10.4)	0.390
Transition to PV	6/15 (40%)	0/15 (0%)	0.017
Thromboembolic or microcirculatory complications	12/15 (80%)	4/15 (26%)	0.003

NOUVEAUX MARQUEURS

✓ Comparaisons :

Clonality	PRV-1/GAPDH	BFU-E response to Epo
Clonal	8.51 ^x	EEC
Clonal	1.65	EEC
Clonal	1.40	EEC
Clonal	0.21	EEC
Clonal	35.38 ^x	Normal
Clonal	1.29	Normal
Clonal	0.44	Normal
Clonal	0.02	Normal
Poly	0.06	HS
Poly	0.80	HS
Poly	0.07	Normal
Poly	1.8	Normal

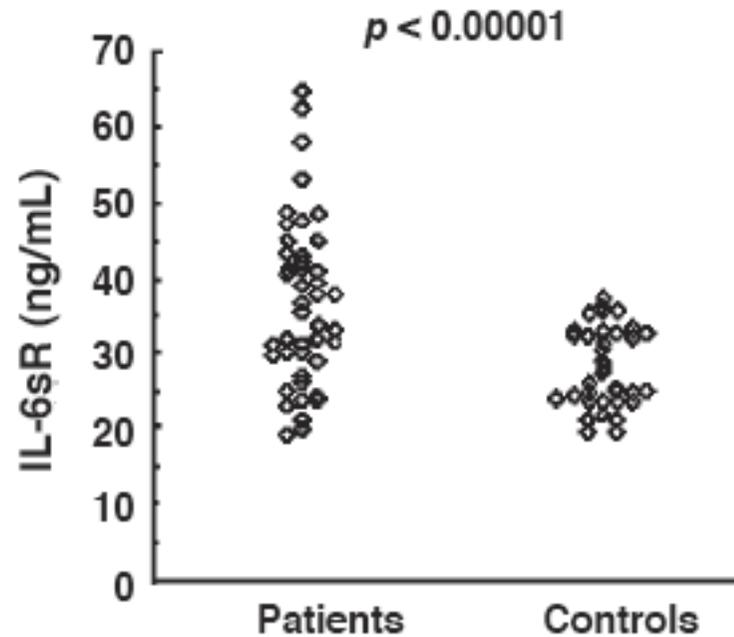
NOUVEAUX MARQUEURS

✓ Comparaisons :

MPL																									
CD61																									
MPL	□	□	□	□	□	L	□	□	□	□	□	L	L	□	□	L	L	L	□	□	L	L	□	L	
PRV (ΔC_T)	-2	3	-1	-5	-4	0	0	0	9	6	4	-5	0	0	4	-5	0	0	5	1	-6	1	-2	3	
EEC	+	+	+	+	nd	nd	nd	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	nd	-	
NFIB (ΔC_T)	19	15	17	17	16	10	15	16	12	16	16	13	15	16	17	16	16	18	17	16	16	14	9	16	
9pLOH	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
diagnosis	P	P	P	P	P	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	M	M	M	M	

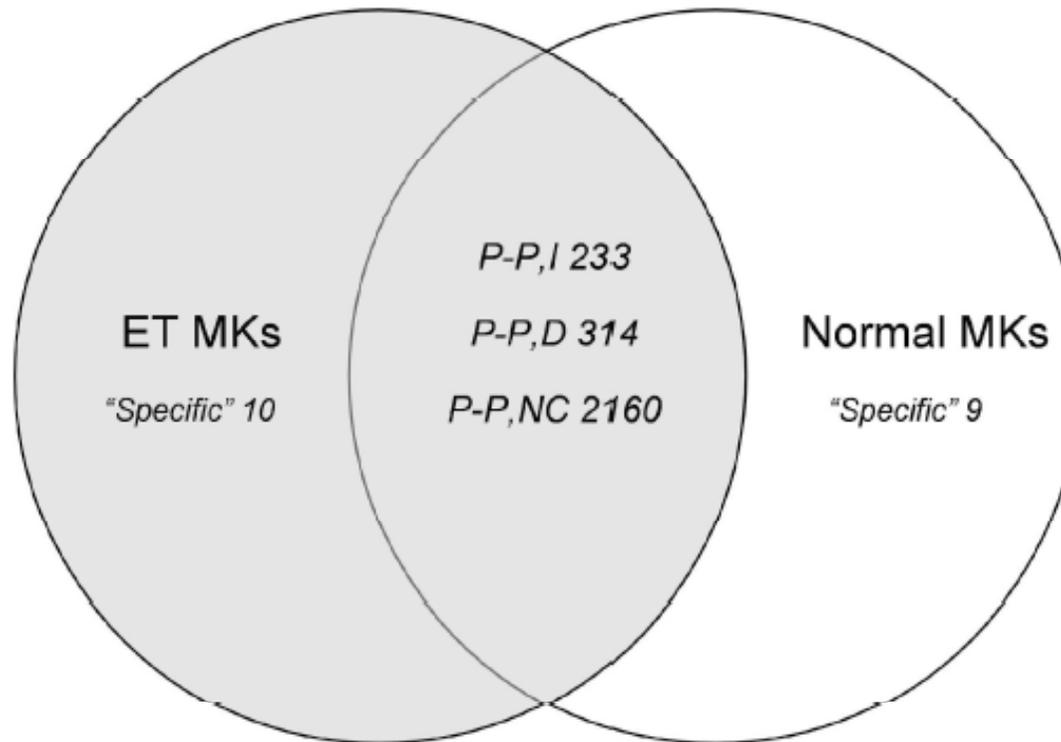
NOUVEAUX MARQUEURS

- ✓ Taux élevés de R-IL-6 soluble :

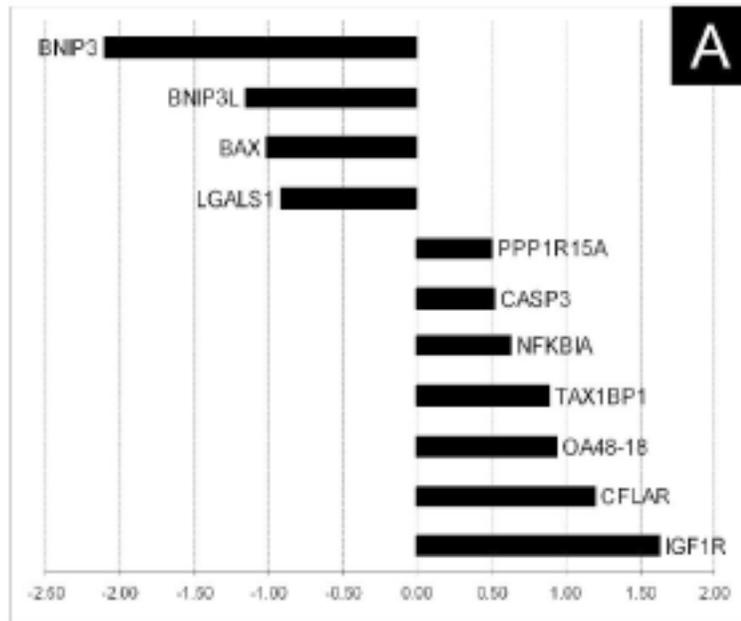


GENOMIQUE

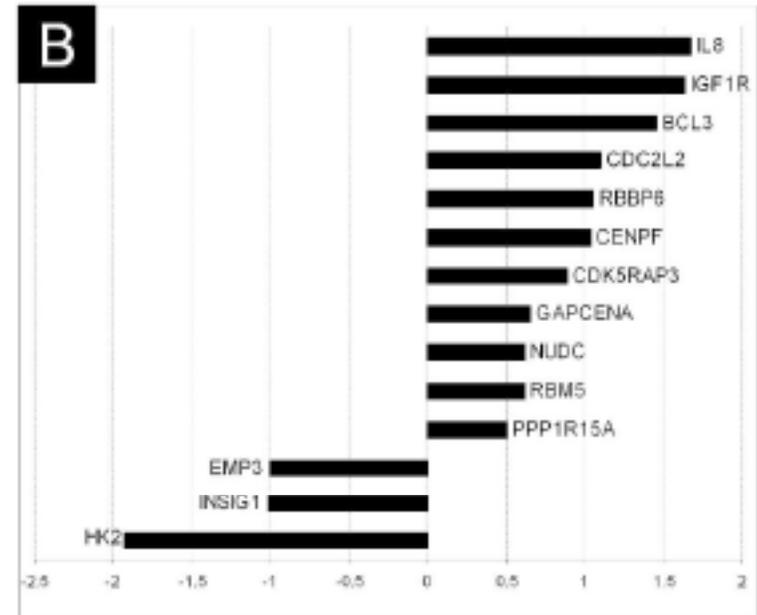
- ✓ MK obtenus en culture (CD34 + TPO)
- ✓ Comparaisons entre « pools »



GENOMIQUE

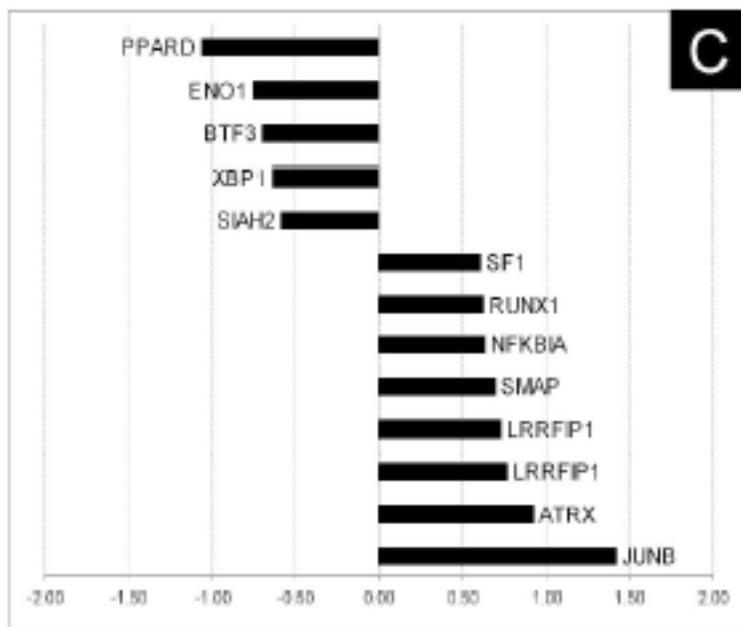


Apoptose

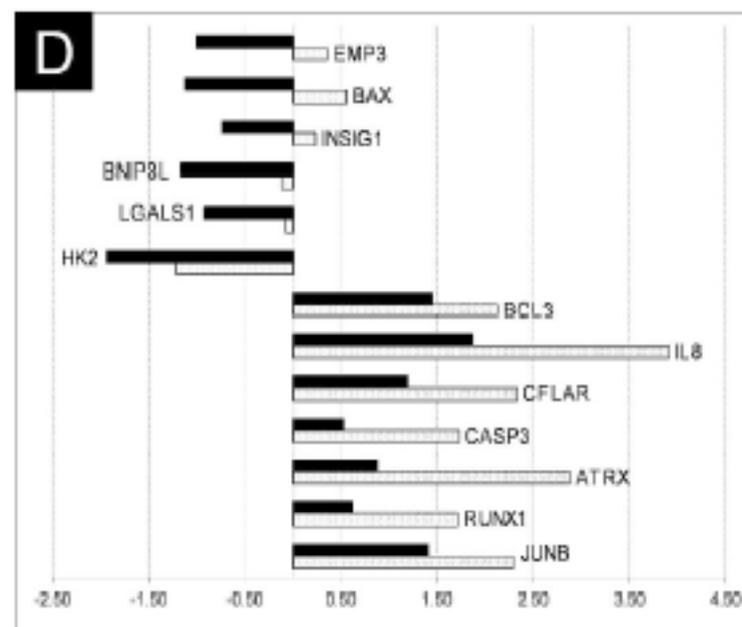


Cycle cellulaire

GENOMIQUE



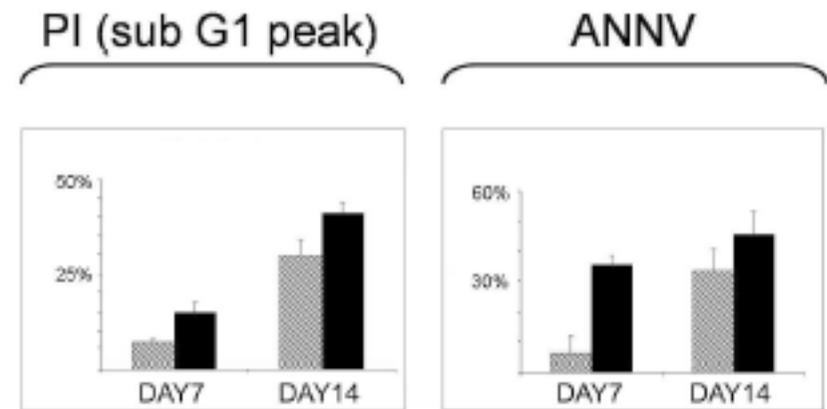
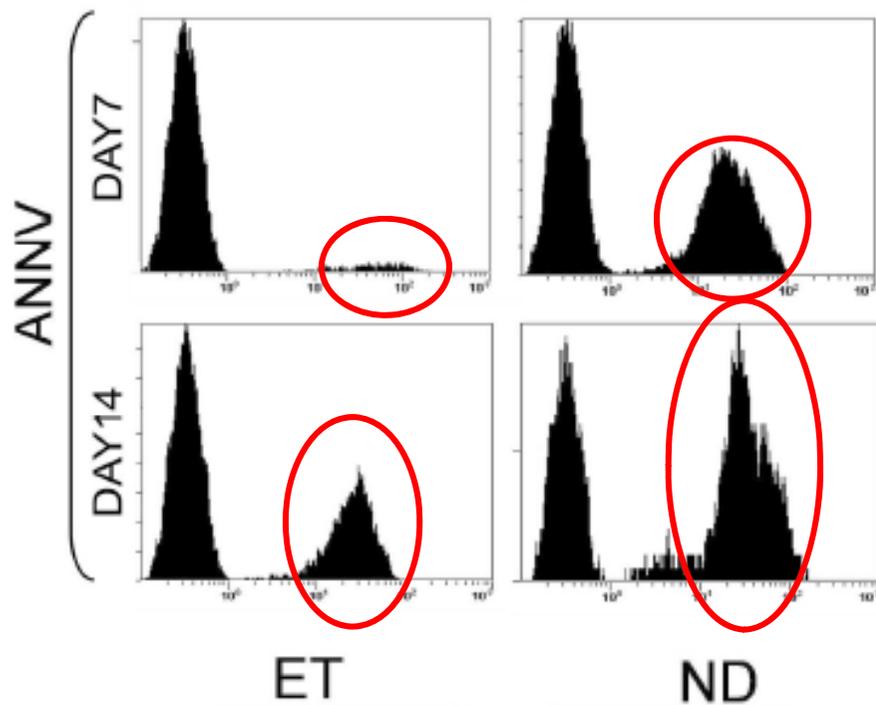
Facteurs de transcription



Confirmation PCR

GENOMIQUE

Apoptose



CRITERES DIAGNOSTIQUES DE TE jusqu'ou aller ?

- ✓ Bilan souhaitable :
 - NFS (hémolyse, SM, MDS, LMC)
 - Bilan martial, Sd inflammatoire
 - Echo abdominale
 - Masse sanguine
 - Bcr-abl sang
 - BOM (si doute, protocole, ...)

CRITERES DIAGNOSTIQUES DE TE jusqu'ou aller ?

- ✓ Bilan souhaitable :
 - NFS (hémolyse, SM, MDS, LMC)
 - Bilan martial, Sd inflammatoire
 - Echo abdominale
 - Masse sanguine
 - Bcr-abl sang
 - BOM (si doute, protocole, ...)
 - **PRV1**

CRITERES DIAGNOSTIQUES DE TE jusqu'ou aller ?

- ✓ Bilan souhaitable :
 - NFS (hémolyse, SM, MDS, LMC)
 - Bilan martial, Sd inflammatoire
 - Echo abdominale
 - Masse sanguine
 - Bcr-abl sang
 - BOM (si doute, protocole, ...)
 - PRV1
 - Clonalité, Cultures progéniteurs

CRITERES DIAGNOSTIQUES DE TE jusqu'ou aller ?

- ✓ Bilan souhaitable :
 - NFS (hémolyse, SM, MDS, LMC)
 - Bilan martial, Sd inflammatoire
 - Echo abdominale
 - Masse sanguine
 - Bcr-abl sang
 - BOM (si doute, protocole, ...)
 - PRV1
 - Clonalité, Cultures progéniteurs
 - Micro-array