

UNIVERSITE DE NANTES

FACULTE DE MEDECINE

Année 2016 N° 068

THESE

pour le

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE
Spécialité Hématologie Clinique, Option Maladies du Sang

par

Elsa LESTANG

née le 18/08/1986 à Limoges

Présentée et soutenue publiquement le 29 février 2016

**Impact de la greffe de cellules souches allogéniques pour le
traitement des patients atteints de myélofibrose primitive ou
secondaire :
Résultats de l'expérience nantaise**

Président : Monsieur le Professeur Philippe Moreau

Directeur de thèse : Monsieur le Professeur Patrice Chevallier

Membres du Jury : Monsieur le Professeur Steven Le Guill
Madame le Professeur Valérie Ugo
Madame le Docteur Viviane Dubruille
Monsieur le Docteur Thierry Guillaume

Remerciements

Je tiens avant tout à remercier les membres du Jury :

Monsieur le Professeur Philippe Moreau

Pour avoir accepté de présider mon jury de thèse

Pour l'accueil dans le service et l'enseignement inculqué au cours de mon internat

Monsieur le Professeur Patrice Chevallier

Pour avoir accepté de diriger ce travail et m'avoir fait confiance

Pour les conseils et expertise apportés sur ce travail et au quotidien

Monsieur le Pr Steven Le Guill

Pour avoir accepté de faire partie de ce jury et de juger mon travail

Pour son enseignement sur les pathologies lymphoïdes et sur la recherche clinique.

Madame le Professeur Valérie Ugo

Pour avoir accepté de faire partie de ce jury et de juger mon travail.

Ses conseils sur ce travail seront précieux.

Madame le Docteur Viviane Dubruille

Pour avoir accepté de faire partie de ce jury et de juger mon travail

Pour son enseignement sur la clinique et la biologie des syndromes myéloprolifératifs

Monsieur le Docteur Thierry Guillaume

Pour avoir accepté de faire partie de ce jury et de juger mon travail

Pour son enseignement sur les pathologies myéloïdes et l'allogreffe lors de mes semestres au secteur d'hématologie et hôpital de jour

Je remercie vivement les personnes qui m'ont aidée pour ce travail

En particulier le Dr Yannick Le Bris, le Pr MC Béné, et le Dr Catherine Godon du laboratoire d'Hématologie du CHU de Nantes.

Au Docteur Stéphanie Castagnet du laboratoire HLA de l'EFS de Nantes

Je remercie chaleureusement les autres personnes qui ont participé à ma formation en hématologie

L'ensemble des médecins du service d'hématologie clinique du CHU de Nantes pour leur enseignement et leur professionnalisme. Je remercie le Dr Peterlin, le Dr Touzeau, le Dr Blin pour leur disponibilité, leurs conseils avisés. Le Dr Mahe et le Dr Gastinne pour leur sens clinique et leur enseignement. L'ensemble de l'équipe paramédicale et les attachés de recherche clinique du service pour leur compétence et leur bonne humeur.

Au Pr Mohty pour son dynamisme et sa formation lors de mon semestre au secteur stérile.

Je souhaite remercier le Dr Strullu et le Dr Rialland pour leur enseignement au cours de mon stage onco-hématologie pédiatrie.

Je souhaite remercier le Pr Hamidou et le Dr Masseau pour leur accueil, leur humanisme et leur précieux enseignement lors de mon semestre en médecine interne.

Je remercie le Pr Bossard, le Dr Anne Moreau pour leur accueil et leur enseignement lors de mon semestre en anatomo-pathologie.

Je remercie le Dr Mayeux, le Dr Lambert, le Pr Bouscary et le Pr Lacombe de m'avoir intégrée dans leur équipe à l'institut Cochin pour mon master 2, pour leur précieux enseignement et initiation à la recherche fondamentale.

Je remercie enfin particulièrement le Pr Jaccard et le Pr Bordessoule de m'avoir initiée à la fin de mon externat à l'Hématologie et également de m'avoir orientée vers l'école nantaise.

Je remercie mes co-internes et désormais amis avec qui c'est ou a été un plaisir de travailler en particulier Marion, Morgane, Charlie, Maelys, Maxime, Stéphane, Benoit, Anne.

Pour finir, un immense MERCI,

A Jacques,

A Julien,

A ma famille (mes Parents-Hyacinthe et Jean-Paul-, Sab et JH sans oublier Pierre, Wassiki, Clément, Lise et mes Grand-mères)

Mes ami(e)s en particulier Fanny et Vanessa, Joseph, Sébastien, Nicolas.E, Emeline, Nicolas R.

Sommaire

1 INTRODUCTION.....	1
2 PHYSIOPATHOLOGIE, DIAGNOSTIC ET TRAITEMENT DES MYELOFIBROSES.....	3
2.1 PHYSIOPATHOLOGIE DES MYELOFIBROSES PRIMITIVES ET SECONDAIRES	3
2.1.1 Pathogénèse de la myélofibrose.....	3
2.1.1.1 Physiopathologie de la myéloprolifération.....	4
2.1.1.2 Physiopathologie de la réaction stromale	11
2.1.2 Evolution des PV et TE vers la myélofibrose	12
2.1.3 Développement de l'hématopoïèse extra-médullaire (HEM)	13
2.2 EPIDEMIOLOGIE DES MYELOFIBROSES	14
2.3 DIAGNOSTIC DES MYELOFIBROSES	15
2.3.1 Les manifestations cliniques	15
2.3.2 Le diagnostic biologique, histologique, moléculaire et critères diagnostiques	15
2.4 LES SCORES PRONOSTIQUES ET EVOLUTION DES MYELOFIBROSES	20
2.4.1 Les scores de Lille, IPSS, DIPPS, et DIPSS-Plus	20
2.4.2 Vers une stratification pronostique incluant le statut moléculaire	22
2.4.3 Le risque de transformation leucémique.....	24
2.5 TRAITEMENT DES MYELOFIBROSES.....	26
2.5.1 Les patients de risque DIPSS faible ou intermédiaire-1 non symptomatiques	26
2.5.2 Les patients de risque intermédiaire 2 et haut risque	26
2.5.2.1 Traitement de l'anémie.....	27
2.5.2.2 Traitement de la myéloprolifération et splénomégalie.....	27
2.5.2.3 La greffe de cellules souches hématopoïétiques allogéniques (CSH)	29
2.5.2.4 Les inhibiteurs de JAK2	39
3 IMPACT DE L'ALLOGREFFE POUR LE TRAITEMENT DE LA MYELOFIBROSE PRIMITIVE OU SECONDAIRE : RESULTATS DE L'EXPERIENCE NANTAISE	43
3.1 OBJECTIFS DE L'ETUDE	43

3.2	MATERIELS ET METHODES.....	43
3.3	ANALYSE STATISTIQUE.....	45
3.4	RESULTATS	47
3.4.1	Caractéristiques des patients au moment de l'indication d'allogreffe	47
3.4.2	Devenir des patients, survie et paramètres influençant la survie.....	50
3.4.2.1	Devenir de la cohorte globale	50
3.4.2.2	Devenir des patients effectivement allogreffés (Groupe A).....	52
3.4.2.3	Devenir des patients non allogreffés (Groupe B).....	59
3.4.3	Impact de la greffe sur la survie en fonction des sous-groupes pronostiques	66
3.5	DISCUSSION	67
3.5.1	Originalité de notre étude.....	67
3.5.2	Les points forts et limites de notre étude	68
4	CONCLUSION	76
5	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	78

Liste de figures

Figure 1. La voie JAK/STAT constitutivement activée	5
Figure 2. Représentation du phénotype biologique des SMP (PMF, TE et PV) et des complications selon la charge allélique JAK2 _{V617F}	7
Figure 3. Réaction stromale.....	12
Figure 4. Lésions cytologiques et anatomopathologiques observées dans la myélofibrose	17
Figure 5. Survie médiane selon les catégories pronostiques définies par le score DIPPS+	22
Figure 6. Survie globale de 253 patients porteurs d'une myélofibrose primitive selon le statut mutationnel : JAK2/CALR/MPL/triple négatif (6A) ou CALR/ASXL1 (6B)	23
Figure 7. Survie des patients de l'étude COMFORT I/II selon groupe Ruxolitinib/MTD ou placebo	41
Figure 8. Charge allélique JAK2V617F selon le type de myélofibrose de la cohorte globale	48
Figure 9. Survie globale à la date d'indication d'allogreffe de la cohorte entière.....	51
Figure 10. Survie globale à 5 ans des groupes A et B	51
Figure 11. TRM et incidence cumulée de transformation en MDS HR/LAM dans le groupe A	57
Figure 12. SG et SSP à 5 ans à la date d'indication d'allogreffe du groupe A	58
Figure 13. Incidence cumulée de transformation en MDS HR/LAM et mortalité non liée à la maladie du groupe B	62
Figure 14. SG et SSP à 5 ans à la date d'indication d'allogreffe du groupe B	62
Figure 14. Survie des patients traités par Ruxolitinib, thérapie conventionnelle et allogreffe	64

Liste des tableaux

Tableau 1. Mutations récurrentes et non récurrentes décrites dans les PV, TE, MFP et LAM post SMP.....	10
Tableau 2. Epidémiologie en France des SMP non-Phi.....	14
Tableau 3. Critères diagnostiques selon l’OMS 2008 de la MFP, PV et TE	18
Tableau 4. Critères diagnostiques selon l’IWG-MRT pour le diagnostic de myélofibrose post PV ou TE.....	19
Tableau 5. (A) Critères des scores de Lille, IPSS, DIPSS et DIPSS+ (B) Estimation de la survie médiane selon les catégories pronostiques.....	21
Tableau 6. Résumé des principales études d’allogreffes dans le cadre de myélofibrose primitive et secondaire	32
Tableau 7. Critères de réponse de l’WG-MRT résumés.....	46
Tableau 8. Caractéristiques clinico-biologiques des patients du groupe A et B au moment de l’indication d’allogreffe	49
Tableau 9. Résumé des traitements reçus avant l’indication d’allogreffe.....	50
Tableau 10. Paramètres influençant la survie des patients dans la cohorte entière	51
Tableau 11. Caractéristiques des patients du groupe A à la date de greffe.....	53
Tableau 12. Evolution post allogreffe (prise de greffe, réponse, complications)	56
Tableau 13. Paramètres influençant la survie à 5 ans dans le groupe A	58
Tableau 14. Evolution après indication d’allogreffe dans le groupe B	61
Tableau 15. Paramètres influençant la survie à 5 ans dans le groupe B	63
Tableau 16. Comparaison des patients traités ou non par inhibiteur de JAK2 dans le groupe B.....	65
Tableau 17. Sous-groupes pronostiques bénéficiant de l’allogreffe	66

Liste des abréviations

ASE : agents stimulants de l'érythropoïèse
ASXL1: additional sex combs like 1
BOM : biopsie ostéo-médullaire
Bu : Busulfan
CALR : Calréticuline
CBL : Casitas B-lineage lymphoma
CIBMTR : Center for International Blood and Bone Marrow transplantation
CRP : C-réactive protéine
Cy: cyclophosphamide
EBMT: European Bone Marrow Transplantation
EPO: érythropoïétine
EZH 2: Enhancer of zeste homolog 2
FIM: intergroupe français des syndromes myéloprolifératifs
DIPSS: dynamic international prognostic scoring system
DIPSS+: dynamic international prognostic scoring system-plus
DLI : injection de lymphocytes du donneur
GPSS: genetics-based prognostic scoring system
GvH : réaction du greffon contre l'hôte
HU : hydroxyurée
HEM : Hématopoïèse extra-médullaire
HOXA: Homeobox A
ICT : irradiation corporelle totale
IDH : Isocitrate déshydrogénase
IFN: interféron
IPSS: international prognostic system
IL: interleukine
JAK2: Janus kinase 2
LAM : Leucémie aigue myéloblastique
LMC : Leucémie myéloïde chronique
MAC : conditionnement myéloablatif (myelablative conditioning)
MDS/HR : myélodysplasie de haut risque
MIPSS: mutation enhanced international prognostic scoring system
MFP : myélofibrose primitive
MFS : myélofibrose secondaire
MPL : Myeloproliferative Leukemia Virus
MLL : Mixed lineage leukemia
MTD : meilleur traitement disponible
NRM : mortalité non liée à la rechute de la maladie
PV : polyglobulie de Vaquez, ie. polycythemia vera
RCP : réunion de concertation pluridisciplinaire
RIC : conditionnement à intensité réduite (reduced intensity conditioning)

SFGM-TC : société française de greffe de moelle et thérapie cellulaire

SG : survie globale

SMP : syndrome myéloprolifératif

SRSF2: serine/arginine-rich splicing factor-2

SSP: survie sans progression

STAT: Signal transducers and activators of Transcription

TE : Thrombocytémie essentielle

TN : triple négatif (pas de mutation JAK2, CALR et MPL)

TET2 : Tet methylcytosine dioxygenase 2

TRM : mortalité liée à la transplantation

1 INTRODUCTION

Les myélofibroses primitives et secondaires à la thrombocytémie essentielle ou la polyglobulie de Vaquez sont des syndromes myéloprolifératifs Phi-négatifs rares. L'incidence annuelle standardisée à la population européenne est comprise entre 1 et 5/100 000 habitants. L'âge médian au diagnostic est de 70 ans, 10% des patients sont âgés de moins de 40 ans et 40% ont moins de 60 ans. Le diagnostic des syndromes myéloprolifératifs Phi-négatifs a été révolutionné en 2005 par la découverte de la mutation du gène JAK2 et plus récemment par celle des gènes MPL et calréticuline. La physiopathologie des syndromes myéloprolifératifs Phi-négatifs est depuis expliquée en partie par l'activation constitutive de la voie JAK/STAT conférée par ces mutations.

De plus, les myélofibroses primitives et secondaires constituent une hémopathie hétérogène dont l'évolution et le pronostic diffèrent en fonction de l'âge au diagnostic, de l'intensité de la myéloprolifération, des caractéristiques cytogénétiques et moléculaires. Le pronostic est globalement péjoratif et la survie médiane est de 69 mois tous stades confondus.

Le traitement dépend de la phase évolutive de la maladie et des caractéristiques liées au patient. Les stratégies thérapeutiques vont de l'abstention et surveillance à l'allogreffe de cellules souches hématopoïétique. En effet de nombreuses études ont rapporté la faisabilité de la greffe de cellules souches allogéniques, initialement avec des conditionnements myéloablatifs puis d'intensité réduite. L'effet « greffon contre myélofibrose » a alors été démontré considérant l'allogreffe comme seule option curatrice. Néanmoins les taux rapportés, dans ces mêmes études, d'incidence d'échec de prise de greffe et de GVH chronique extensive sont plus élevés que pour d'autres hémopathies.

Récemment, Kröger *et al* (Kroger 2015) ont rapporté les résultats d'une étude menée sur des registres de patients âgés de moins de 65 ans porteurs d'une myélofibrose primitive, de tous risques confondus et ont évalué la survie de ces patients selon qu'il ait été allogreffés ou non. La conclusion de ce travail est que l'allogreffe ne bénéficie qu'aux patients de risque DIPSS intermédiaire-2 ou élevé.

Or depuis 2005, inhiber la voie JAK/STAT est devenu une cible thérapeutique et des inhibiteurs de la protéine JAK2 ont été développés. Les études menées avec ces

inhibiteurs, notamment le ruxolitinib, chez des patients de risque intermédiaire et élevé ont montré une efficacité sur les signes généraux et la splénomégalie. L'actualisation des données a également mis en évidence un bénéfice sur la survie des patients traités par inhibiteurs par rapport à ceux traités avec les traitements conventionnels hors allogreffe.

Ainsi la problématique actuelle, est de savoir comment positionner les différentes options thérapeutiques que sont la greffe de cellules souches allogéniques potentiellement curatrice, et des traitements non curateurs mais moins toxiques que sont les traitements conventionnels et les nouvelles molécules telles que le ruxolitinib chez les patients de haut risque.

Dans ce contexte, nous avons souhaité évaluer la pratique et l'impact de l'allogreffe pour le traitement des myélofibroses primitives et secondaires au sein du service d'hématologie du CHU de Nantes. Nous avons pour cela colligé rétrospectivement les données de patients pour lesquels l'indication d'allogreffe avait été retenue entre 2000 et 2014 et analysé leur devenir en « intention de greffer » c'est à dire selon que la procédure d'allogreffe ait pu aboutir ou non.

Nous détaillerons successivement dans la première partie de ce travail les données physiopathologiques, diagnostiques, pronostiques et thérapeutiques concernant la myélofibrose primitive et secondaire. Puis nous exposerons les résultats de notre étude dans la seconde partie. Nous terminerons par l'analyse et la mise en perspective des résultats par rapport aux données de la littérature.

2 PHYSIOPATHOLOGIE, DIAGNOSTIC ET TRAITEMENT DES MYELOFIBROSES

2.1 PHYSIOPATHOLOGIE DES MYELOFIBROSES PRIMITIVES et SECONDAIRES

Le terme « syndromes myéloprolifératifs » (SMP) introduit par William Dameshek en 1951 rassemble, au sein d'un même groupe, plusieurs hémopathies partageant des similarités cliniques et biologiques (Dameshek 1951). Les SMP les plus fréquents sont la leucémie myéloïde chronique (LMC), la polyglobulie de Vaquez ou polycythemia vera (PV), la thrombocytémie essentielle (TE) et la myélofibrose primitive (MFP). La classification de l'OMS 2008 a ensuite rattaché d'autres hémopathies plus rares : les mastocytoses systémiques, les leucémies chroniques à neutrophiles, les syndromes hyperéosinophiliques (SHE) et les syndromes myéloprolifératifs inclassables (Swerdlow 2008). Schématiquement, les SMP sont divisés en 2 groupes. D'un côté la LMC caractérisée par la présence du chromosome Philadelphie résultant de la translocation réciproque $t(9;22)(q34;q11)$ rapprochant les gène BCR (chromosome 22) et ABL (chromosome 9) aboutissant à un transcrit puis à une néo-protéine Bcr-Abl. De l'autre côté, les SMP dit « Philadelphie-négatifs » (SMP Phi-négatifs) sont représentés par la PV, la TE et la MFP. Contrairement à la LMC, il n'a pas été mis en évidence de marqueur cytogénétique récurrent dans les SMP Phi- négatifs mais des anomalies cytogénétiques sont retrouvées chez 50% des patients.

2.1.1 Pathogénèse de la myélofibrose

La fibrose médullaire peut être primitive (myélofibrose primitive ou splénomégalie myéloïde) ou secondaire à l'évolution d'autres syndromes myéloprolifératifs préférentiellement la PV et plus rarement la TE. La pathogénèse comprend deux processus distincts : d'une part la myéloprolifération (clonale) et d'autre part la réaction stromale associant fibrose médullaire, néoangiogénèse et ostéosclérose (non clonale).

2.1.1.1 Physiopathologie de la myéloprolifération

A la fin des années 1970, des travaux montrent que les syndromes myéloprolifératifs sont issus d'une anomalie clonale de la cellule souche hématopoïétique (Adamson 1976; Jacobson 1978; Fialkow 1981). Le clone ancestral malin acquiert un avantage prolifératif mais garde la capacité de se différencier. Dans la MFP et la TE la lignée mégacaryocytaire prolifère de manière prédominante, tandis que la lignée érythrocytaire est majoritaire dans la PV.

La physiopathologie de la myéloprolifération s'explique en partie par la présence de mutations d'oncogènes telles que JAK2, MPL, CALR, TET2, ASXL1.

- Mutation du gène JAK2

JAK2 (Janus kinase) est une protéine de 130,7 kDa à activité tyrosine kinase dont le gène est localisé sur le chromosome 9 en région 9p24.1. JAK2 fait partie de la famille des JAK kinases comprenant : JAK1, JAK2, et TK2 (tyrosine kinase 2) qui sont ubiquitaires et JAK3 dont l'expression est restreinte aux tissus myéloïdes et lymphoïdes. Ces tyrosines kinases s'associent au domaine cytosolique des récepteurs aux cytokines. Elles présentent dans leur partie C-terminale deux domaines homologues JH (JAK Homologous). Le domaine JH1 porte l'activité kinase et le domaine pseudo-kinase JH2, catalytiquement inactif, exerce une régulation négative sur l'activité kinase du domaine JH1. A la partie N-terminale de la protéine, les domaines JH5-JH7 permettent l'interaction avec le domaine cytosolique des récepteurs auxquels ces protéines sont associées.

La protéine JAK2 est associée aux récepteurs suivants :

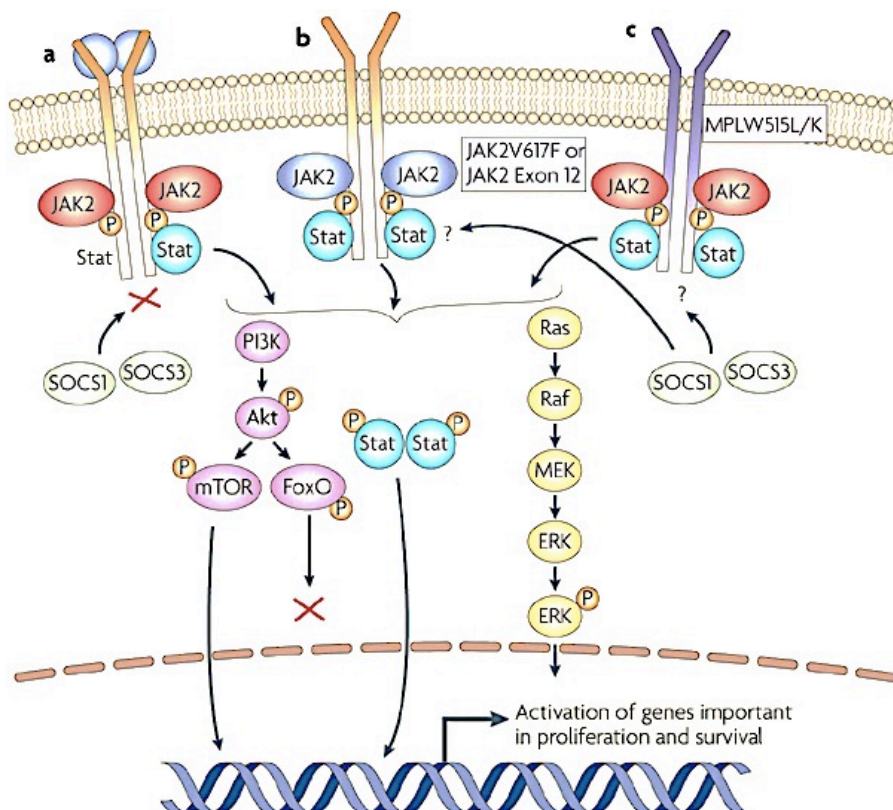
- récepteurs homodimériques « myéloïdes » : récepteurs à l'érythropoïétine (EPO-R), la thrombopoïétine (TPO-R ou MPL), au Granulocyte-Colony Stimulating Factor (G-CSF-R).
- récepteurs à la prolactine et l'hormone de croissance
- récepteurs hétérodimériques : récepteurs de la famille IL-3R, IL-5R Granulocyte-Monocyte-Colony Stimulating Factor (GM-CSF-R), récepteurs de la famille gp130
- récepteur R2 à l'interféron γ (IFN γ -R2)

La liaison du ligand au récepteur entraîne une autophosphorylation de JAK2 qui se dimérise et phosphoryle des résidus tyrosines sur son récepteur. Cette

phosphorylation attire les substrats de JAK2 notamment les molécules STAT (**Figure 1a**). Les molécules STAT ainsi phosphorylées activent la voie des MAPK-kinases ou la voie PI3-kinase/AKT ou migrent directement vers le noyau et exercent leur fonction de facteur de transcription impliqué dans : la prolifération cellulaire, l'inhibition de l'apoptose et la croissance cellulaire (Ward 2000; Rane 2002).

La mutation en V617F de la protéine JAK2, découverte en 2005 (James 2005) par l'équipe de William Vainchenker a d'abord été décrite dans la PV. Cette mutation est la plus fréquente des mutations retrouvées dans les SMP Phi-négatifs : 96% des PV, 55% des TE et 65% des MFP (Tefferi 2009). Le remplacement V617F correspond à la substitution de la valine en position 617 par une phénylalanine. Celui-ci affecte structurellement le domaine non-catalytique de la kinase dans le domaine « pseudo-kinase » (JH2). Le domaine JH2 n'est alors plus capable d'assurer son rôle régulateur négatif au niveau du domaine JH1. La voie JAK/STAT, en aval des récepteurs de l'EPO et de la TPO, est constitutivement active, entraînant alors une surproduction respectivement d'érythrocytes et de plaquettes (Levine 2007) (**Figure 1b**). La mutation de l'exon 12 du gène JAK2 présente dans 1% des PV dérègle également positivement l'activité de JAK2 (**Figure 1b**).

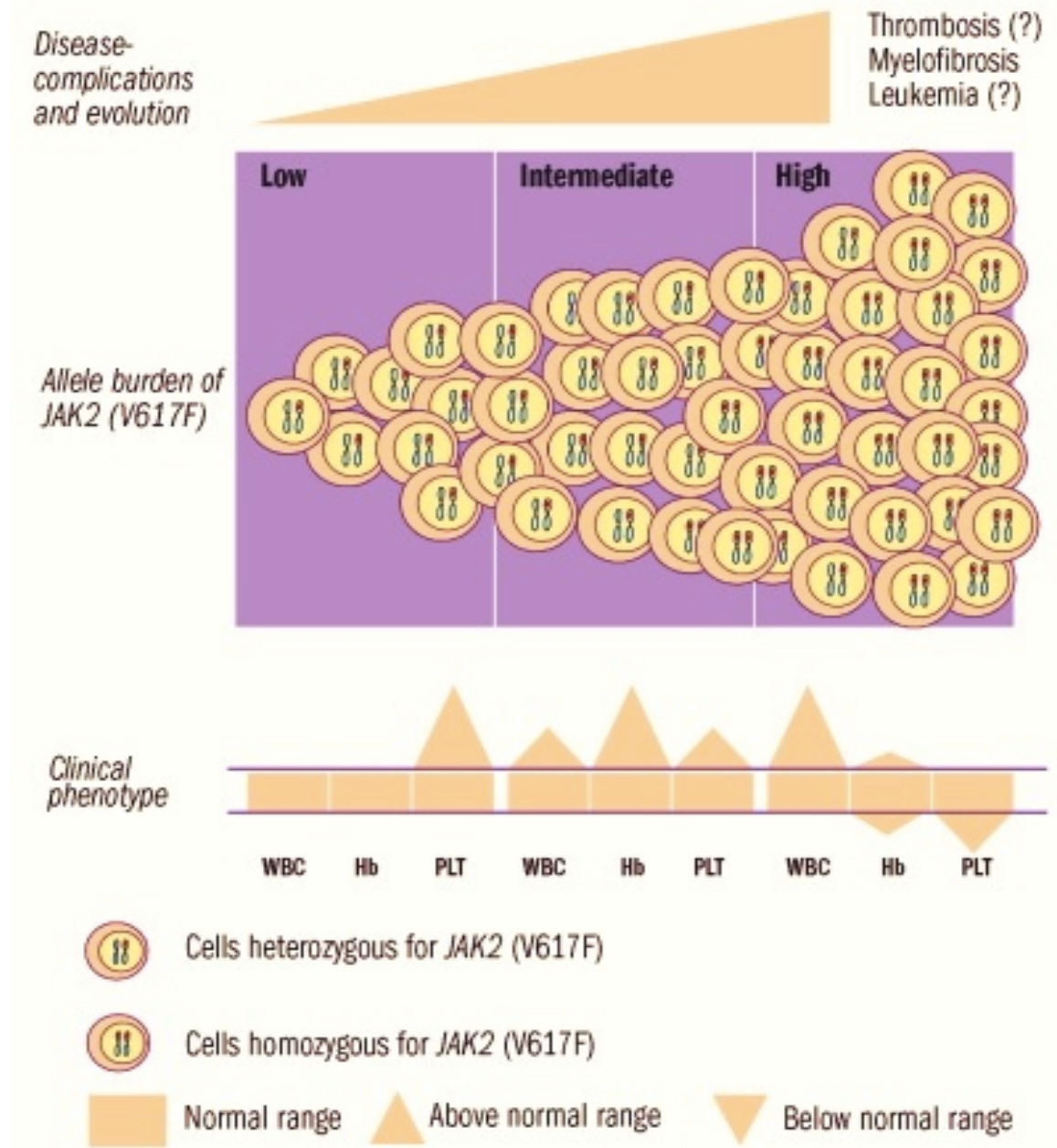
Figure 1. La voie JAK/STAT constitutivement activée



Le fait que la mutation JAK2_{V617F} soit retrouvée au cours de trois maladies de phénotype différent reste à ce jour partiellement expliqué. L'une des hypothèses proposées est que les PV et TE sont une même entité dont le phénotype est déterminé par la charge mutationnelle JAK2_{V617F}. Un continuum entre ces maladies est observé. Le modèle proposé comporte deux étapes. Premièrement, l'apparition de la mutation JAK2_{V617F} donne naissance à un clone hétérozygote prenant l'avantage sur l'hématopoïèse physiologique. Dans un second temps, une recombinaison mitotique permet la duplication de l'allèle muté et l'élimination de l'allèle sauvage. Le clone homozygote ainsi généré acquiert alors un avantage prolifératif sur le clone hétérozygote et peut s'expandre aux dépens de ce dernier. L'acquisition de cette homozygotie associée à l'expansion du clone homozygote détermine ainsi le phénotype de la maladie (Baxter 2005; Kralovics 2005). Ce modèle est reflété par la charge allélique chez les patients. La charge allélique est le ratio (exprimé en pourcentage) de la proportion de l'allèle muté JAK2_{V617F} sur la proportion des allèles JAK2 totaux (JAK2_{V617F} muté+ JAK2 sauvage). Elles sont globalement faibles au cours des TE, plus importantes au cours des MFP et des PV et augmentent lors de la transformation des PV et TE en myélofibrose secondaire (Tiedt 2008) (**Figure 2**).

Enfin, une corrélation clinico-moléculaire est établie entre la présence de la mutation JAK2_{V617F} par rapport aux autres mutations retrouvées dans les SMP. Les patients porteurs de la mutation JAK2 sont préférentiellement plus âgés, ont un taux d'hémoglobine et de leucocytes plus haut et ainsi qu'un taux de plaquettes plus bas (Tefferi 2010).

Figure 2. Représentation du phénotype biologique des SMP (PMF, TE et PV) et des complications selon la charge allélique JAK2_{V617F}



- Mutation du gène MPL

La protéine Mpl n'est autre que le récepteur la thrombopoïétine (TPO-R) dont le gène est localisé en région 1q34. Des mutations de MPL sont décrites chez 3% des TE et 10% des MFP (Pikman 2006). Elles surviennent au niveau de l'exon 10, et entraînent un changement de l'acide aminé en position 515. Cet acide aminé qui est situé à la

jonction du domaine cytoplasmique et du domaine transmembranaire joue un rôle important pour l'activation du récepteur. Les deux mutations les plus fréquentes sont les W515L (correspondant à une substitution d'un tryptophane pour une leucine) et W515K (correspondant à la substitution du tryptophane pour une lysine). Le récepteur muté peut phosphoryler la kinase JAK2 sauvage indépendamment de la fixation de son ligand (**Figure 1c**). Néanmoins, cette signalisation reste sensible à l'action des inhibiteurs de JAK2. Sur le plan phénotypique, les patients présentent habituellement un taux d'hémoglobine moindre et une thrombocytose plus importante par rapport aux patients muté JAK2 (Tefferi 2010).

- Mutation du gène CALR

Plus récemment décrite (Klampfl 2013; Nangalia 2013) et mutuellement exclusive par rapport aux mutations de JAK2 et MPL, la découverte de la mutation de la calréticuline (CALR) a permis de combler en partie le manque de marqueur moléculaire propre à la TE et la MFP puisqu'elle est retrouvée dans 23-30% des TE (Klampfl 2013; Rumi 2014) et 20-30% des cas de MFP (Klampfl 2013; Tefferi 2014). La calréticuline, dont le gène est localisé au niveau du chromosome 19 en position 19p13.3, est une protéine de 60 kDa présente à l'état soluble dans la lumière du réticulum endoplasmique (RE) des cellules. C'est une protéine chaperonne multifonctionnelle qui lie et assure le système de contrôle de qualité des glycoprotéines sécrétées. La calréticuline se lie ainsi à de nombreuses glycoprotéines en cours de synthèse dans le RE. Cette liaison fait principalement intervenir le domaine N-terminal de la protéine. Le domaine C-terminal comporte de nombreux résidus acides permettant de lier le calcium avec une faible affinité et de jouer ainsi un rôle de tampon calcique. Ce domaine contient enfin un motif tétrapeptidique appelé KDEL (Lysine, Aspartate, Glutamate, Leucine) de rétention dans le RE.

Les mutations décrites affectent principalement l'exon 9 codant pour l'extrémité C-terminale de la protéine. Celles de type 1 (40-50% des cas, plus fréquente dans la MFP que dans les TE) correspondent à une délétion de 52 paires de bases (p.L367fs*46) tandis que celles de type 2 (30-40%) entraînent une insertion de 5 paires de bases (p.K385fs*47). Ces insertions et/ou délétions sont à l'origine d'un décalage du cadre de lecture qui conduit à la modification du domaine C-terminal de

la protéine. Ce domaine devient alors basique (et donc chargé positivement) et perd le motif KDEL. Très récemment, des travaux de surexpression des protéines mutées CALR-del52 (mutation de type 1) et CALR-ins5 (mutation de type 2) dans des souris ont montré un avantage prolifératif du compartiment souche et une hyperplasie de la lignée mégacaryocytaire aboutissant à une thrombocytose suggérant le rôle clé du récepteur à la thrombopoïétine MPL. Celui-ci a été confirmé dans des cellules Ba/F3 IL-3 dépendante où la surexpression de CALR-del52 (plus que celle de CALR-ins5) rendait la cellule indépendante à l'IL3 lorsque celle-ci exprimait le récepteur Mpl. Cet effet n'était pas retrouvé dans les cellules exprimant le récepteur à l'EPO et au G-CSF. Ainsi le potentiel oncogénique et transformant de la protéine CALR mutée est médié par son action activatrice spécifique sur le récepteur Mpl (Marty 2015).

Comme observé avec les mutations JAK2 et MPL, les mutations de CALR facilitent la croissance cellulaire en réponse aux cytokines et semblent être associées à une activation de STAT5 (Klampfl 2013). Que ce soit dans la TE ou la MFP, les mutations de CALR sont associées à une présentation clinique distincte et un pronostic favorable par rapport à la mutation JAK2_{V617F}. Globalement, les patients atteints de myélofibrose primitive et porteurs d'une mutation du gène CALR sont plus jeunes, ont une meilleure survie, et présentent une prolifération intéressant plus spécifiquement la lignée mégacaryocytaire responsable d'une thrombocytose plus importante (Tefferi 2010). Néanmoins des études plus récentes ont mis en évidence des différences de présentations clinico-biologiques et de pronostic en fonction du type de mutations 1 ou 2 (Tefferi 2014; Tefferi 2014; Tefferi 2014). Les mutations de type 2 seraient associées à un score de DIPSS+ plus élevé, un taux de leucocytes supérieur à 25 Giga/L, et un taux de blastes circulants plus élevé, une splénomégalie plus importante et des mutations additionnelles du gène EZH2 (Enhancer of zeste homolog 2). Tandis que les patients porteurs de mutations de type 1 auraient un âge plus jeune, un taux de plaquettes augmenté, un besoin transfusionnel moindre, un taux de leucocytes et un score de DIPSS+ plus bas.

- Les autres mutations clonales ou oligo-clonales (Tefferi 2010; Tefferi 2011)

D'autres mutations ont été décrites dans les SMP Phi-négatifs notamment des gènes TET2, ASXL1, CBL, IDH1, IDH2, IKAROS et LNK. Ces mutations ne sont pas

toujours mutuellement exclusives les unes des autres et leur ordre d'apparition au cours du développement clonal est mal connu. Les données suggèrent qu'au stade de PV et TE il existe un contingent de sous clones majoritairement JAK2 mutés. Au cours de l'évolution des sous clones subissent d'autres évènements oncogéniques leur conférant un avantage prolifératif et en survie. Ceci pourrait expliquer l'évolution en myélofibrose secondaire et en leucémie aigue myéloblastique secondaire. En effet, les mutations des gènes ASXL1, et d'IDH sont par exemple plus fréquentes dans les LAM post SMP que dans les PV, TE, MFP. Le **Tableau 1** récapitule les mutations d'oncogènes récurrentes et non récurrentes observées dans les SMP et les LAM secondaires au SMP ainsi que les conséquences physiopathologiques et le pronostic conférés par la mutation.

Tableau 1. Mutations récurrentes et non récurrentes décrites dans les PV, TE, MFP et LAM post SMP (adapté de (Tefferi 2011))

Gène muté	Localisation du gène	Fréquence de la mutation dans les SMP	Conséquence de la mutation	Pronostic lié à la mutation
JAK2	9p24	PV: 96%, TE: 55%, PMF: 65% LAM post SMP : 50%	Myéloprolifération	Intermédiaire
MPL	1p34	PV: rare, TE:3%, MFP:10% LAM post SMP: ?	Myéloprolifération lignée mégacaryocytaire	Intermédiaire
CALR	19q	PV:0%, TE: 25%, MFP: 25% LAM post SMP: ?	Modification de la localisation intracellulaire et activation signalisation STAT5	Bon
TET2	4q24	PV:16%, TE:5%, MFP:17% LAM post SMP:17%	Altération du contrôle épigénétique de la transcription	Inconnu
ASXL1	20q11.1	PV: ?, TE: 1%,MFP:4-22% LAM post SMP: 19%	Altération de la régulation transcriptionnelle	Défavorable
CBL	11q23.3	PV: ?, TE: ?, MFP:6% LAM post SMP: 19%	Défaut d'ubiquitynilation des oncoprotéines	Inconnu
IDH1/IDH2	2q33.3 15q26.1	PV: ?, TE: rare, MFP:4% LAM post SMP:20%	Accumulation de l'oncoprotéine 2-hydroxyglutarate	Inconnu
IKZF1	7p12	PV: ?,TE: rare, MFP:4% LAM post SMP:19%	Déficit de l'activité suppresseur de tumeur de la protéine sauvage	Inconnu
EZH2	7q35.1	PV: rare, TE: rare, MFP:13% LAM post SMP:12%	Défaut de régulation épigénétique de la transcription	Defavorable

TET2 est une dioxygénase qui catalyse l'hydroxylation de la 5-méthylcytosine (5-mC) en 5-hydroxyméthylcytosine (5-hmC) conduisant à une méthylation de l'ADN. Pour agir, TET2 nécessite un co-facteur, l'alpha-cétoglutarate, produit lors du cycle de KREBS grâce à IDH1/2. Les mutations de TET2 sont principalement inactivatrices et induisent une diminution du taux de 5-hmC dans la cellule. L'invalidation de TET2 dans les modèles murins induit le développement d'hémopathies myéloïdes sans que l'oncogenèse ne soit totalement élucidée (Delhommeau 2009).

ASXL1 régule les modifications épigénétiques telle que la méthylation de des histones et interagit avec des répresseurs et activateurs de la transcription. Son rôle dans la leucémogénèse est encore mal connu. Des travaux ont montré que ASXL1 interagit avec deux protéines (EZH2 et SUZ12) pouvant également être mutées au cours des SMP et impliquées dans la répression de la transcription. La mutation d'ASXL1 est une mutation inactivatrice, et l'inhibition de la fonction d'ASXL1 aboutit à une augmentation de la transcription notamment de gènes impliqués dans la prolifération cellulaire (gènes HOXA par exemple) (Carbuccia 2009).

Ainsi, les myélofibroses primitives et secondaires sont des pathologies hétérogènes sur le sur le plan moléculaire expliquant la diversité du phénotype et du potentiel évolutif.

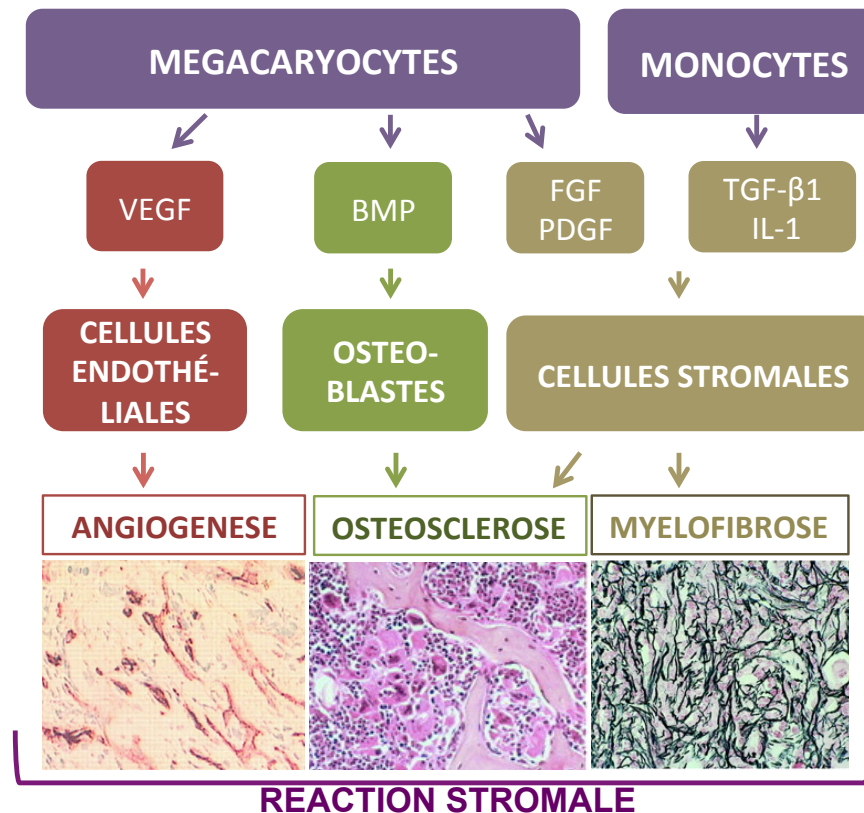
2.1.1.2 Physiopathologie de la réaction stromale (Wagner-Ballon 2006)

La réaction stromale médullaire est définie par l'apparition d'une fibrose médullaire, une néoangiogénèse et une ostéosclérose (**Figure 3**). Ces phénomènes sont liés à la sécrétion inappropriée par les mégacaryocytes et des monocytes clonaux de cytokines telles que TGFB1 (Transforming growth factor), IL-1 (interleukine-1), le FGF (fibroblast growth factor) et PF-4 (platelet growth factor-4). Ces dernières activent les fibroblastes non clonaux du microenvironnement. Les protéines de la matrice extracellulaire (collagène, fibronectine, vitronectine et tenascine) sont alors synthétisées en excès et s'organisent en dépôts responsables de l'épaississement de la trame réticulinique. La réaction d'ostéosclérose, quant à elle, est liée d'une part à la sécrétion augmentée d'OPG (ostéoprotégérine) par les cellules stromales du microenvironnement aboutissant à une répression des ostéoclastes et d'autre part à la sécrétion de BMP (bone morphogenetic protein) par les mégacaryocytes entraînant une prolifération des ostéoblastes. Un phénomène d'empéripolèse anormale des mégacaryocytes est observé également chez les patients atteints de MFP. L'empéripolèse correspond au passage normal de cellules médullaires à travers le système canaliculaire ouvert du mégacaryocyte. Une empéripolèse anormale des polynucléaires neutrophiles et éosinophiles chez ces patients entrainerait l'activation des polynucléaires et la sécrétion inappropriée de cytokines stockées dans les granules alpha des mégacaryocytes. La libération de ces

cytokines dans le microenvironnement médullaire pourrait participer ainsi à la réaction stromale.

Enfin, une sécrétion inappropriée de VEGF (Vascular endothelial growth factor) sécrété par les mégacaryocytes et monocytes régule positivement les cellules endothéliales, aboutissant à une néoangiogénèse.

Figure 3. Réaction stromale



2.1.2 Evolution des PV et TE vers la myélofibrose

L'incidence d'évolution à 10 ans des PV et la TE vers la myélofibrose secondaire sont respectivement inférieures à 15% et 5% (Cerquozzi 2015). La physiopathologie de cette myélofibrose secondaire est mal connue. Les études d'expression génique ont mis en évidence des profils différents selon que les patients avaient une TE, une PV ou une myélofibrose post TE/PV (Skov 2012). En effet, certains gènes codant pour les protéines constituant les granules des polynucléaires neutrophiles (EL2, OLFM4, ..) sont régulés positivement chez les patients atteints de myélofibrose secondaire par rapport aux patients au stade TE ou PV non fibrotique (Hasselbalch

2014). D'autre part, charge une allélique JAK2_{V617F} élevée est actuellement le principal paramètre retrouvé associé au risque de transformation en myélofibrose (**Figure 2**) (Antonioli 2008; Tiedt 2008). La résultante de ces changements moléculaires pourrait être une modification de la sécrétion cytokinique par le clone lui-même ou par les cellules de son microenvironnement entraînant une augmentation de la fibrose médullaire et une néoangiogénèse. Panteli *et al* ont comparé un panel d'expression de cytokines chez des patients atteints de PMF, PV et TE et des patients contrôles (Panteli 2005). Le taux de cytokines comme l'IL2, le récepteur soluble de l'IL-2R, l'IL6 est retrouvé plus élevé chez les patients atteints en premier de MFP puis TE et PV. Aussi un taux élevé de ces cytokines est corrélé à une néoangiogénèse accrue observée sur les biopsies ostéo-médullaires. Enfin le taux de TPO est plus élevé uniquement chez les patients porteurs d'une MFP.

2.1.3 Développement de l'hématopoïèse extra-médullaire (HEM)

L'hématopoïèse extra-médullaire est un processus compensatoire de l'inefficacité de l'érythropoïèse médullaire en cas de myélofibrose. Elle survient habituellement dans des sites embryonnaires de prolifération du tissu hématopoïétique, comme la rate ou le foie. L'HEM peut également se déclencher dans d'autres tissus mous. Le rachis dorsal est la localisation la plus fréquente d'HEM non hépato-splénique. Celle-ci est asymptomatique dans 80% des cas.

Les hypothèses expliquant ce phénomène sont d'une part la modification de la voie STAT au niveau des cellules mutées avec la sécrétion de cytokines (TGF-B1, VEGF..) qui modifie les niches médullaire et splénique (Kim 2010). D'autre part, l'axe CXCR4/CXCL-12 - indispensable à la rétention et la quiescence des cellules souches médullaires - est altéré dans la niche médullaire avec une augmentation du clivage de CXCL12 par des protéases telles que la neutrophile estérase et la métallo-protéase MM9 sécrétées par les polynucléaires neutrophiles et les cellules stromales (Migliaccio 2008). Ce clivage entraîne une augmentation des cellules progénitrices CD34+ circulantes et favorise l'installation de ces cellules dans la rate (homing splénique) permettant alors la création de nouvelles niches hématopoïétiques extramédullaires.

2.2 EPIDEMIOLOGIE DES MYELOFIBROSES

La myélofibrose primitive est un des syndromes myéloprolifératifs le plus rare avec les leucémies chroniques à éosinophiles ou neutrophiles et les mastocytoses. La transformation en myélofibrose d'une PV ou TE survient majoritairement après 10 ans d'évolution et reste un évènement également rare. L'incidence des SMP non-Phi est plus élevée chez l'homme et augmente avec l'âge. A l'âge de 40 ans, l'incidence standardisée à la population européenne est de 0,3 pour 100 000 habitants puis elle augmente de 1,3 à 16,6 pour 100 000 habitants à l'âge de 85 ans (Monnereau 2014). Le **Tableau 2** résume l'épidémiologie (incidence, âge au diagnostic et sexe ratio, risque de transformation en MF secondaire des PV et TE à 10 ans) des SMP non-Phi (Barbui 2011; Tefferi 2013; Monnereau 2014).

Tableau 2. Epidémiologie en France des SMP non-Phi

	MFP	PV	TE
Incidence annuelle (nb de cas /100 000 habitants)	0,5-1,5	1à 2,7	1-2,5
Risque de transformation en MF secondaire à 10ans	NA	<15%	<5%
Age médian au diagnostic	70	64	50
Sexe ratio Homme/Femme	>2	1,2	1

NA : non applicable

2.3 DIAGNOSTIC DES MYELOFIBROSES

2.3.1 Les manifestations cliniques

Les SMP évoluent de manière chronique et peuvent être diagnostiqués fortuitement au décours d'une numération réalisée à titre systématique. Lorsque la maladie devient symptomatique, les principaux signes cliniques observés sont ceux correspondants : I) au défaut médullaire avec l'apparition de cytopénies notamment l'anémie, II) à une hématopoïèse extra-médullaire sous la forme d'une splénomégalie (90% des cas) et d'une hépatomégalie (25% des cas). La splénomégalie peut être majeure et responsable de spléinalgies, de pesanteur de l'hypochondre gauche, de troubles digestifs, et plus rarement d'une hypertension portale. L'apparition de signes généraux est évocatrice de l'évolutivité de la maladie. Ils sont néanmoins présents dans 30% des cas au diagnostic. Les signes généraux sont l'asthénie, les sueurs nocturnes, la fièvre, les douleurs osseuses et l'amaigrissement. Ces derniers sont intégrés dans tous les scores pronostiques de myélofibrose.

L'incidence cumulée de transformation en myélofibrose de la PV à 10 et 20 ans est respectivement de 4.9–6% et 26%. Celle des TE est de 0.8–4.9% et 19.9% (Cerquozzi 2015). Les symptômes se résument alors à l'apparition d'une hépatosplénomégalie (si non présente au diagnostic) et à la survenue de signes généraux.

2.3.2 Le diagnostic biologique, histologique, moléculaire et critères diagnostiques

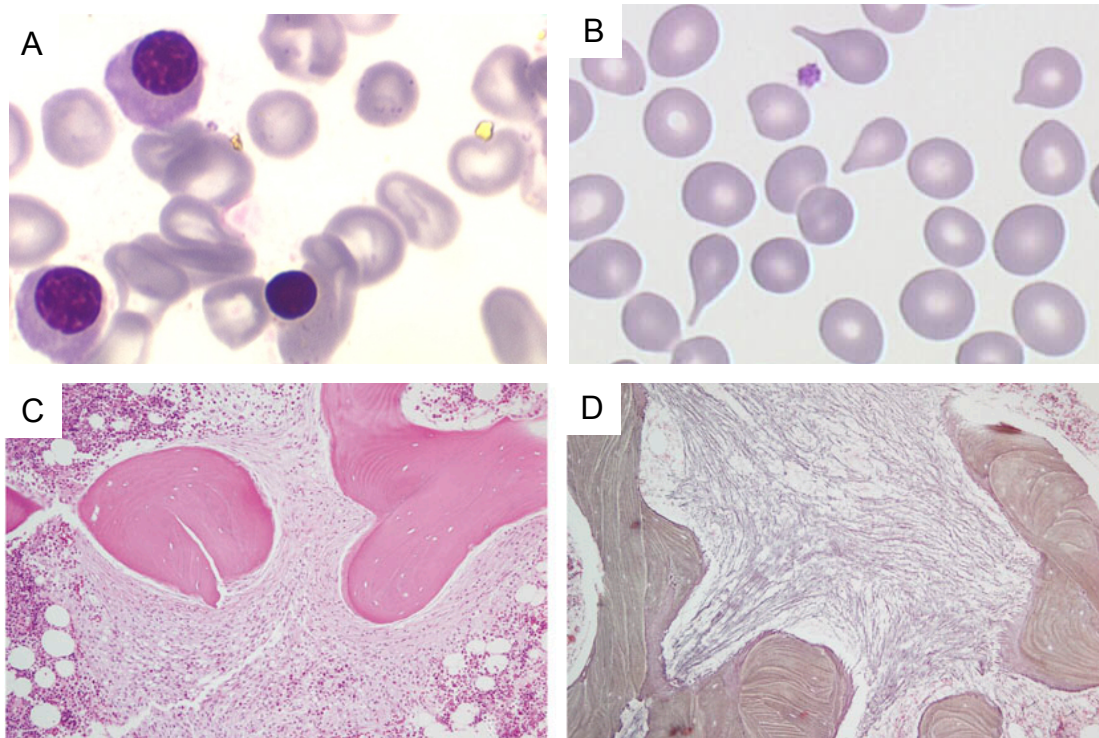
Sur l'hémogramme, une hyperleucocytose dans un premier temps peut être observée, composée de polynucléaires neutrophiles et d'une myélémie homogène sans basophilie. L'évolution est marquée soit vers une tendance leucopénique soit au contraire vers une tendance proliférative hyperleucocytaire supérieure à 30 Giga/L avec parfois la présence de cellules progénitrices et blastiques circulantes. Les diagnostics différentiels sont alors celui de la LMC pour les formes prolifératives et des myélodysplasies pour les formes leucopéniques. L'anémie est fréquente, d'importance variable avec une anisocytose, une poïkylocytose et une dacryocytose traduisant une hématopoïèse splénique ; aussi une érythroblastose est fréquente (**Figures 4A. et 4B**). Dans les myélofibroses secondaires, la polyglobulie ou la thrombocytose s'améliore « spontanément » avec une nécessité de réduction du traitement cytoréducteur. L'apparition de cytopénies atteignant les autres lignées,

d'anomalies morphologiques et d'érythroblastose sont évocatrices de la transformation fibrotique.

L'examen histologique de la biopsie de moelle osseuse (**Figures 4C. et 4D**) est fondamental pour le diagnostic de SMP non-Phi. Le stade initial est une phase cellulaire où la richesse peut être normale ou augmentée avec une hyperplasie des trois lignées hématopoïétiques prédominant sur la lignée mégacaryocytaire avec une dysmégacaryopoïèse (mégacaryocytes à noyaux hypo ou hyperlobés). A ce stade la fibrose systématisée est modérée et de nature réticulinique (observée avec la coloration de Gordon-Smith). Au stade évolué, la fibrose est prédominante, elle est associée à une ostéosclérose et évolue vers une fibrose collagène diffuse qui enserre les îlots hématopoïétiques résiduels pouvant aller jusqu'à une fibrose mutilante et une disparition de toute activité hématopoïétique. On assiste souvent à une hypoplasie des lignées érythroblastique et granuleuse tandis que la lignée mégacaryocytaire dysplasique persiste. L'enrichissement en blastes peut se voir à ce stade. Ces aspects anatomo-pathologiques sont observables dans les myélofibroses primitives et secondaires, mais également dans d'autres hémopathies (lymphome B/T, syndromes myélodysplasiques, leucémies à tricholeucoytes) ainsi que dans des tumeurs solides métastatiques ou des infections disséminées. Enfin, un consensus européen (Thiele 2005) permet de classer en 4 stades, allant de MF-0 à MF-3, les lésions selon le type et l'évolution de la fibrose réticulinique ou collagène et la présence d'ostéosclérose. Aussi plusieurs groupes (Gianelli 2012; Lekovic 2014) ont montré une corrélation entre l'intensité de la fibrose selon cette classification, les scores pronostiques et la survie globale des patients.

Enfin, la biopsie ostéo-médullaire permet également de discriminer la myélofibrose au stade préfibrotique de la thrombocytémie essentielle. En effet la classification de l'OMS 2008 (**Tableau 3**) stipule que la fibrose collagène, l'érythroblastose ou l'hypercellularité avec les anomalies caractéristiques de la lignée mégacaryocytaire retrouvées dans la PMF doivent être strictement absentes pour affirmer le diagnostic de TE. Cette distinction est importante puisque les patients porteurs d'une myélofibrose au stade préfibrotique comparés au « vraies » TE ont une survie à 15 ans moindre (59% vs 80%) et un risque de transformation en leucémie aigue plus élevé (0,6 vs 0,1% RR : 5,2) (Barbui 2011).

Figure 4. Lésions cytologiques et anatomopathologiques observées dans la myélofibrose



(A) Frottis sanguin : érythoblastose. (B) Frottis sanguin : dacryocytes. (C) Biopsie de moelle osseuse : ostéosclérose et fibrose collagène. (D) Biopsie de moelle osseuse : fibrose réticulinique

L'intérêt du caryotype est plus pronostique que diagnostique puisqu'aucune anomalie cytogénétique n'est récurrente. Hussein *et al* ont analysé les résultats de 21 études (entre 1987 et 2008) portant sur l'analyse des caryotypes dans la myélofibrose primitive et post/PV et TE (Hussein 2009). Dans la MFP, une anomalie cytogénétique est retrouvée dans 30% des cas. Les plus fréquentes sont la délétion 20q (del20q : 22 à 25%), la délétion 13q (del 13q : 14 à 25%) suivies par la trisomie des chromosomes 8, 9 et les anomalies du chromosome 1. Les myélofibroses post-TE ont des caractéristiques cytogénétiques similaires à celles des MFP. Les MF post-PV présentent au moins une anomalie dans 90% des cas. Dans ce sous groupe, l'anomalie du chromosome 1 est la plus fréquente (70% des cas) suivie par la trisomie 8, 9 et la délétion 20q. Les anomalies (notamment monosomies, et délétions) des chromosomes 3, 5, et 7 sont associées à la progression et au risque de transformation leucémique. Deux groupes cytogénétiques sont désormais distincts : le groupe des caryotypes normaux/favorables (délétion 20q, et délétion 13q) et les groupes des cytogénétiques défavorables (au moins une anomalie non del20q, non del13q). Ces dernières confèrent indépendamment des autres variables

un pronostic défavorable c'est pourquoi ce paramètre a été intégré dans le score pronostique le plus récent : le DIPSS+ (Gangat 2011).

Enfin, le diagnostic et plus récemment le pronostic des myélofibroses ont été bouleversés par les avancées de la biologie moléculaire. Nous avons déjà discuté dans la partie 2.1.1.1 des mutations spécifiques des gènes JAK2, MPL et de la calréticuline. Les mutations activatrices des gènes JAK2 et MPL sont désormais considérées comme des critères majeurs pour porter diagnostic de la PV, TE et MFP et celles de la calréticuline devraient être intégrées dans la prochaine classification OMS des hémopathies.

Les critères diagnostiques exigés par la classification 2008 de l'OMS (Swerdlow 2008) pour la MFP, PV et la TE sont résumés dans le **Tableau 3**.

Tableau 3. Critères diagnostiques selon l'OMS 2008 de la MFP, PV et TE

	MYELOFIBROSE PRIMITIVE	POLYGLOBULIE DE VAQUEZ	THROMBOCYTHEMIE ESSENTIELLE
Critères majeurs			
1	Prolifération et atypies de la lignée mégacaryocytaire associée à une fibrose réticulinique et/ou collagène OU	Taux d'hémoglobine > 18,5g/dL (H); 16,5 g/dL (F) ou	Taux de plaquettes >450 G/L
2	Ne correspondant pas aux critères de la LMC, PV ou SMD ou autre hémopathie myéloïde	Présence de la mutation JAK2V617F ou exon 12	Prolifération de la ligne mégacaryocytaire avec formes matures de grande taille
3	Présence d'un mutation de JAK2 V617F ou un autre marqueur de clonalité ou l'absence de preuve pour une MF secondaire		Ne correspondant pas aux critères de la LMC, MFP, MDS au autre hémopathie myéloïde
4			Présence d'un marqueur de clonalité et l'absence d'autre étiologie pour expliquer la thrombocytose
Critères mineurs			
1	Erythroblastose et myélémie	Prolifération des trois lignées hématopoïétiques à la BOM	
2	Augmentation du taux de LDH	Taux d'EPO sérique subnormal	
3	Anémie	Pousse spontanée des progéniteurs érythroïdes	
4	Splénomégalie palpable		

L'histoire naturelle des PV et TE suit un continuum allant de la phase chronique, à la phase de myélofibrose puis à la phase blastique. Les critères diagnostiques de la myélofibrose post-PV/TE ont été définis par l'International Working Group for Myeloproliferative Neoplasms Research and Treatment criteria (IWG-MRT) (Barosi 2008) et repris dans le **Tableau 4**. Le diagnostic requiert les 2 critères majeurs et au moins 2 critères mineurs.

Tableau 4. Critères diagnostiques selon l'IWG-MRT pour le diagnostic de myélofibrose post PV ou TE.

Critères majeurs	
1	Diagnostic antérieur de PV ou TE défini selon les critères de l'OMS
2	Fibrose médullaire grade 2-3 selon la classification européenne (Thiele et al. 2005)
Critères mineurs	
1	Leucoérythroblastose sur le frottis sanguin
2	Augmentation de la taille de la rate > 5cm ou l'apparition d'une splénomégalie non présente antérieurement
3	Apparition d'au moins 1 symptôme constitutionnel parmi perte de poids >10% en 6 mois, sueurs nocturnes, fièvre inexpliquée
4	Anémie ou l'interruption du recours aux saignées en l'absence de traitement cytoréducteur (PV)
5	Anémie avec diminution du taux d'hémoglobine > 2g/dL par rapport au taux de référence (TE)
6	Augmentation des du taux de lactate deshydrogénase (LDH)

2.4 LES SCORES PRONOSTIQUES et EVOLUTION DES MYELOFIBROSES

L'estimation de la survie globale pour cette hémopathie varie selon le stade évolutif de la maladie. Dans une étude européenne, en 2012, la survie globale médiane des myélofibroses primitives s'établit à 69 mois allant de 1 à 15 ans (Cervantes 2012). Cette variabilité a conduit à la construction de scores pronostiques pour tenter de discriminer les patients selon leur gravité.

2.4.1 Les scores de Lille, IPSS, DIPPS, et DIPSS-Plus

Initialement le score de Lille (ou de Dupriez) (Dupriez 1996) a été fondé sur les données de l'hémoglobine et du taux de leucocytes puis de nouveaux scores ont été définis : le score IPSS (International Prognostic Scoring System) (Cervantes 2009), des scores dynamiques tels que le DIPSS (Dynamic International Prognostic Scoring System) (Passamonti 2010), le DIPSS ajusté à l'âge et dernièrement le DIPSS-Plus ou DIPPS+ (Gangat 2011). Selon le nombre de facteurs de risque, les scores discriminent des catégories pronostiques de patients avec des survies médianes allant de 1 an pour les plus graves à plus de 15 ans pour les plus favorables. Les scores dynamiques permettent d'estimer le pronostic à n'importe quel moment de l'évolution. Ils sont basés sur des paramètres cliniques (les signes généraux et l'âge) et biologiques susceptibles de se modifier au cours du temps. Les signes généraux ou constitutionnels sont la perte de plus de 10% du poids en 6 mois, les sueurs nocturnes et la fièvre inexplicée.

Le **Tableau 5A** résume les critères clinico-biologiques requis pour les différents scores, et le **Tableau 5B** décrit l'estimation de la survie selon les catégories pronostiques.

Tableau 5. (A) Critères des scores de Lille, IPSS, DIPSS et DIPSS+ (B) Estimation de la survie médiane selon les catégories pronostiques

A

	Score de Lille	IPSS	DIPSS	DIPSS+
Hb<10g/dL	✓	✓	✓	✓
Leucocytes>4G/L ou > 30 G/L	✓	> 25G/L	✓	✓
Age > 65 ans		✓	✓	✓
Signes constitutionnels		✓	✓	✓
Blastes circulants ≥1%		✓	✓	✓
Plaquettes < 100G/L				✓
Caryotype défavorable				✓

B

Score	Score de Lille		IPSS		DIPSS		DIPSS plus	
	Nombre de facteurs	Survie médiane (années)	Nombre de facteurs	Survie médiane (années)	Nombre de facteurs	Survie médiane (années)	Nombre de facteurs	Survie médiane (années)
Faible	0	8	0	11,3	0	Non atteinte	0	15,4
Intermédiaire-1	1	2,4	1	7,9	1-2	14,2	1	6,5
Intermédiaire -2			2	4	3-4	4	2-3	2,9
Elevé	2	1,1	≥3	2,3	5	1,5	≥4	1,3

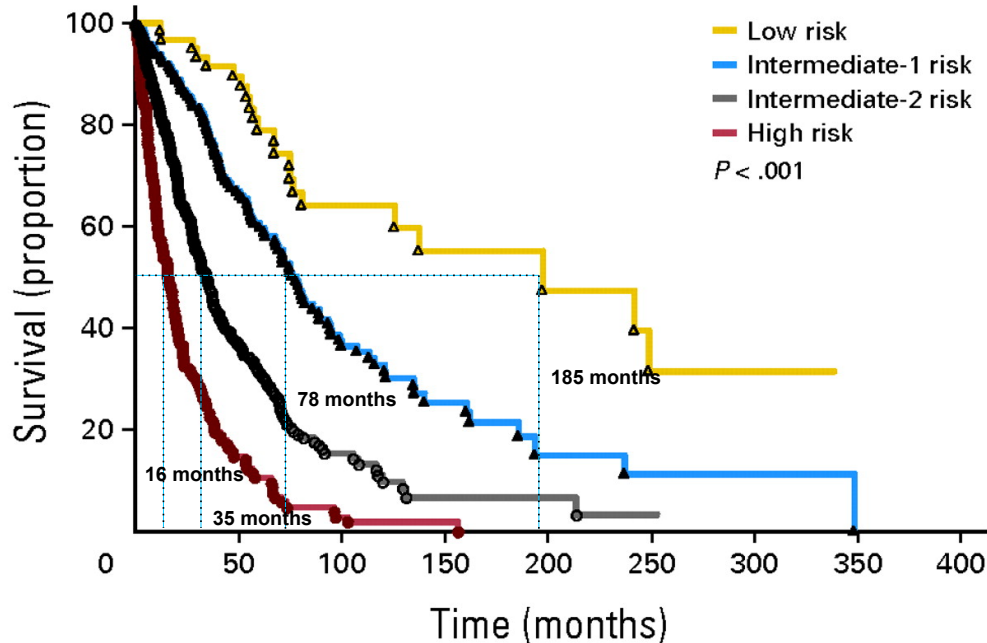
Ici, les anomalies cytogénétiques considérées comme défavorables sont : les caryotypes complexes, une ou plusieurs anomalies incluant la trisomie 8, la délétion 7, l'isochromosome 17q, la délétion 5, la délétion 12p, l'inversion du chromosome 3 ou le réarrangement du gène MLL en 11q23.

La **Figure 5** est issue de la publication relative au score DIPSS+ (Gangat 2011) dans laquelle celui-ci a été appliqué rétrospectivement sur une cohorte de 793 patients atteints de myélofibroses primitives. La survie médiane varie de 185 mois (15ans) pour les patients de faible risque à 16 mois pour les patients de haut risque. Ces scores pronostiques sont construits à partir de données issues de larges cohortes, ce qui en fait leur puissance statistique, néanmoins il est parfois difficile d'extrapoler les résultats puisque les thérapeutiques entreprises, les comorbidités et le suivi des patients ne sont pas connus.

Chez les patients atteints de myélofibroses secondaires, la survie globale est d'environ 7,5 ans selon les études. Dans ce groupe, l'application de ces scores est controversée (Hernandez-Boluda 2014). Néanmoins dans le cadre des myélofibroses secondaires, les travaux portant sur la valeur pronostique négative du caryotype complexe, de l'anémie, du taux de plaquettes et du pourcentage de

blastés circulants montrent le même impact significatif sur la survie que dans les MFP (Dingli 2006; Passamonti 2008).

Figure 5. Survie médiane selon les catégories pronostiques définies par le score DIPPS+

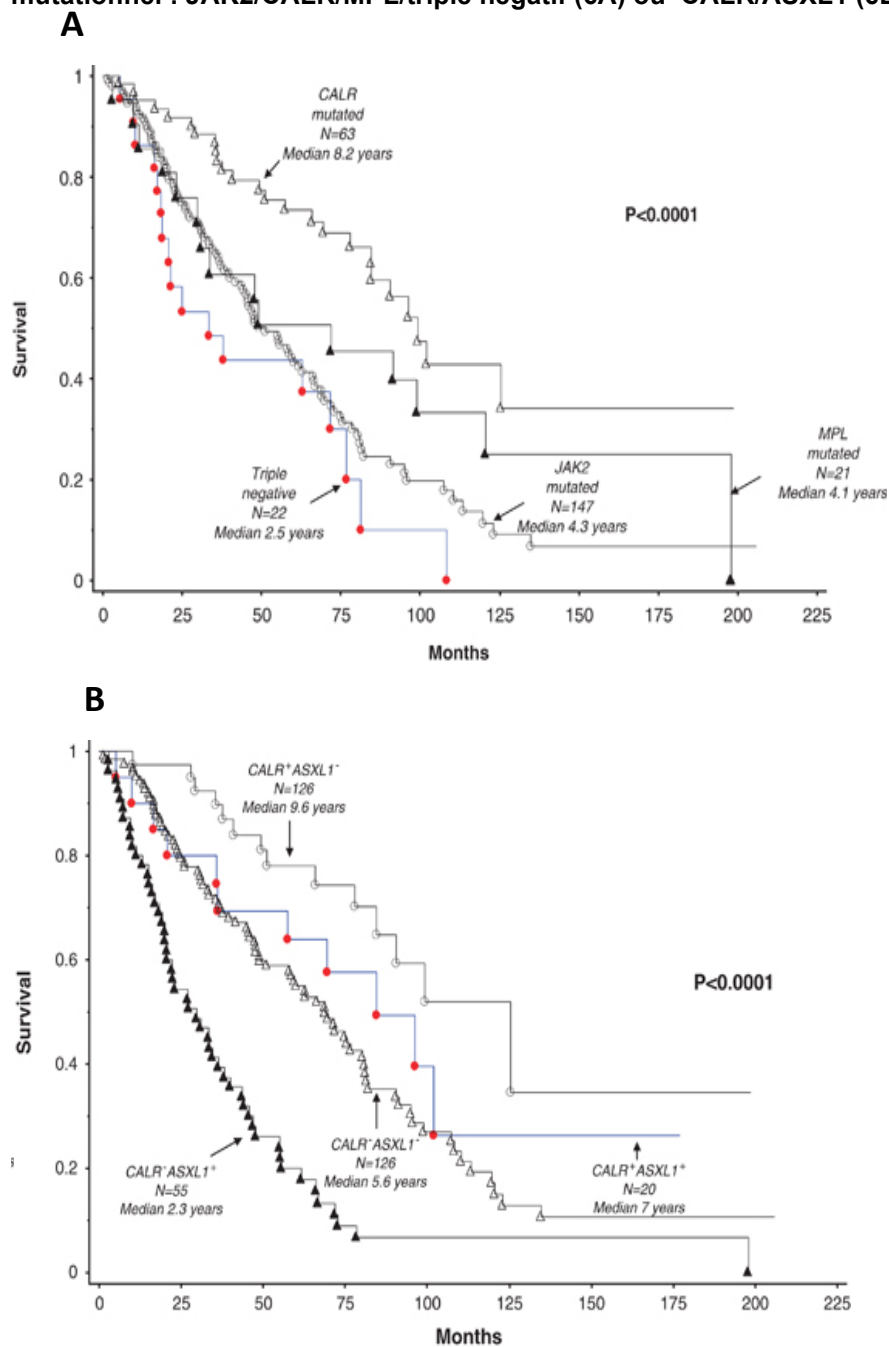


2.4.2 Vers une stratification pronostique incluant le statut moléculaire

Il n'y a actuellement pas de recommandation de stratification des malades selon les données de biologie moléculaire. Cependant, il a été montré dans les myélofibroses primitives que les patients mutés pour le gène CALR ont une meilleure survie indépendamment de l'âge, du score de DIPSS+ en comparaison des patients mutés pour les gènes MPL ou JAK2_{V617F} (**Figure 6A**). Par opposition, les patients triples négatifs (JAK2, MPL et CALR non mutés) ont le pronostic le plus défavorable avec une survie médiane de 2,5 ans et de risque de transformation leucémique 3,5 fois plus élevé que les patients CALR muté (CALR+) (Tefferi 2014). Enfin, les patients mutés pour le gène CALR forment un groupe hétérogène et peuvent être scindés en deux groupes selon présence associée ou non d'une mutation du gène ASXL1. Cette dernière confère un pronostic plus défavorable (**Figure 6B**). Deux nouveaux scores intégrant des données cliniques et biologiques ont donc été proposés en 2014 au congrès de la société américaine d'hématologie (ASH) : le score MIPSS (mutation-enhanced international prognostic scoring system) (Vannucchi 2014) et le score GPSS (genetics-based prognostic scoring system) (Tefferi 2014). Dans le score MIPSS, les variables sont un âge supérieur à 60 ans, la présence de signes

généraux, le taux d'hémoglobine inférieur à 10g/dL, le taux de plaquettes inférieur à $200 \cdot 10^9/L$, et le statut mutationnel : Triple négatif (TN), mutation des gènes JAK2 ou MPL, ASXL1 et SRSF2. Le score GPSS ne prend en compte que les données du caryotype et du statut moléculaire à savoir : les caryotypes très défavorables (3 points), défavorables (1 point), le statut mutationnel Triple Négatif (2 points), JAK2 muté (2 points), MPL muté (2 points), mutation CALR de type 2 (2 points), ASXL1 (1 point) and SRSF2 (1 point).

Figure 6. Survie globale de 253 patients porteurs d'une myélofibrose primitive selon le statut mutationnel : JAK2/CALR/MPL/triple négatif (6A) ou CALR/ASXL1 (6B)



2.4.3 Le risque de transformation leucémique

La transformation en myélodysplasie de haut risque (MDS HR) puis en leucémie aigue myéloblastique secondaire (LAM) est la complication la plus redoutée en cas de myélofibrose primitive ou secondaire. Cette évolution est associée à un pronostic très sombre. Les patients classés DIPSS intermédiaire-2 et élevé ont un risque augmenté de transformation 7,8 à 25 fois supérieur par rapport aux autres patients de risque plus faible (Passamonti 2010). Sur le plan thérapeutique, l'utilisation du phosphore³² est corrélée à un risque accru de transformation en MDS HR/LAM. L'augmentation du risque leucémogène en cas de traitement par hydroxyurée est débattu avec des résultats discordants selon les études chez les patients atteints de PV ou TE (Kiladjian 2003; Finazzi 2005). Il n'existe pas de telles données concernant la myélofibrose primitive. Les recommandations actuelles préconisent (Barbui 2011), par principe de précaution, d'éviter son utilisation chez les patients de moins de 40 ans.

Des modèles tentent de définir le risque de transformation leucémique. Tefferi *et al* ont montré que la combinaison des facteurs suivants : un caryotype défavorable (notamment isochrome 17q, inversion du chromosome 3, les caryotypes monosomiaux), un taux de blastes circulants supérieur à 2%, et un taux de plaquettes inférieur à 50 Giga/L, permettent de définir le risque à 3 ans de transformation en LAM. Si le risque est faible, intermédiaire ou élevé le taux de transformation en LAM est estimé respectivement à 3%, 10%, et 34% (Tefferi 2012). Barbui *et al* ont construit un autre score basé sur le taux de CRP (supérieur ou inférieur à 7mg/L), l'âge (> ou < à 65 ans) et le taux de blastes circulants (> ou < à 1%) permettant de définir trois niveaux de risque pour lesquels la survie sans leucémie à 8 ans est estimée respectivement à 88%, 48%, et 32% (Barbui 2013). Ces scores sont définis à partir de paramètres cliniques ou biologiques, pointant la « partie visible de l'iceberg ». Les mutations citées ci-dessus (ASXL1, TET2, EZH2...) sont considérées comme responsables en partie de la progression de la maladie, et précèdent donc les signes clinico-biologiques. Ainsi ces mutations ont été décrites comme pronostiques du risque leucémique indépendamment du score IPSS (Vannucchi 2013). En effet, Vannucchi *et al* ont évalué la signification pronostique de mutations de gènes tels que ASXL1, SRSF2, EZH2, TET2, DNMT3A, CBL, IDH1, IDH2, MPL et JAK2 dans la cohorte européenne des myélofibroses. Ils définissent un

statut mutationnel à haut risque de transformation en LAM (indépendamment du score IPSS) lorsqu'au moins un des 4 gènes suivants est muté : ASXL1, EZH2, SRSF2 and IDH1/2 Ces résultats ont été validés sur une seconde cohorte de la Mayo Clinic : une mutation d'ASXL1 et/ou d'EZH2 était associée à une survie plus faible et la mutation d'IDH1et/ou de SRSF2 au risque de transformation en LAM.

2.5 TRAITEMENT DES MYELOFIBROSES

Les recommandations pour la prise en charge des myélofibroses sont, à l'heure actuelle, relativement consensuelles (Tefferi 2014; Kroger 2015). Les indications thérapeutiques dépendent du score pronostique DIPSS du patient. L'abstention thérapeutique est recommandée pour les patients de faible risque et intermédiaire-1. En cas de symptômes liés à la myéloprolifération, à l'insuffisance médullaire et aux signes généraux, le traitement repose sur des traitements symptomatiques (cytoréducteur, érythropoïétine recombinante, support transfusionnel..). Chez les sujets jeunes il peut y avoir recours à l'interféron-alpha pour éviter le recours au traitement cytoréducteur de type hydroxyurée. Les patients de risque intermédiaire-2 et haut risque sont orientés en fonction de l'âge et des comorbidités vers un programme d'allogreffe ou un traitement par cytoréducteur ou par inhibiteur de JAK2. Nous allons dans cette partie détailler les traitements proposés en fonction du risque pronostique et plus particulièrement l'allogreffe et les inhibiteurs de JAK2.

2.5.1 Les patients de risque DIPSS faible ou intermédiaire-1 non symptomatiques

Cette situation concerne 50% des patients et conformément au modèle du DIPSS+, la survie médiane attendue des patients de bas risque et intermédiaire-1 est de 15 et 6 ans, respectivement. Dans ce contexte il est recommandé l'abstention thérapeutique puisqu'aucun traitement disponible actuellement ne prolonge la survie chez ces patients. En revanche, certains signes associés et non pris en compte dans la stratification pronostique peuvent conduire à l'introduction d'un traitement : l'hépto-splénomégalie, les douleurs osseuses, le prurit, les signes d'hématopoïèse extramédullaire, les antécédents de thromboses. Dans ce cas, les traitements symptomatiques tels que l'hydroxyurée, les corticoïdes, les androgènes (danazol) peuvent être utilisés. Chez le sujet jeune, l'interferon-alpha-2a est indiqué car reconnu comme ralentissant l'évolution naturelle de la myélofibrose (cf. paragraphe 5.2.2.3) et efficace sur les signes généraux, la splénomégalie et la myéloprolifération.

2.5.2 Les patients de risque intermédiaire 2 et haut risque

L'arsenal thérapeutique consiste d'une part en des traitements symptomatiques historiques comprenant les traitements cytoréducteurs, les agents

immunomodulateurs, les agents stimulant l'érythropoïèse, d'autre part en des molécules plus récentes telles l'interféron-alpha et les inhibiteurs de JAK2 qui permettent de diminuer spécifiquement la fibrose médullaire et la charge allélique mutationnelle JAK2_{V617F}.

2.5.2.1 Traitement de l'anémie

- Agent stimulant de l'érythropoïèse (ASE)

En l'absence de besoin transfusionnel (lorsque taux d'hémoglobine est compris entre 8 et 11 g/dL), de splénomégalie et lorsque le taux d'EPO sérique est inférieur à 125 UI/L, l'EPO recombinante peut être prescrite avec une efficacité d'environ 40% (Cervantes 2004). L'administration d'ASE peut entraîner une augmentation de la taille de la rate, c'est pourquoi elle n'est pas recommandée en cas de splénomégalie supérieure à 5 cm de débord.

- Androgènes et agents immunomodulateurs

En cas d'inefficacité ou de contre-indication à l'utilisation des ASE, les androgènes notamment le danazol (600mg/jour) peuvent être utilisés avec une efficacité variable entre 20 et 40%. Les corticoïdes (prednisone 0,25mg/kg/jour) sont également efficaces notamment sur la myéloprolifération et les signes généraux mais sont responsables d'une toxicité métabolique et infectieuse non négligeable. Les immunomodulateurs tels que les IMiDs (la thalidomide, le lenalidomide et plus récemment le pomalidomide) sont également prescrits à faible dose. Le lenalidomide permet d'obtenir une réponse au moins partielle dans 30% des cas avec l'observation d'une diminution du degré de fibrose médullaire et de la charge allélique (Marchetti 2004; Quintas-Cardama 2009).

2.5.2.2 Traitement de la myéloprolifération et splénomégalie

- Agents cytoréducteurs

L'hydroxyurée est actuellement le traitement de référence et de première intention chez les patients de plus de 40 ans. La réponse globale est de 40% (splénomégalie : 45%, signes généraux : 55%, leucocytose : 28%) (Martinez-Trillos 2010). Le recours au pipobroman (responsable d'un risque de transformation leucémique accru) est désormais abandonné à la faveur de l'hydroxyurée. D'autres médicaments

cytoréducteurs tels que la 6-mercaptopurine (purinéthol), la cladribine, le busulfan et le melphalan sont également été utilisés notamment chez les sujets âgés ou en situation palliative pour contrôler l'hyperleucocytose. Enfin l'anagrélide (Xagrid), inhibiteur de l'AMPc phosphodiesterase III, inhibe spécifiquement la lignée plaquettaire sans atteindre les autres lignées hématopoïétiques. Dans une étude de phase III (Etude 700-999) menée chez 455 patients porteur de TE et de PMF, le xagrid a permis d'obtenir taux de réponse complète de 60% (normalisation du taux de plaquettes ou au moins inférieur à 50% du taux initial) et de réponse partielle de 6% (diminution de 20 à 50% du taux de plaquettes initial).

- La splénectomie et irradiation splénique

La splénectomie est envisagée chez les patients symptomatiques et réfractaires au traitement cytoréducteur, et/ou en cas de dépendance transfusionnelle. La morbidité péri-opératoire est estimée à 30% et la mortalité à 9%. Les risques post-opératoires sont d'ordre hémorragiques, infectieux et thrombotiques (Tefferi 2000). L'alternative est la radiothérapie splénique (1Gray/jour pour des doses cumulées comprises entre 10 et 20 Grays) qui actuellement est de moins en moins utilisée car d'efficacité transitoire. La réalisation d'une splénectomie ou la radiothérapie splénique pré-allogreffe reste discutée aujourd'hui (cf paragraphe 2.5.2.3).

- L'interféron-alpha-2a et Interféron pegylé alpha-2a (PegIFNa-2a)

Initialement prescrit chez les patients atteints de LMC, PV et TE, l'IFN-alpha était d'indication et d'utilisation limitée pour le traitement des myélofibroses en raison de la toxicité médullaire et d'une mauvaise tolérance générale. La formulation pegylée, permettant une libération prolongée, a permis d'améliorer ces effets indésirables. Par exemple, lanotto et al rapporte les résultats suivants dans une cohorte de 62 patients : amélioration des signes généraux dans 82% des cas, réponse hématologique chez 64% des patients anémiques et chez 82% et 69% des patients présentant respectivement une thrombocytose et une hyperleucocytose. Une réponse splénique est observée chez 45% des patients. L'arrêt du traitement est plutôt le fait d'une progression (18% des cas) plutôt que d'une intolérance psychiatrique ou générale (8%) (lanotto 2013). D'autres études ont montré dans les myélofibroses primitives au delà de l'efficacité clinique une réduction des lésions

histo-pathologiques et de la charge allélique mutationnelle JAK2_{V617F} avec la forme pegylée (Silver 2009). D'autre part, le risque leucémogène n'est pas augmenté avec l'interferon-alpha-2a chez les patients atteints de PV (Finazzi 2005). Ainsi chez les sujets de moins de 40 ans, le recours à l'interféron en première intention est recommandé.

2.5.2.3 La greffe de cellules souches hématopoïétiques allogéniques (CSH)

L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques est une procédure thérapeutique complexe. La première étape est le conditionnement (à base chimiothérapie plus ou moins associée à de la radiothérapie) et la seconde étape consiste en la reconstitution hématopoïétique et immunitaire à partir d'un greffon de cellules souches hématopoïétiques allogéniques prélevé sur un donneur compatible. Cette procédure permet de prévenir la rechute via la chimiothérapie de conditionnement d'une part et l'effet « greffon contre leucémie » (GvL) médié par les lymphocytes T CD4+, CD8+ et NK du donneur d'autre part. Néanmoins l'allogreffe de CSH expose à un risque immunologique de type « réaction du greffon contre l'hôte » (GvH) aigue puis chronique et plus rarement de type rejet du greffon par le receveur. La GvH apparait après prise de greffe et se caractérise principalement par une atteinte du système cutanéomuqueux (rash, lichen), du tube digestif (diarrhées, vomissements, perte de poids, malabsorption), une atteinte hépatique, et plus rarement pulmonaire. Son traitement nécessite une majoration parfois intense des immunosuppresseurs. Les autres complications comprennent majoritairement la toxicité liée au conditionnement et le risque accru d'infections.

Le choix du greffon se fait en premier lieu sur la compatibilité des systèmes HLA (Human Leucocyte Antigen ou CMH : complexe majeur d'histocompatibilité) du donneur et du receveur. Le système HLA regroupe un ensemble de plus de 200 gènes dont un certains sont impliqués dans la réponse immunitaire. Les gènes du système HLA ont pour caractéristique commune d'être particulièrement polymorphes, exprimés de façon co-dominante et transmis à la descendance par haplotype complet. Le système HLA de classe I est exprimé par la majorité des cellules nucléées de l'organisme et par les plaquettes. Seuls les loci A, B et C sont véritablement impliqués dans le fonctionnement du système immunitaire. Le système HLA de classe II est exprimé par les cellules présentatrices d'antigène,

principalement les macrophages, les cellules dendritiques, les lymphocytes B et les lymphocytes T activés. Les principaux loci sont DR, DQ et DP.

Les différents types de donneurs sont : (I) les donneurs apparentés (ou familiaux) génoïdétiques (correspondant aux frères et sœurs avec une compatibilité HLA 10/10ème), ou haplo-identiques (correspondant à la fratrie, aux ascendants ou descendants du premier degré avec une comptabilité de 5/10ème) (II) les donneurs non-apparentés (donneur inscrit fichier international des donneurs de moelle osseuse) phéno-identiques (compatibilité 10/10ème) ou mismatch HLA (comptabilité 9/10ème) (III) le sang de cordon placentaire.

Il existe deux grands types de conditionnement en allogreffe de CSH : le conditionnement myéloablatif et le conditionnement d'intensité réduite. Le conditionnement dit myéloablatif conventionnel consiste à détruire complètement la moelle pathologique et le système immunitaire du receveur. La toxicité de ce type de conditionnement est importante (mucite, aplasie prolongée, maladie veino-occlusive sinusoïdale) rendant ce traitement inadapté aux personnes de plus de 50-55 ans et/ou ayant des comorbidités. Dans les années 1980, l'objectif a été de réduire l'intensité du conditionnement afin de diminuer la toxicité et donc la mortalité liée à la greffe (TRM) ; l'effet anti-tumoral repose alors moins sur le conditionnement que sur l'effet GvL. Le conditionnement n'étant pas totalement myéloablatif, les cellules hématopoïétiques du receveur et du donneur cohabitent initialement, créant un chimérisme hématopoïétique. Il est maintenant démontré qu'un chimérisme mixte persistant est associé à une augmentation du risque de rechute. Il doit être converti en chimérisme complet du donneur, notamment par l'injection de lymphocytes du donneur (DLI) afin favoriser l'effet GvL. Ces trois caractéristiques, à savoir la faible toxicité du conditionnement, la présence d'un chimérisme mixte transitoire et la myélo-suppression transitoire définissent les conditionnements à intensité réduite (Apperley 2012).

L'histoire naturelle de la myélofibrose primitive ou secondaire est variable selon les patients. La morbi/mortalité peut être liée aux complications de la myélofibrose (cytopénies, splénomégalie, hypertension portale..) ou due à une progression en leucémie aigue myéloblastique. L'allogreffe de CSH dans ce contexte est une option thérapeutique potentiellement curatrice. En effet de véritables rémissions complètes histo-pathologiques et moléculaires sont observées post allogreffe avec un taux variables selon les études compris entre 20 et 30%. Néanmoins cette procédure

expose à des complications parfois sévères citées ci-dessus nécessitant de prendre en compte divers facteurs liés au patient et à sa maladie (comorbidités, score pronostique). Le **Tableau 6** résume les principales études de greffe de cellules souches allogènes avant l'ère des inhibiteurs de JAK1/2 (Guardiola 1999; Devine 2002; Daly 2003; Deeg 2003; Kroger 2005; Rondelli 2005; Kerbauy 2007; Patriarca 2008; Gupta 2009; Kroger 2009; Bacigalupo 2010; Ballen 2010; Stewart 2010; Lissandre 2011; Robin 2011; Abelson 2012; Apperley 2012; Ditschkowski 2012; Nivison-Smith 2012; Scott 2012; Gupta 2014; Lussana 2014; Robin 2014; Rondelli 2014). La principale limite de ces études est l'hétérogénéité des patients inclus (souvent tous risques confondus) et des conditionnements. Jusqu'à présent, seulement deux études prospectives ont été menées chez les patients atteints de myélofibrose pour évaluer la faisabilité et l'efficacité des conditionnements RIC à base de Fludarabine/busulfan (Kroger 2009) et fludarabine/melphalan (Rondelli 2014). De nombreuses interrogations persistent, auxquelles les études rétrospectives apportent néanmoins des réponses.

Tableau 6. Résumé des principales études d'allogreffes dans le cadre de myélofibroses primitives et secondaires

Référence	Nb de patients	Type de conditionnement	Age médian (années)	GVH chronique extensive (% des patients)	Rechute	Mortalité liée à la greffe	Survie globale
CONDITIONNEMENT MYELO-ABLATIF							
Guardiola et al (1999)	55	ICT (n=35), Autre (n=20)	42	29%	18%	27% (à 1 an)	39% (à 5 ans)
Deeg et al (2003)	56	ICT (n=12), Busulfan (n=14)	43	50%	58%	20% (à 1 an)	31% (à 5 ans)
Daly et al (2003)	25	ICT (n=25)	51	25%	16%	48% (à 1 an)	41% (à 2 ans)
Kerbauy et al (2007)	104	ICT (n=15), Busulfan (n=80), Autres (n=9)	49	59%	11%	34% (à 5 ans)	61% (à 7 ans)
CONDITIONNEMENT à INTENSITE REDUITE							
Devire et al (2002)	4	Melphalan/fludarabine	54	25%	NR	0% (à 1 an)	100% (à 1 an)
Rondelli et al (2005)	21	Multiplés	53	38%	16%	10% (à 1 an)	85% (à 2 ans)
Kröger et al (2005)	21	Busulfan/fludarabine	51	23%	16%	16% (à 1 an)	84% (à 3 ans)
Kröger et al (2009)	103	Busulfan/fludarabine	55	24%	29%	16% (à 1 an)	67% (à 5 ans)
Bacigalupo et al (2010)	21	Thiotépa	55	28%	19%	24% (à 1 an)	45% (à 5 ans)
Gupta et al (2014)	233	Multiplés	55	42%	43%	24% (à 5 ans)	47% (à 5 ans)
Rondelli (2014)	66	Melphalan/fludarabine	55	12%	15%	22% (à 2 ans GA), 66% (à 2 ans GNA)	75% (à 2 ans GA), 35% (à 2 ans GNA)
CONDITIONNEMENT MYELO-ABLATIF et INTENSITE REDUITE							
Patriarca et al (2008)	100	RIC/MAC	49	11%	23%	43% (à 3 ans)	42% (à 3 ans)
Gupta et al (2009)	46	RIC/MAC	59	NR	14%	27% (RIC) / 48% (MAC) (à 3 ans)	69% (RIC) / 48% (MAC) (à 3 ans)
Stewart et al (2010)	51	RIC/MAC	45	29% (RIC) / 22% (MAC)	46% (RIC) / 15% (MAC)	32% (RIC) / 41% (MAC) (à 2 ans)	31% (RIC) / 44% (MAC) (à 3 ans)
Ballen et al (2010)	320	RIC/MAC	51	NR	25 à 32%	25% (at day 100)	44% (à 3 ans)
Lissandre et al (2011)	39	RIC/MAC	49	48%	16%	30% (à 3 ans)	60% (à 3 ans)
Robin et al (2011)	147	RIC/MAC	51	20%	24%	16% (à 1 an)	37% (à 5 ans)
Abelsson et al (2012)	92	RIC/MAC	50	NR	10%	24% (RIC) / 32% (MAC) (à 2 ans)	49% (RIC) / 32% (MAC) (à 2 ans)
Ditschkowsky et al (2012)	76	RIC/MAC	45	23%	19%	36% (à 5 ans)	53% (à 5 ans)
Nivison-Smith et al (2012)	57	RIC/MAC	46	NR	12%	25% (à 1 an)	58% (à 5 ans)
Lussana et al (2013)	250	RIC/MAC	56	37%	32%	28% (à 3 ans)	55% (à 3 ans)
Scott et al (2012)	170	RIC/MAC	51	55%	10%	34% (à 5 ans)	57% (à 5 ans)
Robin et al (2014)	35	RIC/MAC	54	3%	42%	35% (à 2 ans)	44% (à 2 ans)

- La sélection des patients éligibles à la greffe

L'allogreffe est grevée d'une mortalité liée à la procédure elle-même (TRM) comprise entre 10 et 66% selon les séries. Ainsi, pour que ce risque soit acceptable le pronostic de la maladie doit être sombre en l'absence d'allogreffe. Des outils rendant compte du pronostic pré et post-allogreffe des patients sont donc nécessaires. Parmi les scores pronostiques, le score DIPSS (Passamonti 2008) est celui qui, aujourd'hui, guide l'indication d'allogreffe. Scott *et al* (Scott 2012), ont évalué le potentiel du score de DIPSS à prédire l'évolution post greffe chez les patients allogreffés. Les patients avec un score de DIPSS pré-greffe élevé ont un risque mortalité post allogreffe et de la mortalité non liée à la rechute respectivement 4 fois et 3,5 fois plus élevé par rapport aux patients de bas risque. La survie médiane n'est pas atteinte dans le groupe bas risque tandis qu'elle est de 7 ans dans le groupe intermédiaire-2 et de 2,5 ans chez les patients de haut-risque. Chez les patients de risque intermédiaire-2 et élevé, ces résultats sont comparativement meilleurs à ceux décrites dans la publication princeps du score de DIPSS (où seulement 1,5% des patients ont été allogreffés). En effet, rappelons que les survie globales selon le DIPSS sont estimées pour les patients de risque intermédiaire-2 à 4 ans et à 1,5 ans pour les patients de haut risque (Passamonti 2010). Ainsi le score DIPSS pré-greffe prédit le devenir post allogreffe des patients porteurs d'une myélofibrose primitive et permet de définir objectivement les patients pour lesquels l'indication d'allogreffe pourrait être retenue. Actuellement, on l'allogreffe n'est pas recommandée chez les patients de faible risque compte tenu de la toxicité potentielle de la procédure de greffe et de l'absence d'avantage en survie par rapport au traitement conventionnel. L'allogreffe est par contre recommandée chez les patients de risque intermédiaire-2 et élevé selon le DIPSS malgré la toxicité accrue dans ce sous groupe de patients (Tefferi 2014).

Ces données ont été plus récemment corroborées en 2015 par l'étude de Kröger *et al* (Kroger 2015). Cette étude de registre porte sur le pronostic des patients de moins de 65 ans porteurs d'une myélofibrose primitive allogreffés ou non avant l'ère des inhibiteurs de JAK2. Les données des patients sont issues du registre européen et américain d'allogreffe (cohorte des patients allogreffés n=188) et de la base européenne DIPSS (cohorte des patients non allogreffés n=255). Le score de DIPSS était défini à la date de greffe dans le groupe des patients allogreffés. Dans le groupe

des patients non allogreffés le score DIPSS était une variable temps-dépendant : en fonction de la progression de la maladie le patient pouvait changer de groupe de risque et ses données étaient analysées en regard du groupe de risque correspondant de la cohorte des patients allogreffés. La conclusion principale est que l'allogreffe ne bénéficie qu'aux patients avec un score de DIPSS intermédiaire-2 et élevé. En effet, le risque relatif de décès chez les patients allogreffés par rapport à ceux non allogreffés en fonction du risque DIPSS est : 5.6 (95% CI, 1.7-19; p=0.0051) pour les faibles risques, 1.6 (95%CI, 0.79-3.2; p=0.19) pour les risques intermédiaire-1, 0.55 (95% CI, 0.36-0.83; p=0.005) pour les risques intermédiaire-2 et 0.37 (95% CI, 0.21-0.66; p=0.0007) pour les haut risque. La survie à 5 ans des patients allogreffés et non allogreffés est de 69% et 95% pour les risques faibles, 52% vs 77% pour les intermédiaire-1, 50% vs 41% pour les intermédiaire-2, et 32% vs 11% pour les risques élevés. Néanmoins, les patients non allogreffés dans cette étude n'avaient pas reçu d'inhibiteur de JAK2 et nous verrons dans le chapitre suivant l'apport de ces nouvelles molécules sur le contrôle et la survie des patients de risque intermédiaire et élevé.

Le pronostic des leucémies aiguës myéloblastiques secondaires à une myélofibrose est catastrophique avec un taux d'échec des chimiothérapies d'induction important et une survie globale d'environ 5 mois (Klyuchnikov 2012). Dans cette situation la greffe ne bénéficie qu'aux patients ayant obtenu une rémission complète après chimiothérapie. Cahu *et al* (Cahu 2014) rapportent que même chez ces patients les résultats sont décevants avec une survie globale à 3 ans est seulement de 20%, une TRM à 3 ans de 22% et une incidence cumulée de rechute à 3 ans de 61%.

Il ne faut donc pas attendre la transformation blastique pour poser l'indication d'allogreffe et le moment auquel la greffe doit être envisagée peut être difficile à trouver. En effet, les patients de risque intermédiaire-1 ont l'état général requis pour bénéficier de la greffe alors que leur pronostic n'incite pas à entreprendre une telle procédure. Ensuite l'évolution de la maladie, le développement de signes généraux incluant un hypersplénisme (hypertension portale), asthénie, cachexie liée à un hyper catabolisme, et les complications liées à l'insuffisance médullaire ou la myéloprolifération sont autant de facteurs impactant négativement la faisabilité et l'efficacité de la greffe.

Pour aider à la sélection des patients éligibles à l'allogreffe, le score de comorbidité

HCT-CI (ou score de Sorrow) est sans nul doute un score à prendre en compte. Il intègre et pondère les paramètres liés au receveur impactant la survie de manière indépendante au statut de la maladie à la greffe (Sorrow 2005). Or, dans les études de Scott *et al* et Ditschkowski *et al*, ce score s'avère peu efficace dans le cadre des myélofibroses puisque les auteurs montrent une relation inverse entre l'évolution post allogreffe et le score HCT-CI pré-greffe (Ditschkowski 2012; Scott 2012). C'est pourquoi, deux scores pronostiques de la survie post allogreffe ont été proposés. D'une part le score de Bacigalupo considère les facteurs suivants : un nombre de transfusions de culots globulaires supérieur à 20, une splénomégalie supérieure à 22 cm et un recours à un donneur non apparenté comme facteurs de mauvais pronostic post allogreffe (Bacigalupo 2010). En effet, la survie globale à 3 ans des patients de faible risque (0 ou 1 facteur de risque) et de haut risque (au moins 2 facteurs de risque) est respectivement de 77% et 8%. D'autre part, pour Alchalby *et al*, les facteurs impactant la survie globale post allogreffe de manière défavorable sont la présence de signe généraux, l'âge supérieur à 57ans et les patients non mutés JAK2_{V617F} (Alchalby 2012).

- L'intérêt de la splénectomie pré-greffe

L'intérêt de la splénectomie pré-allogreffe est débattu depuis que des données contradictoires sur la prise de greffe d'une part et la survie d'autre part ont été publiées. Une série de la Mayo Clinic portant sur 314 patients splénectomisés avant la greffe rapporte une morbi-mortalité péri-opératoire de 28% (Mesa 2006). Dans trois grandes études, la splénectomie permet d'améliorer la prise de greffe chez les patients porteurs de splénomégalie ainsi que la survie globale (Robin 2011; Scott 2012; Rondelli 2014). Dans la série rapportée par Kröger *et al* le délai de récupération de la neutropénie est plus rapide chez les patients splénectomisés versus non splénectomisés (Kroger 2009). Mais toutes les études ne s'accordent pas sur ce point. Ballen *et al* par exemple, montre que la splénectomie ne diminue pas le risque d'échec de prise chez 320 patients montrant au contraire un effet délétère de celle-ci sur la mortalité non liée à la maladie (Ballen 2010). De même, Kerbaux *et al* et Stewart *et al* ne montrent pas d'association entre la splénectomie, la prise de greffe et la survie globale (Kerbaux 2007; Stewart 2010). Aussi, des séries de cas rapportent la possibilité de prise de greffe avec des conditionnements RIC chez des

patients avec une splénomégalie majeure supérieure à 30 centimètres de débord, et il est alors observé une réduction de celle-ci en post allogreffe de manière parallèle à la réduction de la myélofibrose médullaire (Ciurea 2008). D'autre part, le rôle exact de la rate dans la reconstitution immunitaire et l'association avec le risque de GvH post allogreffe est mal défini. Michallet *et al* et Boström *et al* rapportent un risque accru de GvH chez les patients splénectomisés toutes pathologies confondues (Bostrom 1990; Michallet 1991). Mais cet effet de la splénectomie sur l'incidence de GvH n'a pas été retrouvé dans toutes les séries. Au contraire, Kröger décrit dans l'étude citée ci-dessus que le taux de rechute est plus élevé en cas de splénectomie pré-greffe : 51% contre 20% ($p=0,005$).

Actuellement, les dernières recommandations préconisent que la splénectomie doit être discutée au cas par cas en considérant en premier la morbi-mortalité péri-opératoire.

- Les sources de cellules souches allogéniques

Dans le cas des allogreffes pour myélofibroses, lorsque le conditionnement est myéloablatif, il n'a pas été décrit d'impact selon que le donneur était apparenté ou non apparenté (avec plus ou moins un mismatch HLA) (Kerbaux 2007). De même en cas de donneur apparenté avec mismatch HLA. Cependant, trois études montrent qu'avec les conditionnements RIC, il existe un effet délétère du recours aux donneurs non-apparentés ou aux donneurs avec mismatch HLA. Dans la première étude menée au sein du groupe EBMT, le taux de couples donneur/receveur avec mismatch HLA s'élève à 30%. La mortalité non liée à la maladie (NRM), la mortalité liée à la transplantation (TRM), la survie sans rechute, et la survie globale sont significativement impactées défavorablement par le mismatch HLA (Kroger 2009). En effet, la TRM en cas de donneurs non apparentés avec mismatch HLA augmente à 38% contre 12% avec des donneurs non-mismatch ($p=0,03$). Dans une autre étude du groupe CIBMTR, le donneur est un donneur non familial dans 50% des cas. La mortalité liée au traitement est estimée à 15% en cas de greffe avec donneur intrafamilial contre 49% avec donneur non apparenté (Ballen 2010). Enfin, dans l'étude prospective MPD-RC 101, le recours à des donneurs avec mismatch HLA confère un risque d'échec de prise estimé à 24% versus 3% en cas de donneur

apparenté. Le taux de TRM est également plus élevé en cas de donneur non apparenté établi à 49% (Rondelli 2014).

Concernant les donneurs alternatifs, Robin *et al* ont décrit en 2014, la faisabilité de l'utilisation des unités de sang de cordon placentaires dans cette pathologie (Robin 2014). Désormais la pratique de l'haplo-greffe permet de pallier au manque de donneur. L'expérience de celle-ci dans la myélofibrose est faible, et elle a été rapportée chez 27 patients dans une étude comportant 95 patients au total. Le conditionnement, identique pour tous les patients, était à base de thiotepa/fludarabine et busulfan (TBF). Le taux de rechute était faible chez ces patients estimé à 16%, et la survie globale à deux ans était estimée à 69% (Bregante 2016).

- La toxicité du conditionnement

Les patients atteints de myélofibrose ont un risque d'hépatotoxicité et en particulier de maladie veino-occlusive plus important. La maladie veino-occlusive hépatique est une atteinte des capillaires sinusoides hépatiques d'origine toxique, entraînant une obstruction des petites veines hépatiques. L'augmentation de l'incidence MVO en cas de greffe sur terrain de myélofibrose peut être reliée au développement d'une hématoïèse extra-médullaire hépatique et à la toxicité des chimiothérapies du conditionnement. Les études avec des conditionnements MAC rapporte en cas de myélofibrose un incidence élevée de MVO pouvant atteindre 30% (Kerbaux 2007). Dans l'étude de l'EBMT de Kröger avec les conditionnements RIC ce taux était diminué à 20% dont 18% étaient des formes légères à modérées (Kroger 2009).

Afin de réduire l'hépatotoxicité liée au conditionnement, Rezvani *et al*. (Rezvani 2013) ont évalué prospectivement, l'administration inversée de cyclophosphamide (Cy) puis de busulfan (Bu) (à posologies adaptées) chez 20 patients porteurs de MF. Rappelons que la détoxification du cyclophosphamide implique des stocks de glutathion eux mêmes consommés par le busulfan. En comparaison des cohortes traitées par Bu puis Cy, les patients conditionnés avec le schéma Cy puis Bu avaient une hépatotoxicité moindre et un taux de TRM plus bas à J100 post greffe 2% vs. 13%.

- La prise de greffe taux de rechute post allogreffe

D'après le **Tableau 6**, le taux de rechute post allogreffe varie entre 10 et 58%. Concernant l'effet anti-tumoral/anti-fibrotique du conditionnement, il n'a pas été observé davantage de rechutes dans les séries comportant des conditionnements de type RIC comparés aux conditionnements MAC à base irradiation corporelle totale (ICT) ou de cyclophosphamide et busulfan (Bu/Cy). Néanmoins une étude de Slot *et al* a mis en évidence un taux de rechute augmenté chez les patients ayant reçu un conditionnement non myéloablatif de type ICT 2gy /Fludarabine par rapport aux patients traités par des conditionnement d'intensité réduite de type Busulfan/fludarabine/anti-thymoglobuline (Slot 2015). Les auteurs font l'hypothèse que le conditionnement influe sur la sécrétion de stroma-derived factor-1 (SDF-1), FGF (fibroblast growth factor) and PDGF-B (platelet derived growth factor-beta) qui seraient des régulateurs du homing des cellules souches. Ils montrent que les conditionnements à base de fludarabine et de cyclophosphamide entraîne une sécrétion plus importante de SDF-1a comparés aux conditionnements type Fludarabine/radiothérapie, avec pour conséquence une meilleure prise de greffe.

Les myélofibroses sont associées à un taux d'échec de prise de greffe est plus important (que celle observée dans les leucémies aiguës myéloblastiques) variant entre 5 et 25% selon les études citées dans le **Tableau 6**. Dans la myélofibrose, les thérapeutiques mis en œuvres avant la greffe (hormis l'interféron) ne permettent pas une réduction de la masse tumorale médullaire pré-greffe. Or, il a été décrit précédemment que les clones tumoraux médullaires ont une action sur la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires et fibrosantes par le microenvironnement non clonal. Les chimiothérapies d'induction utilisées dans les LAM ne peuvent être utilisées en cas de myélofibrose car sont compliquées d'une récupération hématopoïétique beaucoup plus lente. L'intérêt de diminuer le niveau de fibrose et de modifier l'environnement médullaire pré-greffe via l'utilisation pré-greffe d'inhibiteurs de JAK2 ou d'interféron-alpha, d'agent immunomodulateurs ou anticytokines est actuellement en cours d'investigation.

En post-greffe, les réinjections de lymphocytes du donneur permettent d'améliorer la prise de greffe en cas de chimérisme incomplet (Kroger 2009; Klyuchnikov 2012). De plus, la modulation de l'immunosuppression pourrait s'appuyer sur les données de charge allélique post allogreffe. En effet Kröger *et al* rapportent que la détection à 6

mois post allogreffe de JAK2_{V617F} est prédictive du risque de rechute (30% vs 5%) (Alchalby 2010). Aussi, une corrélation entre les injections de lymphocytes du donneur (DLI) et la baisse de la charge allélique en cas de chimérisme mixte a été rapportée (Kroger 2009).

- Le risque de réaction du greffon contre l'hôte (GvH)

Concernant l'incidence de la GvH, dans les myélofibroses les taux rapportés en terme de GvH aigue et chronique varient entre 3 et 59% avec notamment une incidence de GvH chronique extensive pouvant atteindre 40%. Nous avons discuté précédemment de l'impact de la splénectomie pré-greffe et du type de donneur sur le risque de GvH. Sur le plan physiopathologique, la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires (pré-existante à la greffe, ou en réponse à l'agression du conditionnement) est considérée comme un médiateur du développement d'une GvH. L'amélioration des conditionnements et le contrôle pré-greffe de la maladie pourraient également à l'avenir permettre de modifier cette incidence très élevée.

2.5.2.4 Les inhibiteurs de JAK2

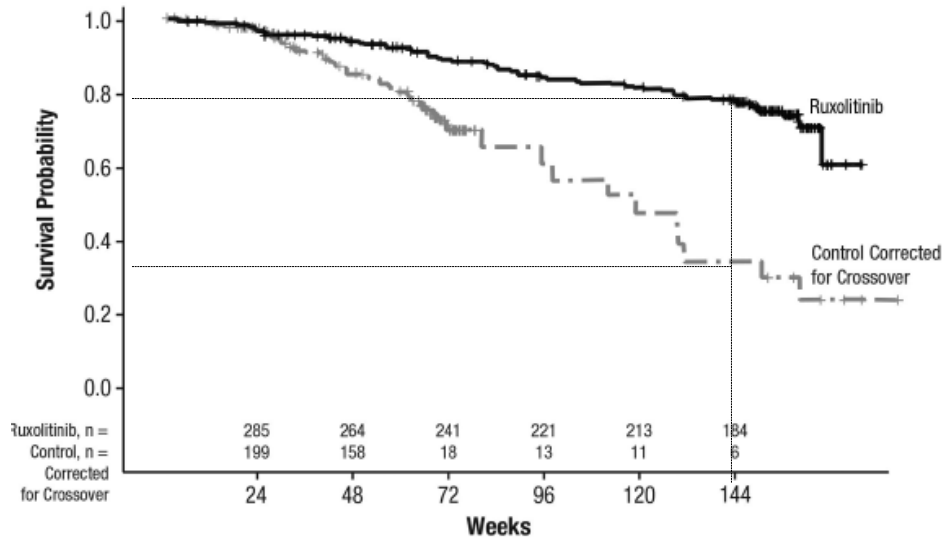
Le ruxolitinib (Jakavi) est le premier inhibiteur sélectif des kinases JAK1/2. C'est un inhibiteur compétitif du domaine kinase catalytique et non du domaine pseudo-kinase impliqué dans la mutation JAK2_{V617F}. Il inhibe donc les kinases JAK2 sauvages et mutantes. L'efficacité du ruxolitinib semble similaire entre les patients JAK2 mutés et les patients JAK2 non mutés (Harrison 2012; Verstovsek 2012).

Débutées en 2009, les deux études de phase III, COMFORT-I (Verstovsek 2012) et II (Harrison 2012) ont été menées chez des patients avec une myélofibrose primitive et secondaire et ont comparé le ruxolitinib au placebo (COMFORT-I : 309 patients) ou au meilleur traitement disponible (MTD) (COMFORT-II : 219 patients). Les patients inclus étaient de risque intermédiaire ou élevé selon le score IPSS et non éligibles à une allogreffe. L'âge médian dans les cohortes ruxolitinib était de 66 ans (COMFORT I) et 67 ans (COMFORT II). Dans les deux études, le critère de jugement principal était la réduction de la taille de la rate de 35% par rapport à la taille à l'inclusion. Parmi les patients inclus, 70% étaient mutés pour le gène JAK2. A 24 semaines, le ruxolitinib a permis dans les 2 études une réduction significative du

volume splénique dans 41% des cas contre 0 à 1% dans le groupe placebo/MDT ($p < 0,0001$). Chez les patients mutés $JAK2_{V617F}$, il a été noté une réduction de la charge allélique de 10% dans l'étude COMFORT-I et de 7% dans l'étude COMFORT-II, tandis qu'une augmentation a été observée dans les bras contrôles. Aussi, dans le groupe ruxolitinib, une amélioration des signes généraux et de la qualité de vie a été mise en évidence. La fréquence globale des effets indésirables graves a été similaire entre les groupes comparatifs de chaque étude et estimé à 30%. Dans l'étude versus placebo (COMFORT-I), la fréquence de l'anémie de grade 3 ou 4 a été de 45,2% dans le groupe Ruxolitinib versus 19,2% dans le groupe placebo et celle de la thrombopénie de 12,9% versus 1,3%. Dans l'étude COMFORT-II, l'incidence des infections était par contre plus élevée dans le bras ruxolitinib à 63,7% contre 42,5% dans le groupe MDT.

Récemment une étude a comparé la survie des patients inclus dans ces deux études après 3 ans de suivi. Deux groupes ont été constitués : un groupe ruxolitinib et un groupe contrôle mixte (placebo et MDT). Les données ont été analysées en intention de traitement et avec un ajustement des survies des patients traités dans le bras placebo (un cross over était prévu dans le protocole COMFORT-I en cas de non réponse) (**Figure 7**). La survie globale à 144 semaines est 78% dans le bras ruxolitinib contre 31% dans les groupes placebo ajusté et MDT (HR=0.65; 95%CI: 0.46-0.90; P=0.01). Ces résultats sont très encourageants, mais le suivi à long terme est encore limité (34 mois dans COMFORT-I et II) (Vannucchi 2015). Les actualisations à 5 ans et 10 ans permettront d'avoir le recul suffisant pour décrire l'efficacité et la sécurité d'emploi à long terme du ruxolitinib. De plus, dans ces études les données concernant l'efficacité de ces inhibiteurs en cas de caryotypes complexes ne sont pas détaillées. Aussi l'impact de mutations additionnelles d'ASXL1, TET2, EZH2, SRSF2 sur la sensibilité au traitement n'est pas connu.

Figure 7. Survie des patients de l'étude COMFORT I/II selon groupe Ruxolitinib/MTD ou placebo



Il existe des inhibiteurs de JAK1/2 de seconde génération en cours d'investigation notamment le fedratinib (SAR302503), le momelotinib (CYT3879) et le pacritinib (SB1518).

L'effet des inhibiteurs de JAK1/2 s'explique entre autres par le blocage de la voie intracellulaire de signalisation JAK/STAT et la diminution de la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires. Aussi, des études ont désormais montré l'impact du ruxolitinib sur la charge allélique quelque soit la valeur initiale chez les patients mutés JAK2_{V617F} (Deininger 2015) et l'amélioration ou la stabilisation de la fibrose médullaire chez des patients répondeurs (Kvasnicka HM 2013).

Actuellement, des schémas avec du ruxolitinib associé à des ASE pour réduire l'anémie, ou à des agents immunomodulateurs (NCT01644110), hypométhylants (NCT02076191), à des inhibiteurs histones désacétylases (NCT02267278) visant à cibler spécifiquement le compartiment clonal et à restaurer l'hématopoïèse normale sont en cours d'investigation.

Ainsi, les patients porteurs de myélofibrose de risque intermédiaire-2 et haut risque semblent bénéficier d'une approche par allogreffe si l'âge et les comorbidités rendent la procédure réalisable. Néanmoins, les taux de succès restent insuffisants et la toxicité importante. L'émergence des conditionnements d'intensité réduite d'une part

mais également l'apparition du ruxolitinib d'autre part semblent modifier les paramètres de survie et de réponse des patients chez les patients allogreffés ou non. Afin d'étudier ces différents facteurs, nous avons réalisé une étude rétrospective basée sur l'expérience de l'allogreffe dans la myélofibrose au CHU de Nantes entre 2000 et 2014. Nous avons souhaité comparer la survie et ses facteurs pronostiques de patients éligibles pour une allogreffe en fonction de la réalisation ou non de cette procédure. Parmi la cohorte de patients étudiés, un certains nombres d'entre eux ont été traités par ruxolitinib.

3 IMPACT DE L'ALLOGREFFE POUR LE TRAITEMENT DE LA MYELOFIBROSE PRIMITIVE OU SECONDAIRE : RESULTATS DE L'EXPERIENCE NANTAISE

3.1 OBJECTIFS DE L'ETUDE

L'objectif principal de cette étude rétrospective était l'analyse en « intention de greffer » du devenir d'une cohorte rétrospective de patients atteints de myélofibrose primitive ou secondaire orientés vers une stratégie d'allogreffe.

Les objectifs secondaires étaient :

- l'analyse de la survie globale de la cohorte entière, des patients allogreffés et des patients pour lesquels la procédure n'avait au final pu aboutir
- l'analyse de l'impact du statut mutationnel (JAK2, CALR, MPL) sur la survie
- l'analyse de l'impact du traitement par inhibiteur de JAK2 chez les patients finalement non allogreffés
- déterminer des sous-groupes de patients bénéficiant au final de l'allogreffe dans cette indication

3.2 MATERIELS ET METHODES

Nous avons mené une étude monocentrique et rétrospective incluant l'ensemble les patients atteints de myélofibrose, primitive ou secondaire à une polyglobulie de Vaquez ou une thrombocytémie essentielle et pour lesquels une indication d'allogreffe avait été retenue en réunion de concertation pluridisciplinaire dans le service d'Hématologie Clinique du CHU de Nantes pendant la période s'étendant de 2000 à 2014.

Les critères d'inclusion étaient les suivants :

- âge compris entre 18 et 70 ans
- diagnostic de myélofibrose primitive ou secondaire selon les critères de l'OMS/IWG-MRT
- première indication portée d'allogreffe retenue en RCP greffe ou RCP des syndromes myéloprolifératifs/myélodysplasiques
- être éligible à l'allogreffe à priori

- quelque soit le nombre de ligne de traitement reçu au préalable, y compris un inhibiteur de JAK2
- suivi et données disponibles d'au moins 6 mois après l'indication d'allogreffe en l'absence de décès.

Les critères d'exclusion étaient :

- indication portée d'allogreffe pour LAM secondaire à une MFP ou MFS
- traitement antérieur par allogreffe de CSH

Les bases de données suivantes ont été utilisées pour identifier les patients éligibles à l'étude sur la période d'intérêt : laboratoire de typage HLA de l'établissement français du sang (EFS) de Nantes, réunions de concertation pluridisciplinaire de greffe et de syndrome myélodysplasiques/myéloprolifératifs, laboratoire d'anatomopathologie du CHU de Nantes, base de l'EBMT des patients allogreffés au CHU de Nantes (ProMISe), laboratoires de cytogénétique et de biologie moléculaire du CHU de Nantes, pharmacie du CHU de Nantes pour la récupération des demandes d'autorisation temporaire d'utilisation (ATU) nominative de Ruxolitinib.

Les données clinico-biologiques des patients et celles relatives aux traitements reçus ont été collectées rétrospectivement au moment du diagnostic de myélofibrose, de l'indication d'allogreffe, durant l'évolution et à la date des dernières nouvelles. En cas de patients perdus de vue, les mairies de naissance et d'habitation ont été contactées afin de connaître le statut vivant ou décédé des patients. Les scores DIPSS, DIPSS+, DIPSS ajusté à l'âge, de Lille, EBMT, et le score HCT-CI ont été calculés pour chaque patient au moment du diagnostic et de l'indication d'allogreffe. Rappelons que le score HCT-CI ou score de Sorrow prend en compte 17 variables relatives aux comorbidités du patient (pulmonaire, hépatique, cardiaque, métabolique..) (Sorrow 2005). Le score EBMT a été établi initialement pour estimer la survie post allogreffe et le risque de mortalité liée à la transplantation (TRM) des patients atteints de LMC. Il prend en compte l'âge, le stade de la maladie, le temps entre le diagnostic et la greffe, le type de donneur, et le mismatch de sexe entre donneur et receveur (Gratwohl 2012).

Le statut mutationnel JAK2 (JAK_{V617F}, mutation de l'exon12), MPL, CALR, ont été établi au laboratoire de biologie moléculaire du CHU de Nantes (Dr Y. Le Bris) et le caryotype analysé lorsque le matériel médullaire était disponible (Dr C Godon).

Certaines analyses ont été réalisées rétrospectivement lorsque le matériel médullaire était disponible.

3.3 ANALYSE STATISTIQUE

Les logiciels PRISM (version 5.0a) et XLSTAT (version 2015.5.01) ont été utilisés pour l'analyse statistique. Les patients ont été répartis en deux groupes, le groupe A des patients ayant pu être allogreffés, et le groupe B des patients finalement non allogreffés. Le devenir des patients (type de traitement, réponse et complications) a été étudié dans la cohorte globale puis séparément dans les groupes A et B, de même que la survie globale et la survie sans progression à 1 an et à 5 ans. Les critères de l'IWG-MRT (Tefferi 2013) ont été utilisés pour analyser la réponse au traitement, ils sont résumés dans le **Tableau 7**. Pour les patients allogreffés, les paramètres suivants ont été étudiés : la réponse au jour 100 (J100) post greffe, le taux de prise de greffe, le chimérisme donneur/receveur, le délai de récupération en neutrophiles (premier jour de trois jours consécutifs avec $PNN > 1000/mm^3$ sans facteurs de croissance type G-CSF) et en plaquettes (premier jour avec plaquettes $> 20\ 000/mm^3$ et sans besoin transfusionnel), l'incidence de GvH aigue et chronique selon les critères (Filipovich 2005). Pour les patients non allogreffés, la réponse obtenue avec les traitements introduits après l'indication d'allogreffe et la réponse à la date des dernières nouvelles ont été étudiées.

La survie globale dans les deux groupes a été calculée à partir de la date d'indication d'allogreffe jusqu'à la date des dernières nouvelles ou de décès selon la méthode de Kaplan Meier. La survie sans progression (SSP) a été définie depuis la date d'indication d'allogreffe à la date de progression, de rechute ou de décès quelle qu'en soit la cause. L'incidence cumulative de mortalité liée à la greffe (TRM) et de mortalité non liée à la maladie (NRM) ont été calculées à 1 et 5 ans après l'indication d'allogreffe. De même, l'incidence cumulative de transformation en myélodysplasie de haut risque (MDS HR) ou en leucémie aigue myéloblastique (LAM) a été calculée selon la méthode du Gray test en prenant comme risque compétitif le décès d'une autre cause (Gray 1988).

Les paramètres susceptibles d'influencer la survie globale ont été analysés en analyse univariée par le test du Log-Rank. Le seuil de significativité a été défini à 5%

soit p inférieur à 0,05. Les paramètres analysés ont été : I) les données cliniques : signes généraux, splénomégalie, âge au diagnostic et à la date d'indication d'allogreffe, type de myélofibrose (primitive ou secondaire), II) les données biologiques : d'une part le taux d'hémoglobine, de leucocytes, de blastes et érythroblastes circulants, de LDH, et d'autre part le caryotype et le statut mutationnel au diagnostic, III) les scores pronostiques : DIPSS+, DIPSS ajusté à l'âge, score de Lille et les scores EBMT et HCT-CI, IV) le type de traitement à partir de l'indication d'allogreffe : allogreffe et ses caractéristiques (type de donneur, conditionnement, incidence GvH aigue et chronique, réponse post greffe) et en cas de non allogreffe (traitements reçus, raison de la non allogreffe), V) réponse au traitement.

Tableau 7. Critères de réponse de l'WG-MRT résumés

Réponse	Critères requis
Rémission complète (RC)	BOM: <5% de blastes, MF < ou= grade 1 et taux Hb>10g/dL, plaquettes >100G/L, PNN>1G/L et précurseurs granuleux et érythroïdes <2% ET disparition des symptômes cliniques (signes généraux, splénomégalie, absence de localisation extra-médullaire)
Rémission partielle (RP)	Hb>10g/dL, plaquettes >100G/L, PNN>1G/L et précurseurs granuleux et érythroïdes <2% ET disparition des symptômes cliniques OU BOM: <5% de blastes, MF < ou= grade 1 ET récupération hématologique incomplète ET disparition des symptômes cliniques
Amélioration clinique (AC)	Réponse érythroïde, splénique ou sur les signes généraux sans critère de progression/aggravation de l'anémie, thombopénie, neutropénie
Progression	Apparition d'une splénomégalie palpable, ou augmentation de la taille de la rate d'un taux 50 à 100% en fonction de la taille initiale Transformation en leucémie aigue myéloblastique pourcentage de blastes >20%
Maladie stable	patients n'ayant pas les critères de PR, RC, CI, de progression ou de rechute
Rechute	Perte de la réponse après obtention d'une RC, RP, CI ou perte de la réponse érythroïde ou splénique

3.4 RESULTATS

3.4.1 Caractéristiques des patients au moment de l'indication d'allogreffe

Soixante et onze patients répondant aux critères d'inclusion et d'exclusion ont été identifiés. Les patients ont ensuite été répartis en deux groupes selon que la procédure d'allogreffe ait abouti ou non : le groupe A des patients effectivement allogreffés (n=33) et le groupe B des patients non allogreffés à la date des dernières nouvelles (n=38).

Concernant la cohorte globale, l'âge médian des patients était de 59 ans (compris entre 41 et 70 ans). La majorité des patients (64%) était de sexe masculin et avait une myélofibrose primitive (n=40, 55%). 31 patients avaient une myélofibrose secondaire soit à une TE (n=19, 27%), soit à une PV (n=12, 18%) (**Tableau 8**).

Nous avons retenu pour l'analyse les scores DIPSS+, Lille et les scores EBMT et HCT-CI. Dans les deux groupes, au moment de l'indication d'allogreffe, le score DIPSS+ était exclusivement intermédiaire-2 et élevé, tandis que le score de Lille était faible pour 4 patients. Nous avons étudié l'évolution des scores entre le diagnostic et l'indication d'allogreffe. Comme attendu il y avait une aggravation des scores DIPSS+, de Lille et de l'EBMT. En revanche, le score HCT-CI était stable.

Sur le plan moléculaire, 40 patients (56%) étaient mutés pour le gène JAK2 (exclusivement la mutation V617F), et la charge allélique était documentée dans 89% des cas. La **Figure 8** montre la répartition de la charge allélique de JAK2_{V617F} selon le type de myélofibrose primitive ou secondaire à une PV ou TE. De manière concordante avec les données de la littérature, la charge de l'allèle muté par rapport à l'allèle sauvage est plus importante dans un contexte de myélofibrose secondaire à une PV plutôt que secondaire à une TE (p=0,01) ou en cas de myélofibrose primitive (p=0,009).

Les traitements reçus en cas de TE ou PV préalables à la myélofibrose étaient principalement de l'hydroxyurée (70%) et du pipobroman (32%). Les traitements reçus d'une part pour les patients avec un antécédent de TE ou de PV et d'autre part pour tous les patients une fois le diagnostic de myélofibrose primitive ou secondaire porté sont décrits dans le **Tableau 9**.

Concernant la comparaison des groupes A et B (Tableau 8), les patients du groupe B (non allogreffés) étaient significativement plus âgés que ceux du groupe A (médiane : 61 vs 57 ans, $p < 0,05$). Le caryotype médullaire ne présentait pas d'anomalie cytogénétique dans respectivement 58% et 53% des cas, était défavorable dans 21 et 31% des cas, et non informatif chez 21 et 16% des patients des groupes A et B, respectivement.

Figure 8. Charge allélique JAK2_{V617F} selon le type de myélofibrose de la cohorte globale

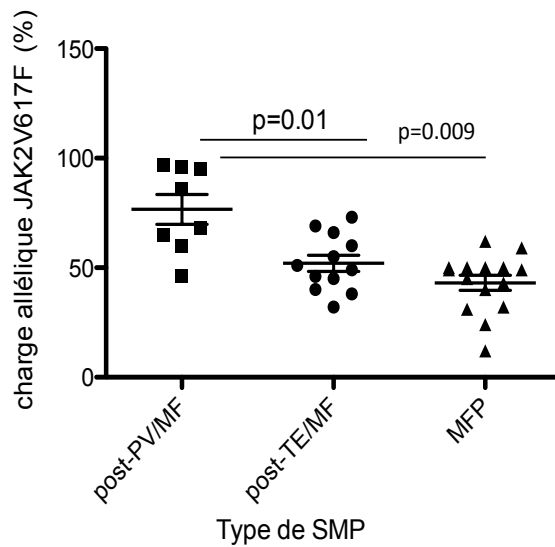


Tableau 8. Caractéristiques clinico-biologiques des patients du groupe A et B au moment de l'indication d'allogreffe

	ALLOGREFFES Groupe A (n=33)		NON ALLOGREFFES Groupe B (n=38)		
Sexe H/F	23/10		22/16		ns
Age au moment de l'indication d'allogreffe	57	(41-65)	61	(48-70)	p<0,005
Années de l'indication d'allogreffe					ns
<2005	6	(18%)	2	(5%)	
2006-2010	11	(34%)	22	(58%)	
>2011	16	(48%)	14	(37%)	
Type de myélofibrose					ns
PMF	21	(63%)	19	(50%)	
TE	7	(21%)	12	(32%)	
PV	5	(13%)	7	(18%)	
Caryotype médullaire					ns
Normal/1 anomalie favorable	19	(58%)	20	(53%)	
Complexe ou défavorable	7	(21%)	12	(31%)	
Non informatif	7	(21%)	6	(16%)	
Statut mutationnel					ns
JAK2 muté	16	(48%)	24	(64%)	
CALR muté	7	(21%)	5	(13%)	
MPL muté	3	(9%)	0	(0%)	
Triple négatif	3	(9%)	5	(13%)	
Non renseigné	4	(13%)	4	(10%)	
Délai médian entre diagnostic et l'indication d'allogreffe (mois)	4	(1-138)	14	(1-307)	ns
DIPPS +					ns
Intermédiaire-2	12	(37%)	17	(45%)	
Elevé	21	(63%)	21	(55%)	
Score de Lille					ns
Faible	2	(6%)	2	(5%)	
Intermédiaire	19	(57%)	30	(78%)	
Elevé	12	(37%)	6	(17%)	
Score EBMT					ns
1-2	0	0	3	(8%)	
3-4	22	(66%)	22	(58%)	
>5	11	(34%)	13	(34%)	
Score HTC-CI					ns
<2	21	(63%)	20	(52%)	
>ou=2	12	(37%)	18	(48%)	
Nombre de ligne de traitement reçus avant indication allogreffe					ns
<2	15	(45%)	25	(66%)	
>ou=2	18	(65%)	13	(34%)	
Suivi médian après l'indication d'allogreffe (mois)	50	(16-202)	38,8	(12-97)	ns

ns= non significatif (p>0,05)

Tableau 9. Résumé des traitements reçus avant l'indication d'allogreffe

	ALLOGREFFES Groupe A n=33		NON ALLOGREFFES Groupe B n=38		
Traitements reçus pour TE/PV avant stade de myélofibrose					
	n=12		n=19		p
Splénectomie	3	(25%)	0	(0%)	ns
Hydroxyurée	8	(66%)	11	(61%)	ns
Pipobroman	5	(42%)	5	(28%)	ns
Xagrid	0	(0%)	3	(17%)	ns
Traitements reçus pour la MF primitive ou secondaire					
	n=21		n=21		
Support transfusionnel/EPO	18	(54%)	12	(34%)	ns
Hydroxyurée	12	(36%)	15	(43%)	ns
Danazol	5	(15%)	4	(11%)	ns
Splénectomie/Irradiation splénique	5	(15%)	0	(0%)	ns
Corticothérapie	3	(9%)	2	(5%)	ns
Interféron-alpha-2a	2	(6%)	1	(3%)	ns
Inhibiteur de JAK2 (Ruxolitinib)	2	(6%)	1	(3%)	ns
Abstention thérapeutique	0	(0%)	4	(11%)	ns

3.4.2 Devenir des patients, survie et paramètres influençant la survie

3.4.2.1 Devenir de la cohorte globale

Avec un suivi médian de 44 mois (compris entre 12 et 202 mois) pour les patients vivants à la date d'analyse et de 21 mois (compris entre 1 et 202 mois) pour l'ensemble de la cohorte, la survie globale à 1 an et à 5 ans de l'ensemble de la cohorte était respectivement de 80% (95%CI : 87-65) et 42% (95%CI : 40-55) à la date d'indication d'allogreffe (**Figure 9**).

En analyse univariée, les paramètres au moment de l'indication d'allogreffe impactant négativement la survie de manière statistiquement significative dans l'ensemble de la cohorte étaient : l'existence d'un caryotype défavorable (versus favorable), un pourcentage de blastes élevé en variable continue et un statut mutationnel triple négatif (gène JAK2, MPL, CALR non mutés) par rapport à celui JAK2 ou CALR muté (**Tableau 10**).

Aussi, une tendance à une meilleure survie à 5 ans, sans atteindre la significativité, était observée pour les patients avec un score EBMT bas : score inférieur ou égal à 5 : 62 % (95%CI: 43-76) versus un score supérieur à 5 : 27% (95%CI :13-43) ; p=0,08) et un score HCT-CI bas inférieur ou égal à 2 : 50% (95%CI: 32-60) versus supérieur à 2 : 30% (95%CI : 12-36) ; p=0,07.

Figure 9. Survie globale à la date d'indication d'allogreffe de la cohorte entière (n=71)

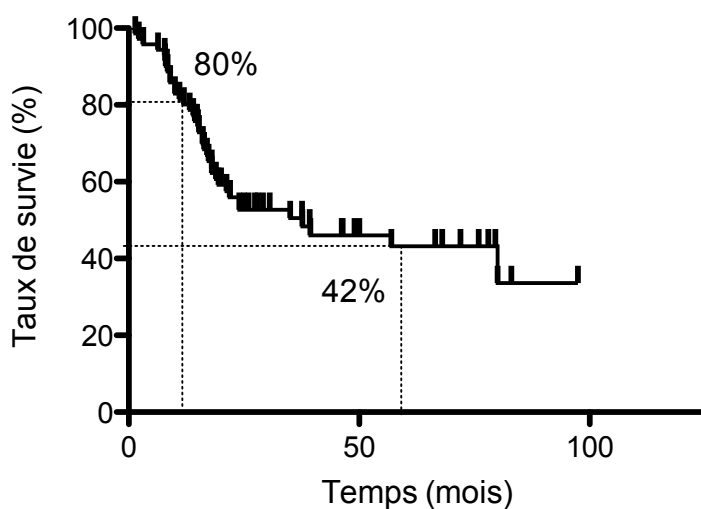
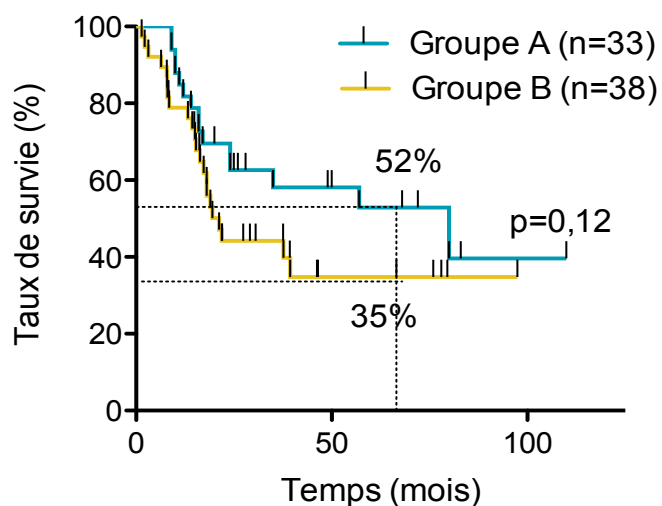


Tableau 10. Paramètres influençant la survie des patients dans la cohorte entière

Cohorte entière (n=71)	Survie globale à 5 ans (%) (IC95%)	p
Caryotype		0,013
Favorable (n=39)	47 (34-63,7)	
Défavorable (n=19)	26 (10-46)	
Statut mutationnel		0,03
CALR (n=12)	62 (28-83)	
JAK2 (n=40)	50 (33-65)	
Triple négatif (n=8)	25 (7-50)	

La différence de survie globale à 5 ans des deux groupes A et B, n'était pas statistiquement significative (**Figure 10**). Celle du groupe A est estimée à 52% (95CI% 23-68), et celle du groupe B à 35% (95CI% 17-51) ; p=0,12.

Figure 10. Survie globale à 5 ans des groupes A et B



3.4.2.2 Devenir des patients effectivement allogreffés (Groupe A)

- Caractéristiques des patients à la greffe

Les caractéristiques des patients allogreffés ont été décrites dans le **Tableau 8**. Le délai médian entre le diagnostic de myélofibrose et l'indication d'allogreffe était de 4 mois (compris entre 1 et 138), et le délai entre l'indication d'allogreffe et la greffe était de 5 (compris entre 2 et 34) mois. La majorité des patients avaient un délai entre le diagnostic et la date de greffe d'au moins 12 mois. Au moment de la greffe, l'âge médian était de 58 (44-66) ans, les scores pronostiques étaient identiques à ceux calculés au moment de l'indication d'allogreffe.

Parmi les patients présentant une splénomégalie (n=23), 9 patients avaient été splénectomisés avant le conditionnement et 3 avaient reçu une irradiation splénique dans le cadre du conditionnement. Cinq patients avaient développé une hypertension portale avant la greffe.

Le statut de la réponse au moment de la greffe, selon les critères IWG-MRT et ELN (Tefferi 2013) était le suivant : 7 patients étaient en réponse partielle/amélioration clinique des signes généraux et/ou de la splénomégalie, 24 patients étaient en maladie stable et 2 patients en situation de progression.

Le **Tableau 11** résume les caractéristiques de la greffe (score pré-greffe, caractéristiques donneur/receveur, conditionnements, prévention de la GvH).

Tous les conditionnements myéloablatifs (MAC) associaient une ICT de 12Gy et du cyclophosphamide à la dose de 60mg/kg pendant 2 jours. Les conditionnements d'intensité réduite (RIC) étaient majoritairement basés sur la combinaison de fludarabine 30mg/Kg pendant 5 jours, busulfan à 3,2mg/kg pendant 2 ou 3 jours et sérum anti-lymphocytaire 2,5mg/kg pendant 2 jours (RIC de type FB2A2 et FB3A2).

Les deux patients pour lesquels le greffon était des unités de sang placentaires ont reçu un conditionnement à base de fludarabine, cyclophosphamide et ICT 2Gy. Un patient a reçu un conditionnement à base de fludarabine, irradiation corporelle totale à la dose de 2Gy et du cyclophosphamide administré avant et après la greffe.

Tableau 11. Caractéristiques des patients du groupe A à la date de greffe

Caractéristiques du receveur		n=33	
Scores à la greffe			
EBMT score			
3	6	(19%)	
4	7	(21%)	
5	9	(37%)	
>5	11	(33%)	
HTC-CI score			
0	14	(43%)	
1	7	(21%)	
2	5	(15%)	
3	5	(15%)	
>3	2	(6%)	
Caractéristiques de la greffe			
Type de donneur			
Géno-identique	14	(42%)	
Phéno-identique	15	(45%)	
Mismatch 9/10ème	4	(13%)	
Mismatch sexe (donneur F/receveur H)	8	(24%)	
Mismatch CMV (donneur +/- receveur -)	5	(15%)	
Conditionnement			
RIC	27	(82%)	
FB2A2	7		
FB3A2	16		
Fludarabine/Cyclophosphamide/ICT +Cy post greffe	2		
Fludarabine/Cyclophosphamide/ICT	2		
MAC	5	(15%)	
SEQUENTIEL	1	(3%)	
Source des cellules			
MO	7	(21%)	
CSP	24	(73%)	
USP	2	(6%)	
Prophylaxie de la GVH			
Ciclosporine seule	13	(40%)	
Ciclosporine/mycophénolate mofétil	16	(48%)	
Ciclosporine/methotrexate	4	(12%)	

H : sexe masculin, F : sexe féminin
 Cy : cyclophosphamide
 ICT : irradiation corporelle totale
 CMV : cytomégalovirus
 RIC : conditionnement à intensité réduite
 MAC : conditionnement myéloablatif
 MO : moelle osseuse
 CSP : cellules souches périphériques
 USO : unité de sang placentaire
 GVH : greffon contre l'hôte

- Evolution post-allogreffe
 - Prise de greffe

La durée de récupération hématologique en plaquettes et en polynucléaires neutrophiles était respectivement de 16 (95%CI 17-52) et 18 (59%CI 13-22) jours. Au jour 100 (J100) post greffe, le chimérisme était analysé sur sang total, fraction de cellules souches médullaires CD34+ et sur les lymphocytes T CD3+ circulants. Le chimérisme était considéré complet lorsque le pourcentage d'ADN donneur était supérieur à 95% et mixte lorsque inférieur à 95%. 2 patients étaient décédés avant J100. Parmi les 31 patients vivants à J100 : le chimérisme était complet donneur chez 18 patients tandis que 13 patients avaient un chimérisme mixte. Les réinjections de lymphocytes du donneur réalisées chez 5 patients porteurs d'un chimérisme mixte ont permis de l'améliorer pour 3 d'entre eux. Un échec de prise était observé sur fractions de cellules CD3+ et CD34+ chez 4 patients (12%).

- Réponse, rechute de la myélofibrose et transformation en MDS HR/LAM post greffe

Rappelons que tous les patients ont été greffés en situation de maladie active à la greffe. A J100, parmi les 31 patients vivants, la réponse selon les critères ELN/IWG-MRT est la suivante : 5 patients (15%) ont obtenu une réponse complète, 12 patients (36%) une réponse partielle avec une normalisation de la numération sanguine et des signes généraux mais sans confirmation histologique de la disparition de la myélofibrose et 14 patients ont présenté une amélioration clinique ou une maladie stable. Aucun patient n'avait progressé.

A la date des dernières nouvelles, dix patients avaient malgré tout progressé de leur myélofibrose sans signe de transformation en myélodysplasie de haut risque (MDS HR) ou leucémie aigue myéloblastique (LAM). Tandis que 4 patients avaient évolué vers une MDS HR ou LAM avec un délai médian de 12 mois (compris entre 4 et 65 mois) (**Tableau 12**). Six décès de patients sont reliés à la rechute de la myélofibrose ou à la transformation en MDS HR/LAM.

L'incidence cumulée de transformation en MDS HR/LAM à 1 an et 5 ans était respectivement de 6,9% (95%CI 1,8-26) et 15% (95%CI 5,8-35) (Figure 11).

- Complications précoces et tardives liées à la greffe et mortalité liées à la greffe (TRM)

Complication précoces avant J100

Deux patients sont décédés précocement avant J100 (un patient est décédé d'hémorragie sévère et un autre patient de choc septique). Un seul cas de maladie veino-occlusive a été documenté à jour 60 de la greffe (sans décès associé). Dix cas d'infections sévères ont été observés (30%). Trois patients ont présenté une infection aspergillaire probable. Trois patients ont développé une réactivation du virus Epstein-Barr (EBV), deux patients une colite à cytomégalovirus (CMV), et un patient a été traité successivement pour une réplication Herpesvirus 6 (HHV6) et une cystite à BK virus. Un patient a été admis en unité de réanimation médicale pour un syndrome de détresse respiratoire aigue d'origine infectieuse sans documentation bactériologique ou fongique.

Complications tardives après J100

Entre le jour 100 post greffe et la date des dernières nouvelles, dix infections bactériennes sévères nécessitant une antibiothérapie prolongée ou mettant en jeu le pronostic vital, une aspergillose invasive et trois cas de réplication virale (EBV/CMV, BK virus) symptomatiques ont été documentées. Cinq décès (28% des décès) étaient reliés à l'une de ces infections. Enfin, quatre cas de cancers secondaires, cinq cas d'insuffisance rénale sévère et un cas de cardiopathie sévère ont été documentés.

GvH aigue et chronique

14 patients (42%) ont développé une GvH aigue : GvH cutanée isolée n=7, GvH digestive et hépatique n=4, et GvH combinée digestive et cutanée n=3 patients. La gravité était légère à modérée (grade I/II) dans 80% des cas et sévère (grade III/IV) dans 20% des cas. Aucun patient n'est décédé de GvH aigue.

D'autre part quatorze patients (43%) ont développé une GvH chronique, comprenant une GvH limitée chez 5 patients et extensive chez 9 patients soit 27% des patients du groupe A. Quatre décès sont imputables à la GvH chronique. Tous les patients

dont le conditionnement était myéloablatif ont développé une GvH chronique extensive.

Mortalité liée à la greffe (TRM)

La TRM à 1 et 5 ans était respectivement de 20% (95%CI 10-42) et 33% (95%CI 18-55) (**Figure 11**).

Tableau 12. Evolution post allogreffe (prise de greffe, réponse, complications)

Evolution post greffe		
Récupération hématologique (jours)		
Plaquettes > 20 000/mm ³	18	(0-NA)
Leucocytes > 1000/mm ³	16	(4-60)
Réaction du greffon contre l'hôte (GvH)		
GvH aiguë	14	(42%)
cutanée	7	
digestive/hépatique	4	
digestive/hépatique/cutanée	3	
grade I/II	11	
grade III/IV	3	
GvH chronique	14	(42%)
limitée	5	
extensive	9	
Réponse à la date des dernières nouvelles		
Rémission complète	5	(15%)
Réponse partielle	6	(18%)
Amélioration clinique/maladie stable	6	(18%)
Rechute de la myélofibrose	10	(31%)
Transformation en MDS/LAM HR	4	(12%)
NA (décès précoce)	2	(6%)
Autres complications		
Infection sévère	33	
Insuffisance rénale chronique sévère	5	
Cancer secondaire	4	
Hémorragie sévère	2	
Insuffisance cardiaque	1	
MVO	1	
Causes de décès (n=18)		
Progression de la MF ou transformation LAM/MDS HR	6	
GvH chronique	4	
Infections	5	
Hémorragie	1	
Cancer secondaire	1	
Insuffisance cardiaque	1	

GvH : réaction greffon contre l'hôte

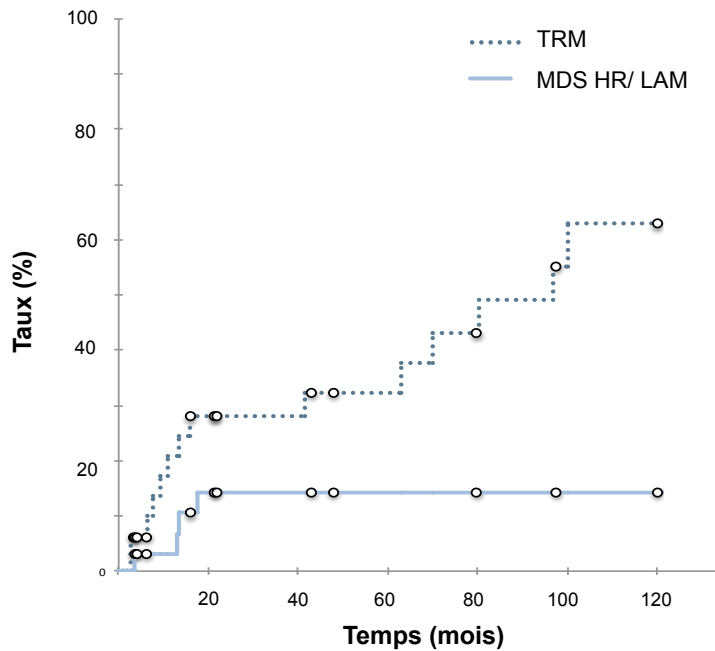
PNN : polynucléaires neutrophiles

MVO : maladie veino-occlusive

MDS HR : myélodysplasie de haut risque

LAM : leucémie aigue myéloblastique

Figure 11. TRM et incidence cumulée de transformation en MDS HR/LAM dans le groupe A



- Survie globale (SG) et survie sans progression (SSP)

A la date des dernières nouvelles, 15 patients étaient toujours vivants et 18 patients (54%) étaient décédés. Avec un suivi médian de 50 mois (95%CI : 10-145) pour les patients vivants, la survie globale à 5 ans était de 52% (95%CI : 32-68) à partir de l'indication d'allogreffe (**Figure 12**) et de 47% (95%CI : 28-65) à la date de greffe.

Parmi les patients vivants (n=15), 5 étaient toujours en réponse complète, 6 étaient en réponse partielle et 4 avaient rechuté et la survie sans progression à 5 ans était estimée à 41% (95%CI : 26-62) (**Figure 12**).

- Facteurs influençant la survie globale à 5 ans dans le groupe A

Seul le développement d'une GvH aigue et/ou chronique était associé significativement à une meilleure survie. Les paramètres cliniques, biologiques, caryotypiques, moléculaires, les scores pronostiques pré-greffe, la réponse à la greffe, les caractéristiques de la greffe ont été analysés. Aucun de ces paramètres

n'influçait significativement la survie chez les patients effectivement allogreffés (exemples dans le **Tableau 13**).

Figure 12. SG et SSP à 5 ans à la date d'indication d'allogreffe du groupe A

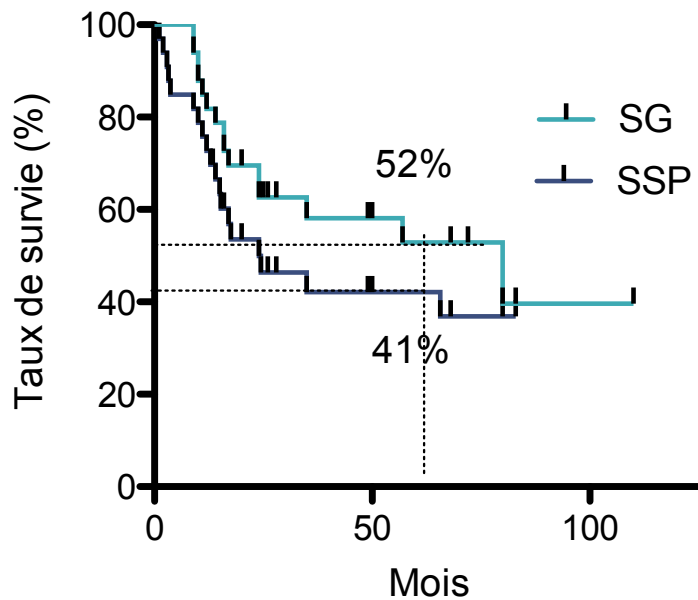


Tableau 13. Paramètres influençant la survie à 5 ans dans le groupe A

Groupe A (n=33)	Survie globale à 5 ans (%) (IC95%)	p
GvH Aigue et/ou chronique		0,007
Oui (n=16)	75 (40-91)	
Non (n=17)	33 (11-57)	
MF primitive vs secondaire		0,09
Secondaire (n=12)	71 (89-46)	
Primitive (n=21)	40 (18-61)	
Réponse avant la greffe		0,3
Maladie ou stable ou progression (n=26)	57 (35-74)	
Au moins réponse partielle (n=7)	28 (10-65)	
Conditionnement		0,1
Myéloablatif (n=5)	80 (30-96)	
Intensité réduite (=28)	46 (32-65)	

3.4.2.3 Devenir des patients non allogreffés (Groupe B)

- Caractéristiques des patients

Les caractéristiques des patients non allogreffés ont été résumées dans le **Tableau 8**. Dans ce groupe, l'âge médian est de 61 ans, et le délai médian entre le diagnostic et l'indication d'allogreffe est 14 mois (compris entre 1 et 307 mois). De même que dans le groupe A, l'indication d'allogreffe a été retenue principalement du fait de l'apparition ou de l'aggravation des signes généraux, de la dépendance transfusionnelle et des paramètres clinico-biologiques aboutissant à des scores pronostiques plus défavorables par rapport au diagnostic. Au moment où l'indication d'allogreffe est portée, la réponse obtenue sous les traitements médicaux entrepris était la suivante : progression n=23, maladie stable n=6 et amélioration clinique n= 9.

- Motifs de non allogreffe

Les raisons pour lesquelles la procédure d'allogreffe n'a pas abouti étaient les suivantes : absence de donneur géno-identique ou phéno-identique 10/10ème (29% des cas, 11 patients), efficacité de la thérapeutique introduite avant ou après l'indication d'allogreffe (21% soit 8 patients), comorbidités développées depuis l'indication d'allogreffe (18% soit 7 patients), progression de la maladie (4 patients soit 11%), refus du patient (6 patients, 16%) et décès pendant le conditionnement (2 patients soit 5%) (**Tableau 14**). Les groupes de patients avec un donneur (n=27) et ceux sans donneur (n=11) ont été comparés à la date d'indication d'allogreffe, il n'y avait pas de différence significative en terme de score pronostique, de comorbidités et de réponse au traitement entre les deux groupes.

Les patients récusés pour cause de comorbidité ou progression comparé aux autres patients avaient un caryotype plus souvent défavorable (35% vs 16%) et un score de DIPSS+ plus élevé (71 vs 47%) sans atteindre la significativité.

- Traitement reçus à la place de l'allogreffe et évolution après l'indication d'allogreffe

Les traitements spécifiques mis en place après l'indication d'allogreffe dans ce groupe étaient : inhibiteur de JAK2 ou ruxolitinib (n=9), traitement cytoréducteur (n=18), corticothérapie (n=3) et IMiD et androgènes (n=3), EPO (n=3), Interféron-alpha (n=1). Un patient était en abstention thérapeutique (**Tableau 14**). Les patients traitées par inhibiteur de JAK2 ont obtenu : une réponse partielle n=5 et une amélioration clinique n=4, aucun patient n'a évolué en MDS HR/LAM secondaire.

Grâce à ces traitements, 25% des patients ont atteint une maladie stable ou une amélioration clinique et 30% des patients ont atteint une réponse partielle.

Dix-sept patients soit 45% des patients du groupe B ont évolué en MDS HR /LAM. Le délai médian de transformation en MDS/LAM HR était de 10 mois (compris entre 4 et 75 mois). L'incidence cumulée à 1 an et 5 ans de progression en LAM/MDS HR à 1 an et 5 ans est de 33% (IC95% 21-53) et 46% (IC95% 32-66). Ces patients ont été traités par 5'-azacitidine ou cytarabine faible dose (n=8), par chimiothérapie d'induction à base d'anthracycline et cytarabine à dose intermédiaire (n=4), et par une prise en charge palliative (n=4). Un patient a reçu une allogreffe séquentielle. (**Tableau 14**).

- Survie globale, survie sans progression et mortalité non liée à la maladie

A la date des dernières nouvelles, 16 patients étaient vivants et 22 patients étaient décédés. Avec un suivi médian chez les patients vivants de 38 mois (compris entre 14 et 97 mois) la survie globale à 5 ans est de 35% (IC95% :17-51). De même, la survie sans progression à 5 ans est de 33% (IC95% :21-48) (**Figure 14**).

A 1 an et 5 ans, la mortalité non lié à la transformation en MDS HR/LAM est de 8,3% (IC95% 2,8-24) et 17,5% (IC95% 8,5-33) (Figure 13). Les causes de décès sont résumées dans le **Tableau 14**.

Tableau 14. Evolution après indication d'allogreffe dans le groupe B

n=38	Nb de patients	%
Raison principale de la non réalisation de l'allogreffe		
Absence de donneur	11	(29%)
Efficacité du traitement	8	(21%)
Comorbidité	7	(18%)
Hypertension portale sévère	3	
Insuffisance cardiaque sévère	2	
Cancer solide évolutif	1	
Altération de l'état général/signes généraux	1	
Refus du patient	6	(16%)
Progression MDS haut risque/LAM	4	(11%)
Décès pendant le conditionnement	2	(5%)
Traitement post indication d'allogreffe		
Inhibiteur de JAK2	9	(24%)
Traitement cytoréducteur (hydroxyurée/purinethol)	18	(46%)
Corticothérapie	3	(8%)
Androgène	3	(8%)
EPO	3	(8%)
Interféron-alpha	1	(3%)
Abstention thérapeutique	1	(3%)
Traitement MDS HR ou LAM secondaire (n=17)		
5'-azacitidine/aracytine faible dose	8	(48%)
Chimiothérapie intensive	4	(23%)
Allogreffe séquentielle	1	(6%)
Traitement symptomatique	4	(23%)
Réponse à la date des dernières nouvelles		
Progression MDS haut risque/LAM	16	(42%)
Maladie stable/amélioration clinique	15	(39%)
Réponse partielle	7	(19%)
Cause de décès (n=22)		
Progression MDS haut risque/LAM	14	(64%)
Insuffisance cardiaque/hépatique	4	(18%)
Infection	1	(4,5%)
Cancer	1	(4,5%)
Non renseigné	2	(9%)

Figure 13. Incidence cumulée de progression en MDS HR/LAM et mortalité non liée à la maladie du groupe B

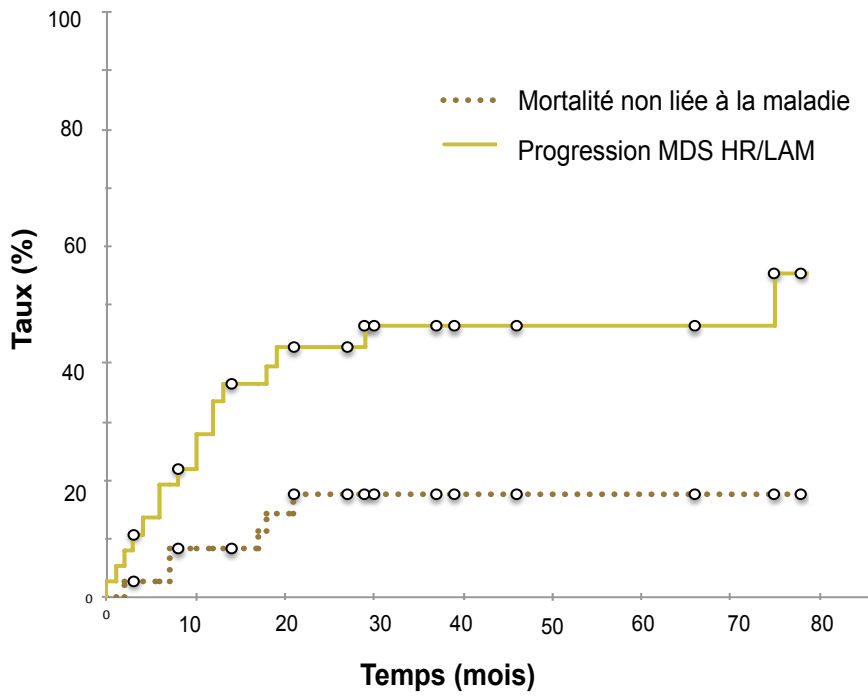
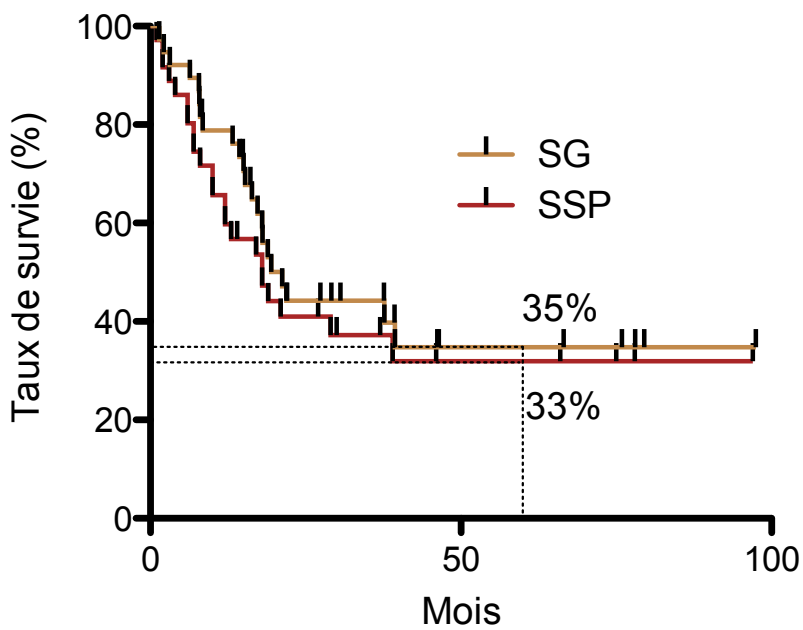


Figure 14. SG et SSP à 5 ans à la date d'indication d'allogreffe du groupe B



- Facteurs influençant à la survie globale à 5 ans dans le groupe B

Un caryotype défavorable (versus favorable), une charge allélique JAK2 supérieure à 65%, et un score de DIPSS+ élevé (versus intermédiaire) étaient les paramètres significativement associés à une survie plus faible. Au contraire, le fait de recevoir un traitement par inhibiteur de JAK2 était associé significativement à une meilleure survie (**Tableau 15**). Enfin, la survie globale à 5 ans des patients non allogreffés pour cause d'absence de donneur et ceux avec un score EBMT inférieur à 5 tendait à être meilleure sans atteindre la significativité statistique.

Tableau 15. Paramètres influençant la survie à 5 ans dans le groupe B

Groupe B (n=38)	Survie globale à 5 ans (%) (IC95%)	p
Caryotype		<0,0001
Favorable (n=20)	55 (30-74)	
Défavorable (n=12)	0 (0-21)	
Charge allélique JAK2_{V617F}		0,039
<65% (n=12)	60 (29-81)	
>65% (n=10)	25 (4-55)	
Score DIPSS+		0,03
Intermédiaire (n=17)	61 (33-80)	
Élevé (n=21)	15 (3-37)	
Score de Lille		0,06
Intermédiaire/Faible (n=32)	39 (20-57)	
Élevé (n=6)	16 (5-50)	
Traitement par inhibiteur de JAK2		0,0001
Oui (n=9)	90 (50-97)	
Non (n=29)	33 (15-54)	

- Influence du traitement par inhibiteur de JAK2 chez les patients non allogreffés

Sous réserve du faible effectif, le taux de survie à 5 ans des patients traités par ruxolitinib (n=9) était très bon à 90% (95%CI 60-97) par rapport aux autres patients non allogreffés (n=29) 16% (95%CI 5-34) ou aux patients allogreffés (n=33) 52% (95%CI :32-68) respectivement (**Figure 14**). Nous avons comparé dans le **Tableau 16** les patients du groupe B selon qu'ils aient reçu un inhibiteur de JAK2 ou non. Il n'y avait pas de différence significative en terme de scores pronostiques, du statut

moléculaire et du score HCT-CI entre les deux groupes. Néanmoins le caryotype était défavorable chez 11 patients non traités par ruxolitinib et non allogreffés contre 1 patient traité par ruxolitinib (**Tableau 16**). Le suivi médian des patients traités par inhibiteur de JAK2 était aussi long que les patients non allogreffés, respectivement 38,4 (8-68) mois et 38,5 (14-97) mois.

Figure 15. Survie des patients traités par Ruxolitinib, thérapie conventionnelle et allogreffe

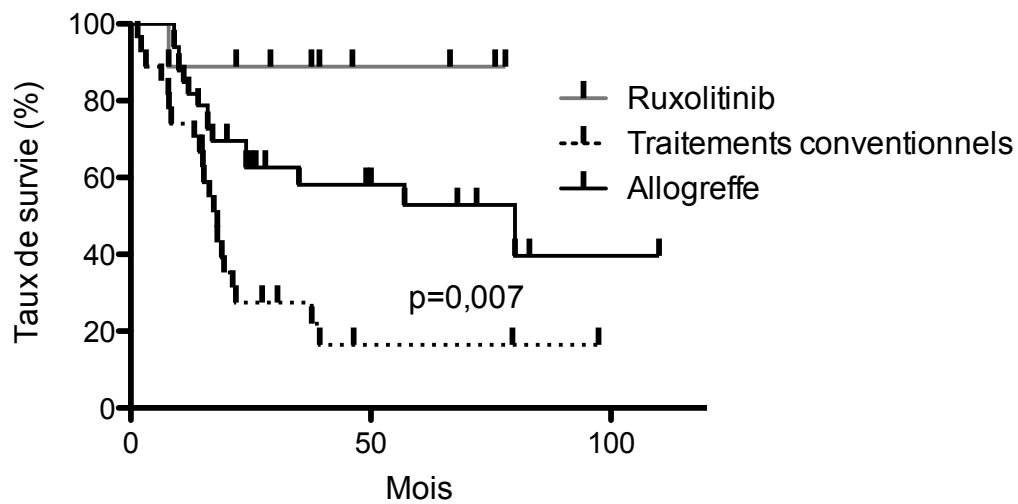


Tableau 16. Comparaison des patients traités ou non par inhibiteur de JAK2 dans le groupe B

Groupe B (n=38)	INH JAK2+ (n=9)	INH JAK2 - (n=29)	p
Age	60 (52-70)	61 (48-67)	ns
Sexe H/F	6/3	16/13	ns
Type de MF			ns
Primitive	4 (44%)	15 (52%)	
Secondaire	5 (56%)	14 (48%)	
Statu mutationnel			ns
JAK2	8 (88%)	16 (55%)	
CALR	0	5 (17%)	
MPL	0	0	
TN	1 (12%)	4 (14%)	
NR	0	4 (14%)	
Caryotype			ns
Défavorable	1 (12%)	11 (38%)	
Non défavorable	8 (88%)	18 (62%)	
Score de DIPPS +			ns
int-2	5 (56%)	17 (59%)	
Elevé	4 (44%)	12 (44%)	
Score de Lille			ns
Faible	0	2 (7%)	
Int	8 (88%)	22 (76%)	
Elevé	1 (12%)	5 (17%)	
Score EBMT			ns
< 5	7 (77%)	18 (62%)	
> ou =5	2 (23%)	11 (38%)	

TN : triple négatif

3.4.3 Impact de la greffe sur la survie en fonction des sous-groupes pronostiques

Rappelons, que la différence de survie à 5 ans entre les deux groupes A et B n'est statistiquement pas significative (**Figure 10**) (52% versus 35% p=0,12).

Nous avons donc voulu de déterminer quels sous-groupes de patients avaient bénéficié de l'allogreffe dans notre cohorte. Chaque facteur jugé comme pronostique (caryotype, type de myélofibrose, statut mutationnel, score de Lille, DIPSS+, âge, réponse au traitement, score HCT-CI) a été analysé selon que les patients aient été allogreffés ou non.

Ainsi, en analyse univariée, la procédure d'allogreffe améliorerait de manière significative la survie des patients de très haut risque : avec une myélofibrose secondaire, un caryotype défavorable, un score de DIPSS+ et de Lille élevé (**Tableau 17**). Enfin les patients avec une charge allélique supérieure à 65% semblaient bénéficier également de l'allogreffe sans que ce soit statistiquement significatif.

Tableau 17. Sous-groupes pronostiques bénéficiant de l'allogreffe

Groupe A vs B	Survie globale à 5 ans (%)	p
MF secondaire		0,001
Groupe A (n=12)	71 (34-89)	
Groupe B (n=19)	20 (5-42)	
Caryotype défavorable		0,001
Groupe A (n=7)	75 (32-96)	
Groupe B (n=12)	0	
Score DIPSS + élevé		0,03
Groupe A (n=21)	74 (34-89)	
Groupe B (n=21)	20 (5-42)	
Score de Lille élevé		0,02
Groupe A (n=12)	46 (22-74)	
Groupe B (n=6)	0	
Charge allélique >65%		0,07
Groupe A (n=6)	75 (18-91)	
Groupe B (n=10)	8 (4-55)	

3.5 DISCUSSION

- Originalité de notre étude

Les myélofibroses de haut risque constituent une entité clinico-biologique hétérogène : elles se présentent soit sous une forme pancytopénique soit sous une forme proliférative à la frontière des myélodysplasies de haut risque et leucémies aiguës myéloblastiques. L'arsenal thérapeutique chez ces patients associe des traitements cytoréducteurs, immuno-modulateurs, inhibiteurs de JAK2 et la greffe de cellules souches allogéniques. La faisabilité, l'efficacité, et la toxicité de l'allogreffe dans les myélofibroses ont largement été rapportées dans des études rétrospectives (**Tableau 6**). Sur le plan prospectif, on dispose principalement d'études incluant des patients porteurs myélofibroses au sein de cohortes comprenant différentes hémopathies. L'extrapolation de ces résultats aux seules myélofibroses est donc difficile. Seules deux études prospectives d'allogreffes ont été conduites chez des patients spécifiquement atteints de myélofibrose. Le premier essai émanant du groupe de l'EBMT et publié par Kröger rapporte la faisabilité du conditionnement d'intensité réduite dans cette indication (Kroger 2009). Le second essai MPD-RC 101 mené chez des patients avec un score de DIPSS >0 et allogreffés avec un conditionnement atténué montre que le recours à un donneur non apparenté impacte le pronostic de manière défavorable indépendamment des caractéristiques du receveur (Rondelli 2014).

Notre étude se distingue des précédentes de deux points de vue. Premièrement, aucun des essais prospectifs ou rétrospectifs précédents n'a effectué d'analyse en « intention de greffer » comme c'est le cas dans notre étude. La notion d' « analyse en intention de greffer » est intéressante dans le cadre des myélofibroses dans la mesure où il s'agit d'une pathologie où l'évolution est assez lente pour envisager des changements de thérapeutiques au cours du temps. La remise en question de l'indication d'allogreffe est ainsi assez commune et représente une donnée à prendre en compte pour l'analyse globale. Deuxièmement, la principale avancée en terme de traitement de la myélofibrose de ces dernières années est le développement des inhibiteurs de JAK2 tels que le ruxolitinib. Aucune étude n'a évalué l'impact de l'allogreffe en intention de traitement chez des patients atteints de myélofibroses primitive ou secondaire à l'ère de ces inhibiteurs. Or dans notre étude, 40% des patients ont été traités alors que le ruxolitinib était disponible dans le cadre d'essais

cliniques puis dans le cadre de l'ATU et enfin dans le cadre de l'autorisation de mise sur le marché.

Ainsi, notre étude évalue la pratique de l'allogreffe dans la myélofibrose en intention de greffer tout en confrontant les résultats de cette procédure à ceux obtenus avec les traitements conventionnels dont les inhibiteurs de JAK2 chez les patients non allogreffés.

- Les points forts et limites de notre étude

La cohorte des patients de notre étude correspond à la population cible de l'allogreffe dans la myélofibrose. En effet, les caractéristiques démographiques des patients (âge, sexe, type de myélofibrose, statut mutationnel, caryotype) sont superposables aux études précédemment décrites (**Tableau 6**). Cependant, et bien que cela ne soit pas un critère d'inclusion, dans notre étude, seuls des patients classés DIPSS+ intermédiaire-2 et de haut risque ont été orientés vers la procédure d'allogreffe. Ce qui correspond aux recommandations actuelles de l'indication d'allogreffe. D'autre part, l'analyse en intention de greffer met en évidence le fait que l'indication d'allogreffe ne s'accompagne pas forcément de la réalisation de ce traitement et permet d'inscrire l'analyse en condition réelle de prise en charge. Le caractère monocentrique explique quant à lui l'effectif relativement modeste de notre étude. Nos résultats devront donc être confirmés par l'analyse de cohortes plus larges. La puissance pourrait être augmentée par un recrutement multicentrique des patients en France. De telles études sont faisables et ont déjà été menées au sein de la SFGM-TC. En effet, P.Guardiola a publié en 1999 l'expérience française de l'allogreffe à conditionnement myéloablatif dans les myélofibroses (Guardiola 1999) tandis que M.Robin a publié celle de l'allogreffe à conditionnement d'intensité réduite puis celle de la faisabilité du recours au sang placentaire dans cette indication (Robin 2011; Robin 2014). Néanmoins ces études ont été menées avant l'ère des inhibiteurs de JAK2, et aucune ne rapporte les résultats concernant le pronostic et la survie des patients non allogreffés alors que cette procédure avait été envisagée.

L'autre écueil de notre étude est son caractère rétrospectif. Le risque de méconnaître des patients allogreffés est probablement faible puisque la base de données de l'EBMT ProMiSe (dans laquelle sont répertoriés tous les patients allogreffés en Europe) est mise à jour régulièrement. Par contre, le risque de sous-estimer le nombre de patients non allogreffés avec une indication d'allogreffe est sûrement plus

important. C'est pourquoi nous avons confronté plusieurs bases à des fins d'exhaustivité pour la sélection des patients. La base du laboratoire de l'EFS a permis de sélectionner les patients pour lesquels la recherche d'un donneur a été entreprise entre 2000 et 2014. De même, l'étude des dossiers cliniques et les comptes rendus de réunions de concertation pluridisciplinaire de greffe et des pathologies myéloïdes ont permis de colliger les patients pour lequel l'indication d'allogreffe avait réellement été retenue. L'incidence de la myélofibrose est trop faible pour qu'une étude prospective monocentrique soit possible et seule une étude multi-centrique aurait la capacité suffisante de recrutement sur une durée de temps raisonnable.

Concernant l'analyse statistique, nos deux groupes étaient comparables pour toutes les variables et facteurs considérés comme confondants excepté l'âge à la date d'indication d'allogreffe. Néanmoins, il peut persister un biais de sélection (sujets allogreffés pouvant différer systématiquement des sujets non-allogreffés) et un biais de causalité (l'attribution du traitement d'allogreffe pouvant être dépendante des caractéristiques individuelles). Dans le but de réduire ces biais, nous aurions pu réaliser un appariement par un score de propension. Cette méthode statistique élaborée par Rubin *et al* permet d'établir un score qui estime la probabilité pour un individu de recevoir un traitement conditionnellement à un ensemble de ses caractéristiques, et ainsi de créer des groupes comparables en terme de caractéristiques individuelles (Rubin 2010). Cette méthode a été utilisée dans des études rétrospectives notamment en chirurgie, mais à notre connaissance il n'y a aucune publication ayant appliqué ce score à un travail concernant l'allogreffe.

Ainsi, notre travail rapporte les résultats de la procédure d'allogreffe en condition réelle et soulève des problématiques que nous allons donc discuter.

- Les résultats de l'allogreffe

Le premier constat est que moins de la moitié des patients n'a pu réellement recevoir la greffe lorsque celle-ci était indiquée. Ceci est principalement expliqué par le fait que les patients n'avaient pas de donneur, que la faisabilité de la greffe avait été remise en cause par l'apparition de comorbidités et que de nouveaux traitements efficaces ont pu être proposés. Aujourd'hui pour pallier au manque de donneurs, des sources de greffon alternatives (sang de placentaires, donneurs haplo-identiques) sont envisageables. Les donneurs haplo-identiques sont plus intéressants puisque la

richesse en cellules souches hématopoïétiques est plus importante, qu'ils sont disponibles immédiatement et que la réinjection de lymphocytes du donneur post-greffe est possible.

Nos résultats concernant l'allogreffe sont comparables à ceux des études citées dans le **Tableau 6**. L'incidence cumulée de transformation en MDS HR/LAM à 5 ans dans le groupe allogreffe est significativement moindre que dans le groupe des patients non allogreffés (15 vs 46% $p=0,03$). Contrairement aux patients non allogreffés, le taux de survie globale et de survie sans progression à 5 ans dans le groupe allogreffe sont distincts (51 vs 41%). Ceci est possiblement lié à l'effet GvL. En effet, on constate un effet allogénique lié à l'allogreffe puisque la survenue d'une GvH est en fait le seul facteur influençant favorablement la survie tandis que l'âge, les scores de comorbidités ou pronostiques et les types de conditionnement ou de donneur n'ont pas d'impact.

Chez des patients allogreffés, l'impact négatif de l'âge avait été démontré principalement dans les études comportant des conditionnements MAC (Guardiola 1999; Kerbauy 2007; Ballen 2010). Dans les greffes à conditionnements atténués, l'influence de l'âge est plus controversée. Une des raisons avancées est que les critères permettant aux patients plus âgés d'être orientés vers l'allogreffe avec conditionnement RIC sont plus stringents. Pour illustrer ce point, citons l'étude de Samuelson qui a analysé une cohorte de 30 patients souffrant de myélofibrose, hautement sélectionnés, âgés de 60 à 78 ans et allogreffés avec un conditionnement RIC. Le taux de prise de greffe et de GvH étaient similaires à ceux observés chez des sujets plus jeunes. La survie à 3 ans était également satisfaisante, estimée à 45% sans différence significative entre les patients de plus et de moins de 65 ans (Samuelson 2011).

De même que l'âge, les scores HCT-CI (reflétant les comorbidités du patient) et EBMT (reflétant le stade de la maladie avant greffe) n'influencent pas la survie dans notre groupe de patients allogreffés. Ceci peut être expliqué par le fait que des évènements post allogreffe tels que les infections, la rechute et surtout la GvH (comme démontré ici) influencent prioritairement le devenir de ces patients.

Enfin la TRM reste élevée dans notre étude estimée à 20 et 33% respectivement à 1 an et 5 ans post allogreffe. Ce taux de mortalité liée à la greffe, bien que comparable à celui de la littérature, reste une limite majeure de la procédure. L'amélioration des conditionnements (via l'association avec les inhibiteurs de JAK2), de la prise de

greffe et de la prophylaxie de la GvH notamment chronique reste un challenge, de même que la prévention de la rechute post allogreffe.

- Résultats des patients non allogreffés

Nous constatons qu'environ la moitié des patients avec indication d'allogreffe n'a finalement pu être greffée. L'élément le plus notable est que la survie globale de ces patients n'est statistiquement pas différente de celle des patients allogreffés. Ceci soulève évidemment la question du bien fondé de l'indication d'allogreffe chez ces patients. Cependant, on constate une spectaculaire différence de survie dans ce groupe selon que les patients aient reçu ou non du ruxolitinib. En effet, la **Figure 14** montre que les patients traités par thérapies conventionnelles ont un pronostic extrêmement sombre par rapport aux patients ayant bénéficié d'un traitement par ruxolitinib. Dans ce groupe, la survie médiane à 5 ans est non atteinte et un seul patient est décédé à la date d'analyse. L'efficacité des inhibiteurs de JAK2 a déjà été largement rapportée chez les patients de risque intermédiaire et élevé dans les études COMFORT-I et II (Harrison 2012; Verstovsek 2012) où une amélioration significative sur le critère de splénomégalie a été prouvée contre placebo et meilleur traitement disponible (MTD). L'impact du ruxolitinib sur la survie est aussi démontré. En effet, en comparaison des groupes contrôles : placebo et MDT sus mentionnées l'administration de ruxolitinib permet une réduction de 35% de risque de décès (Vannucchi 2013). Passamonti *et al* ont comparé la survie des patients randomisés dans le bras ruxolitinib des études COMFORT I et II et les ont matchés aux patients du registre utilisé pour l'élaboration du score DIPSS (cohorte de patients élaborée avant l'ère des inhibiteur de JAK2) (Passamonti 2010; Passamonti 2014). De même, la réduction du taux de décès a été estimée à 39%.

L'effet du ruxolitinib s'explique en partie par son action sur l'histoire naturelle de la myélofibrose via la réduction de la fibrose médullaire, de la charge allélique et de la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires (Deininger 2015). Dans une étude du MD Anderson portant sur 68 patients, une régression de la fibrose chez 15% des patients et une stabilisation dans 57% des cas étaient décrites après 24 mois de traitement par ruxolitinib (Wilkins 2013). Dans les études COMFORT la réduction de la charge allélique était faible : estimée de 8% à 72 mois (Vannucchi 2012). Néanmoins, dans l'étude de phase III RESPONSE, évaluant l'efficacité du ruxolitinib en cas de PV, la

réduction de charge allélique est de 34% à la 112ème semaine (Vannucchi 2015). Plus récemment une étude de suivi de charge allélique a été conduite chez 11 patients porteur de PV et 11 patients porteur de TE (Pieri 2015). Trois patients (13,6%), dont 1 PV et 2 TE, ont obtenu une rémission complète moléculaire à 5 ans. Le patient porteur de PV a obtenu une réponse hématologique et clinique complète, tandis que la thrombocytose persistait chez les patients porteurs de TE malgré la réponse moléculaire. L'analyse histologique médullaire a montré la persistance d'une hyperplasie érythroïde chez le patient porteur de PV et mégacaryocytaire chez les patients porteur de TE. Aussi 2 patients étaient mutés TET2 au diagnostic et le ruxolitinib n'a pas eu d'impact sur la charge allélique de TET2. Ces données confirment l'efficacité des inhibiteurs principalement sur le clone JAK2V_{617F} muté. La persistance des lésions histologiques et des symptômes malgré une charge allélique JAK2V_{617F} nulle suggère la persistance d'une hématopoïèse sous clonale exprimant TET2 ou d'autres mutations.

Ainsi, l'intérêt de l'association d'autres agents au ruxolitinib se pose. Des études in-vitro montrent une synergie d'inhibition de la prolifération de lignées cellulaires JAK2 mutées lorsque le ruxolitinib est associé à un anti-FLT3, ou un inhibiteur de la voie ERK (Barrio 2013). L'interferon-alpha-2a pourrait être également un bon partenaire via la mobilisation de cellules souches dormantes et la restauration du système immunitaire intra-médullaire. Enfin, en réduisant la sécrétion cytokinique (notamment du TNF-alpha) par le microenvironnement, le ruxolitinib pourrait améliorer l'efficacité de l'interféron (Hasselbalch 2014).

- A qui profite vraiment l'allogreffe et comment améliorer cette procédure ?

L'absence de différence en terme de survie globale entre les deux groupes soulève la question du bénéfice réel de la greffe. C'est pour cette raison que nous avons étudié des sous-groupes de patients et comparé le devenir en fonction de la réalisation ou non de l'allogreffe. Les effectifs sont réduits, néanmoins l'analyse univariée a permis de détecter un sous groupe de patients bénéficiant plus particulièrement de l'allogreffe.

Les patients de score DIPSS+ ou de Lille élevé tirent plus de bénéfice de l'allogreffe que ceux du groupe intermédiaire. Il en va de-même pour les patients porteurs d'une

cytogénétique défavorable, ceux avec une myélofibrose secondaire et possiblement ceux avec une charge allélique JAK2_{V617F} élevée.

Les scores DIPSS+ et de Lille élevés (via les facteurs leucocytose, anémie et blastes circulants) sont le reflet d'un dysfonctionnement médullaire plus important. Celui-ci est lié à la fibrose médullaire et l'infiltration par le clone tumoral. Le type de conditionnement ainsi que l'effet allogénique peuvent expliquer l'amélioration du pronostic de ces patients de très haut risque par une action directe sur ces paramètres. On sait que le busulfan est actif dans la myélofibrose. Il a été utilisé dès la fin des années 1980 avec une efficacité sur les signes généraux, l'hépatosplénomégalie, la leucocytose, l'intensité de fibrose et le taux d'hémoglobine (Chang 1988). Plus tard, en 2001 et 2005, le busulfan et le tréosulfan ont été utilisés à fortes doses comme agents de conditionnement de greffe de cellules souches autologues chez 21 et 3 patients atteints de myélofibroses. La survie à long terme des patients n'est pas connue mais un effet sur la myélofibrose (30% des cas), la splénomégalie (70% des cas) et l'amélioration des cytopénies (70% des cas) avait été rapporté (Anderson 2001; Fruehauf 2005). L'impact des doses de busulfan dans le conditionnement d'allogreffe est illustré par les études de Kröger *et al* en 2005 et de Kerbaux *et al* en 2007 où les taux de survie à 5 ans sont à ce jour les meilleurs obtenus respectivement 67 et 61%. Dans l'étude de Kröger, le conditionnement RIC était basé sur du Busulfan à la dose de 10mg/kg per os pendant 3 jours et de la fludarabine, la prise de greffe était de 95% et le taux de réponse hématologique global était estimé à 75%. Dans l'étude de Kerbaux *et al*, le conditionnement était myéloablatif majoritairement basé sur du Busulfan à la dose totale de 16mg/kg dose totale et du cyclophosphamide (77%) ou une irradiation corporelle totale (13%). La prise de greffe était constatée dans 95% des cas et seulement 9% patients ont rechuté. Dans cette dernière étude, Kerbaux montre le bénéfice pour les patients d'obtenir un taux sérique de Busulfan compris entre 800 et 900 ng/ml. Dans notre étude, 60% des conditionnements RIC étaient des FB3 comportant des doses intermédiaires de busulfan (9,6mg/kg dose totale). Ces données suggèrent l'effet bénéfique de la cytoréduction induite par les chimiothérapies utilisées à fortes doses dans les conditionnements d'allogreffe par rapport aux traitements conventionnels pour les patients de haut risque.

De même que dans les myélodysplasies, l'existence d'un caryotype défavorable confère un pronostic très sombre dans la myélofibrose via un risque

accru de chimiorésistance et de transformation en leucémie aigue myéloblastique (Hussein 2009). Dans notre série, les patients dont la cytogénétique est complexe bénéficient très nettement de l'allogreffe via une réduction significative de l'incidence cumulée de transformation en MDS HR/LAM. Rappelons que l'intérêt de la procédure d'allogreffe implique d'une part une chimiothérapie parfois à forte dose permettant un contrôle possible de la maladie et d'autre part un effet immunologique « greffon versus leucémie » post allogreffe. La survenue d'une GvH est fortement corrélée à une meilleure survie globale chez les patients allogreffés, suggérant qu'elle s'accompagne d'un effet « greffon contre myélofibrose et/ou leucémie ». Par opposition, l'incidence de progression en MDS HR/LAM chez les patients non allogreffés est élevée. Or, les traitements symptomatiques ou conventionnels cytoréducteurs tels que l'interféron et l'hydroxyurée n'augmentent pas dans les cohorte de PV et de TE le risque de progression leucémique (Cerquozzi 2015). Ainsi, la progression de la maladie chez les patients non allogreffés impliquerait l'incapacité des traitements conventionnels, contrairement à l'allogreffe, à juguler une progression et/ou une prolifération clonale à caryotype complexe.

Dans notre étude, la survie des myélofibroses secondaires est améliorée par l'allogreffe. Ces formes secondaires sont plus fréquemment associées à la présence d'une anomalie caryotypique (Hussein 2009) et une charge allélique $JAK2_{V617F}$ élevée (Tiedt 2008). Dans notre série, la charge allélique supérieure à 65% est un facteur de mauvais pronostic sur la survie chez les patients non allogreffés. Dans le groupe allogreffe, cette différence n'est pas retrouvée. On peut donc supposer que l'allogreffe parvient à gommer l'effet potentiellement délétère d'une charge allélique élevée. De tels résultats n'ont pas été décrits dans les études antérieures et nécessitent d'être confirmés dans de plus larges cohortes.

Au total, nos données suggèrent que parmi les patients avec une indication actuelle d'allogreffe (classés intermédiaire-2 ou élevé selon le score DIPSS) tous ne bénéficient pas de cette procédure. La sélection pourrait être affinée à un groupe de patients de très haut risque. (DIPPS+ élevé, myélofibrose secondaire, caryotype complexe, charge allélique élevée).

D'autres paramètres peuvent influencer l'indication d'allogreffe. Scott montre par exemple que l'efficacité de la greffe et la toxicité du traitement sont meilleures lorsque la maladie est moins avancée (Scott 2012). De même, la série rétrospective de patients allogreffés avec des conditionnements RIC et MAC rapportée par Patriarca

et al en 2008 montre une amélioration de la survie lorsque le délai entre le diagnostic et la greffe est court (Patriarca 2008). Attendre l'apparition d'un caryotype complexe et l'augmentation du score pronostique dynamique DIPSS+ expose à un retard de l'indication d'allogreffe et augmente le risque d'échec de la procédure par augmentation du risque de transformation en leucémie aigue ou le développement de complications et de comorbidités. L'enjeu réside donc dans la distinction à priori des patients à risque élevé de progression/transformation. A ce titre, l'apport de la biologie moléculaire dans les prochaines années avec l'analyse d'un panel de gènes tels que JAK2, CALR et MPL, SRSF2, ASXL1, TET2 et le recours aux classifications GPSS et MIPSS (Vannucchi 2014; Tefferi 2014) pourraient permettre de prédire le risque évolutif au diagnostic pour chaque patient et de déterminer ceux pour lesquels l'efficacité du ruxolitinib serait moindre et pour lesquels l'allogreffe serait la meilleure option. Aussi, le suivi systématique de la charge allélique JAK2_{V617F}, et d'autres gènes prédictifs du risque de transformation en LAM tels que ASXL1 et SRSF2 réalisés en plus du suivi cytogénétique, pourrait permettre de rendre compte de la progression moléculaire de la maladie avant l'apparition des signes cliniques ou biologiques et permettre de mieux positionner la greffe parmi les patients DIPSS intermédiaire 1 et 2.

D'autre part, bien que l'efficacité du ruxolitinib soit incontestable son effet est suspensif avec réapparition des symptômes à l'arrêt du traitement (Verstovsek 2014). De plus, il est établi que l'efficacité du ruxolitinib est équivalente selon le statut moléculaire JAK2_{V617F}, mutation de l'exon 12 ou de MPL (Verstovsek 2012) puisque l'inhibiteur est spécifique de la protéine JAK2 sauvage et non de la protéine mutée. Néanmoins, l'efficacité en cas de mutations additionnelles (ASXL1, TET2, ..) et de caryotype complexe n'est pas connue. Enfin, des échecs et arrêts de traitement ont été rapportés dans les études COMFORT. Le taux d'interruption du traitement à 1, 2 et 3 ans était respectivement de 24, 36 et 46%. Les raisons de l'arrêt étaient principalement une efficacité insuffisante (40% des cas), des complications non liées à la progression à savoir une toxicité hématologique (thrombopénie notamment), une intolérance digestive, des complications infectieuses (60% des cas). Une étude de pratique américaine estime un taux d'interruption plus important du traitement de 50% à 6 mois. Dans notre cohorte, seul un patient a arrêté le traitement pour inefficacité et les doses ont été diminuées pour cytopénies chez deux autres

patients. L'allogreffe pourrait également être discutée chez les patients intolérants ou insuffisamment répondeurs au ruxolitinib.

Enfin l'association ruxolitinib et allogreffe a été étudiée. L'essai prospectif JAK ALLO incluait les patients atteints de myélofibroses non préalablement traités par ruxolitinib et candidats à l'allogreffe. Pour tous les patients le traitement par ruxolitinib débutait au moment de la recherche d'un donneur. Pour les patients ayant un donneur, le ruxolitinib était stoppé de manière progressive avant le début du conditionnement (fludarabine/melphalan). En 2013, au congrès de l'ASH M.Robin rapporte un effet rebond à l'arrêt du ruxolitinib (« withdrawal syndrom ») avec syndrome de relargage cytokinique responsable d'un syndrome de lyse tumoral, choc cardiogénique, et insuffisance rénale chez 7 patients sur 23 (Robin 2013). Malgré une modification des conditions d'arrêt du ruxolitinib et une corticothérapie préventive, 2 nouveaux cas ont été recensés. Dans les suites, quatre autres séries rétrospectives (n=74 patients) ont été publiées (Ballinger 2015), aucun patient n'a présenté de relargage cytokinique ou syndrome de lyse tumoral. La survie globale à 1 an post allogreffe variait entre 50% et 80% et les taux de GvH chronique extensive étaient compris entre 20 et 25%. Shavanoas *et al* rapportent également une série rétrospective de 100 patients traités par ruxolitinib avant allogreffe (Shavanoas 2015). La survie était analysée selon la réponse au ruxolitinib avant greffe. Deux patients ont eu des symptômes évocateurs d'un effet rebond imputable à l'arrêt de ruxolitinib avant greffe. La durée de récupération hématologique sur les polynucléaires neutrophiles était plus longue (n=35 jours) que dans les autres études sans ruxolitinib. La conclusion est en faveur d'une meilleure survie pour les patients répondeurs au ruxolitinib avant la greffe. Cela a été associé à une amélioration de leur état général et une diminution du risque de rechute.

En théorie, l'utilisation du ruxolitinib avant greffe pourrait permettre : (I) d'améliorer le performans status et les symptômes liés à la maladie, (II) réduire la splénomégalie pouvant permettre une récupération hématologique plus rapide, (III) réduire la sécrétion cytokinique et ainsi diminuer le risque de GvH. Les effets délétères pourraient être : (I) un effet rebond lors du conditionnement en cas d'arrêt du traitement, (II) une augmentation de la récupération hématologique par toxicité médullaire du ruxolitinib, (III) augmentation du risque infectieux (Ballinger 2015). Actuellement trois essais prospectifs sont en cours dont un nouvel essai du FIM/GOELAMS (NCT01795677).

4 CONCLUSION

Avec toutes les limites d'une étude rétrospective, nous considérons que notre travail a permis une évaluation de la procédure thérapeutique qu'est l'allogreffe en condition réelle dans l'indication de myélofibrose.

Notre étude montre que la greffe allogénique reste le traitement potentiellement curateur de référence pour les patients ayant un score de DIPSS+ élevé ou une cytogénétique défavorable ou une myélofibrose secondaire. Néanmoins, la survie des patients non greffés traités par ruxolitinib est excellente et le choix entre les deux approches thérapeutiques peut être discuté. A ce titre, une meilleure sélection des patients à haut risque de progression en MDS HR/LAM permettrait de mieux guider les indications de greffe. Outre la cytogénétique, l'apport de la biologie moléculaire au diagnostic et pendant le suivi paraît donc indispensable dans les années à venir.

De plus, l'effet du ruxolitinib donné en association avant, à la greffe, et après la greffe en prévention ou en cas de rechute est actuellement à l'étude. Les essais prospectifs en cours devraient pouvoir répondre à cette question.

Enfin, dans cette pathologie, un registre national d'enregistrement des patients, de leurs caractéristiques clinico-biologiques au diagnostic et au cours de leur évolution ainsi que des thérapeutiques utilisées pourrait aider à mieux cerner les profils de patients tirant bénéfice de chacune des approches précédemment décrites

5 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abelsson, J., *et al.* (2012). "The outcome of allo-HSCT for 92 patients with myelofibrosis in the Nordic countries." Bone marrow transplantation **47**(3): 380-386.
- Adamson, J. W., *et al.* (1976). "Polycythemia vera: stem-cell and probable clonal origin of the disease." The New England journal of medicine **295**(17): 913-916.
- Alchalby, H., *et al.* (2010). "Impact of JAK2V617F mutation status, allele burden, and clearance after allogeneic stem cell transplantation for myelofibrosis." Blood **116**(18): 3572-3581.
- Alchalby, H., *et al.* (2012). "Risk models predicting survival after reduced-intensity transplantation for myelofibrosis." British journal of haematology **157**(1): 75-85.
- Anderson, J. E., *et al.* (2001). "Myeloablation and autologous peripheral blood stem cell rescue results in hematologic and clinical responses in patients with myeloid metaplasia with myelofibrosis." Blood **98**(3): 586-593.
- Antonioni, E., *et al.* (2008). "Influence of JAK2V617F allele burden on phenotype in essential thrombocythemia." Haematologica **93**(1): 41-48.
- Apperley, J., *et al.* (2012). "ESH-EBMT Handbook on Haemopoietic Stem Cell Transplantation."
- Bacigalupo, A., *et al.* (2010). "Allogeneic hemopoietic SCT for patients with primary myelofibrosis: a predictive transplant score based on transfusion requirement, spleen size and donor type." Bone marrow transplantation **45**(3): 458-463.
- Ballen, K. K., *et al.* (2010). "Outcome of transplantation for myelofibrosis." Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation **16**(3): 358-367.
- Ballinger, T. J., *et al.* (2015). "How we manage JAK inhibition in allogeneic transplantation for myelofibrosis." European journal of haematology **94**(2): 115-119.
- Barbui, T., *et al.* (2011). "Philadelphia-negative classical myeloproliferative neoplasms: critical concepts and management recommendations from European LeukemiaNet." Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology **29**(6): 761-770.
- Barbui, T., *et al.* (2013). "Elevated C-reactive protein is associated with shortened leukemia-free survival in patients with myelofibrosis." Leukemia **27**(10): 2084-2086.
- Barbui, T., *et al.* (2011). "Survival and disease progression in essential thrombocythemia are significantly influenced by accurate morphologic diagnosis: an international study." Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology **29**(23): 3179-3184.
- Barosi, G., *et al.* (2008). "Proposed criteria for the diagnosis of post-polycythemia vera and post-essential thrombocythemia myelofibrosis: a consensus statement from the International Working Group for Myelofibrosis Research and Treatment." Leukemia **22**(2): 437-438.
- Barrio, S., *et al.* (2013). "Inhibition of related JAK/STAT pathways with molecular targeted drugs shows strong synergy with ruxolitinib in chronic myeloproliferative neoplasm." British journal of haematology **161**(5): 667-676.
- Baxter, E. J., *et al.* (2005). "Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders." Lancet **365**(9464): 1054-1061.

- Bostrom, L., *et al.* (1990). "A European multicenter study of chronic graft-versus-host disease. The role of cytomegalovirus serology in recipients and donors--acute graft-versus-host disease, and splenectomy." Transplantation **49**(6): 1100-1105.
- Bregante, S., *et al.* (2016). "Improved Outcome of Alternative Donor Transplantations in Patients with Myelofibrosis: From Unrelated to Haploidentical Family Donors." Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation **22**(2): 324-329.
- Cahu, X., *et al.* (2014). "Allo-SCT for Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms in blast phase: a study from the Societe Francaise de Greffe de Moelle et de Therapie Cellulaire (SFGM-TC)." Bone marrow transplantation **49**(6): 756-760.
- Carbuccia, N., *et al.* (2009). "Mutations of ASXL1 gene in myeloproliferative neoplasms." Leukemia **23**(11): 2183-2186.
- Cerquozzi, S., *et al.* (2015). "Blast transformation and fibrotic progression in polycythemia vera and essential thrombocythemia: a literature review of incidence and risk factors." Blood cancer journal **5**: e366.
- Cervantes, F., *et al.* (2004). "Erythropoietin treatment of the anaemia of myelofibrosis with myeloid metaplasia: results in 20 patients and review of the literature." British journal of haematology **127**(4): 399-403.
- Cervantes, F., *et al.* (2012). "Improving survival trends in primary myelofibrosis: an international study." Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology **30**(24): 2981-2987.
- Cervantes, F., *et al.* (2009). "New prognostic scoring system for primary myelofibrosis based on a study of the International Working Group for Myelofibrosis Research and Treatment." Blood **113**(13): 2895-2901.
- Chang, J. C., *et al.* (1988). "Remission of chronic idiopathic myelofibrosis to busulfan treatment." The American journal of the medical sciences **295**(5): 472-476.
- Ciurea, S. O., *et al.* (2008). "Effects of extensive splenomegaly in patients with myelofibrosis undergoing a reduced intensity allogeneic stem cell transplantation." British journal of haematology **141**(1): 80-83.
- Daly, A., *et al.* (2003). "Stem cell transplantation for myelofibrosis: a report from two Canadian centers." Bone marrow transplantation **32**(1): 35-40.
- Dameshek, W. (1951). "Some speculations on the myeloproliferative syndromes." Blood **6**(4): 372-375.
- Deeg, H. J., *et al.* (2003). "Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for myelofibrosis." Blood **102**(12): 3912-3918.
- Deininger, M., *et al.* (2015). "The effect of long-term ruxolitinib treatment on JAK2p.V617F allele burden in patients with myelofibrosis." Blood **126**(13): 1551-1554.
- Delhommeau, F., *et al.* (2009). "Mutation in TET2 in myeloid cancers." The New England journal of medicine **360**(22): 2289-2301.
- Devine, S. M., *et al.* (2002). "Allogeneic blood cell transplantation following reduced-intensity conditioning is effective therapy for older patients with myelofibrosis with myeloid metaplasia." Blood **99**(6): 2255-2258.
- Dingli, D., *et al.* (2006). "Presence of unfavorable cytogenetic abnormalities is the strongest predictor of poor survival in secondary myelofibrosis." Cancer **106**(9): 1985-1989.
- Ditschkowski, M., *et al.* (2012). "Dynamic International Prognostic Scoring System scores, pre-transplant therapy and chronic graft-versus-host disease

- determine outcome after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for myelofibrosis." Haematologica **97**(10): 1574-1581.
- Dupriez, B., *et al.* (1996). "Prognostic factors in agnogenic myeloid metaplasia: a report on 195 cases with a new scoring system." Blood **88**(3): 1013-1018.
- Fialkow, P. J., *et al.* (1981). "Evidence that essential thrombocythemia is a clonal disorder with origin in a multipotent stem cell." Blood **58**(5): 916-919.
- Filipovich, A. H., *et al.* (2005). "National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. Diagnosis and staging working group report." Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation **11**(12): 945-956.
- Finazzi, G., *et al.* (2005). "Acute leukemia in polycythemia vera: an analysis of 1638 patients enrolled in a prospective observational study." Blood **105**(7): 2664-2670.
- Fruehauf, S., *et al.* (2005). "Myeloablative conditioning in myelofibrosis using i.v. treosulfan and autologous peripheral blood progenitor cell transplantation with high doses of CD34+ cells results in hematologic responses. A follow-up of three patients." Haematologica **90**(1): ECR08.
- Gangat, N., *et al.* (2011). "DIPSS plus: a refined Dynamic International Prognostic Scoring System for primary myelofibrosis that incorporates prognostic information from karyotype, platelet count, and transfusion status." Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology **29**(4): 392-397.
- Gianelli, U., *et al.* (2012). "The European Consensus on grading of bone marrow fibrosis allows a better prognostication of patients with primary myelofibrosis." Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc **25**(9): 1193-1202.
- Gratwohl, A. (2012). "The EBMT risk score." Bone marrow transplantation **47**(6): 749-756.
- Gray, R. (1988). "A class of k-sample tests for comparing the cumulative incidence of a competing risk." The Annals of Statistics **16**: 1141-1154.
- Guardiola, P., *et al.* (1999). "Allogeneic stem cell transplantation for agnogenic myeloid metaplasia: a European Group for Blood and Marrow Transplantation, Societe Francaise de Greffe de Moelle, Gruppo Italiano per il Trapianto del Midollo Osseo, and Fred Hutchinson Cancer Research Center Collaborative Study." Blood **93**(9): 2831-2838.
- Gupta, V., *et al.* (2009). "A retrospective comparison of conventional intensity conditioning and reduced-intensity conditioning for allogeneic hematopoietic cell transplantation in myelofibrosis." Bone marrow transplantation **44**(5): 317-320.
- Gupta, V., *et al.* (2014). "Reduced-intensity hematopoietic cell transplantation for patients with primary myelofibrosis: a cohort analysis from the center for international blood and marrow transplant research." Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation **20**(1): 89-97.
- Harrison, C., *et al.* (2012). "JAK inhibition with ruxolitinib versus best available therapy for myelofibrosis." The New England journal of medicine **366**(9): 787-798.

- Hasselbalch, H. C. (2014). "Perspectives on the impact of JAK-inhibitor therapy upon inflammation-mediated comorbidities in myelofibrosis and related neoplasms." Expert review of hematology **7**(2): 203-216.
- Hasselbalch, H. C., *et al.* (2014). "Transcriptional profiling of whole blood identifies a unique 5-gene signature for myelofibrosis and imminent myelofibrosis transformation." PloS one **9**(1): e85567.
- Hernandez-Boluda, J. C., *et al.* (2014). "The International Prognostic Scoring System does not accurately discriminate different risk categories in patients with post-essential thrombocythemia and post-polycythemia vera myelofibrosis." Haematologica **99**(4): e55-57.
- Hussein, K., *et al.* (2009). "Conventional cytogenetics in myelofibrosis: literature review and discussion." European journal of haematology **82**(5): 329-338.
- Ianotto, J. C., *et al.* (2013). "Efficacy and safety of pegylated-interferon alpha-2a in myelofibrosis: a study by the FIM and GEM French cooperative groups." British journal of haematology **162**(6): 783-791.
- Jacobson, R. J., *et al.* (1978). "Agnogenic myeloid metaplasia: a clonal proliferation of hematopoietic stem cells with secondary myelofibrosis." Blood **51**(2): 189-194.
- James, C., *et al.* (2005). "A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera." Nature **434**(7037): 1144-1148.
- Kerbaux, D. M., *et al.* (2007). "Hematopoietic cell transplantation as curative therapy for idiopathic myelofibrosis, advanced polycythemia vera, and essential thrombocythemia." Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation **13**(3): 355-365.
- Kiladjian, J. J., *et al.* (2003). "Long-term outcomes of polycythemia vera patients treated with pipobroman as initial therapy." The hematology journal : the official journal of the European Haematology Association / EHA **4**(3): 198-207.
- Kim, C. H. (2010). "Homeostatic and pathogenic extramedullary hematopoiesis." Journal of blood medicine **1**: 13-19.
- Klampfl, T., *et al.* (2013). "Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms." The New England journal of medicine **369**(25): 2379-2390.
- Klyuchnikov, E., *et al.* (2012). "Donor lymphocyte infusions and second transplantation as salvage treatment for relapsed myelofibrosis after reduced-intensity allografting." British journal of haematology **159**(2): 172-181.
- Kralovics, R., *et al.* (2005). "A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders." The New England journal of medicine **352**(17): 1779-1790.
- Kroger, N., *et al.* (2009). "JAK2-V617F-triggered preemptive and salvage adoptive immunotherapy with donor-lymphocyte infusion in patients with myelofibrosis after allogeneic stem cell transplantation." Blood **113**(8): 1866-1868.
- Kroger, N., *et al.* (2015). "Impact of allogeneic stem cell transplantation on survival of patients less than 65 years of age with primary myelofibrosis." Blood **125**(21): 3347-3350; quiz 3364.
- Kroger, N., *et al.* (2009). "Allogeneic stem cell transplantation after reduced-intensity conditioning in patients with myelofibrosis: a prospective, multicenter study of the Chronic Leukemia Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation." Blood **114**(26): 5264-5270.
- Kroger, N., *et al.* (2005). "Pilot study of reduced-intensity conditioning followed by allogeneic stem cell transplantation from related and unrelated donors in patients with myelofibrosis." British journal of haematology **128**(5): 690-697.

- Kroger, N. M., *et al.* (2015). "Indication and management of allogeneic stem cell transplantation in primary myelofibrosis: a consensus process by an EBMT/ELN international working group." Leukemia **29**(11): 2126-2133.
- Kvasnicka HM, T. J., Bueso-Ramos CE, *et al* (2013). "Effects of five-years of ruxolitinibtherapy on bone marrow morphology in patients with myelofibrosis and comparison with best available therapy [abstract]." Blood **122**:4055.
- Lekovic, D., *et al.* (2014). "Contribution of comorbidities and grade of bone marrow fibrosis to the prognosis of survival in patients with primary myelofibrosis." Medical oncology **31**(3): 869.
- Levine, R. L., *et al.* (2007). "Role of JAK2 in the pathogenesis and therapy of myeloproliferative disorders." Nature reviews. Cancer **7**(9): 673-683.
- Lissandre, S., *et al.* (2011). "Retrospective study of allogeneic haematopoietic stem-cell transplantation for myelofibrosis." Bone marrow transplantation **46**(4): 557-561.
- Lussana, F., *et al.* (2014). "Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with polycythemia vera or essential thrombocythemia transformed to myelofibrosis or acute myeloid leukemia: a report from the MPN Subcommittee of the Chronic Malignancies Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation." Haematologica **99**(5): 916-921.
- Marchetti, M., *et al.* (2004). "Low-dose thalidomide ameliorates cytopenias and splenomegaly in myelofibrosis with myeloid metaplasia: a phase II trial." Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology **22**(3): 424-431.
- Martinez-Trillos, A., *et al.* (2010). "Efficacy and tolerability of hydroxyurea in the treatment of the hyperproliferative manifestations of myelofibrosis: results in 40 patients." Annals of hematology **89**(12): 1233-1237.
- Marty, C., *et al.* (2015). "Calreticulin mutants in mice induce an MPL-dependent thrombocytosis with frequent progression to myelofibrosis." Blood.
- Mesa, R. A., *et al.* (2006). "Palliative goals, patient selection, and perioperative platelet management: outcomes and lessons from 3 decades of splenectomy for myelofibrosis with myeloid metaplasia at the Mayo Clinic." Cancer **107**(2): 361-370.
- Michallet, M., *et al.* (1991). "Role of splenectomy in incidence and severity of acute graft-versus-host disease: a multicenter study of 157 patients." Bone marrow transplantation **8**(1): 13-17.
- Migliaccio, A. R., *et al.* (2008). "Altered SDF-1/CXCR4 axis in patients with primary myelofibrosis and in the Gata1 low mouse model of the disease." Experimental hematology **36**(2): 158-171.
- Monnereau, A. R., L.; Maynadié, M.; Binder-Foucard, L.; Belot, A.; Troussard, X.; (2014). "Rapport de l'estimation nationale de l'incidence des hémopathies malignes en France entre 1980 et 2012." Institut National du Cancer
- Nangalia, J., *et al.* (2013). "Somatic CALR mutations in myeloproliferative neoplasms with nonmutated JAK2." The New England journal of medicine **369**(25): 2391-2405.
- Nivison-Smith, I., *et al.* (2012). "Allogeneic hematopoietic cell transplantation for chronic myelofibrosis in Australia and New Zealand: older recipients receiving myeloablative conditioning at increased mortality risk." Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation **18**(2): 302-308.

- Panteli, K. E., *et al.* (2005). "Serum interleukin (IL)-1, IL-2, sIL-2Ra, IL-6 and thrombopoietin levels in patients with chronic myeloproliferative diseases." British journal of haematology **130**(5): 709-715.
- Passamonti, F., *et al.* (2010). "Dynamic International Prognostic Scoring System (DIPSS) predicts progression to acute myeloid leukemia in primary myelofibrosis." Blood **116**(15): 2857-2858.
- Passamonti, F., *et al.* (2010). "A dynamic prognostic model to predict survival in primary myelofibrosis: a study by the IWG-MRT (International Working Group for Myeloproliferative Neoplasms Research and Treatment)." Blood **115**(9): 1703-1708.
- Passamonti, F., *et al.* (2014). "Impact of ruxolitinib on the natural history of primary myelofibrosis: a comparison of the DIPSS and the COMFORT-2 cohorts." Blood **123**(12): 1833-1835.
- Passamonti, F., *et al.* (2008). "A dynamic prognostic model to predict survival in post-polycythemia vera myelofibrosis." Blood **111**(7): 3383-3387.
- Patriarca, F., *et al.* (2008). "Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in myelofibrosis: the 20-year experience of the Gruppo Italiano Trapianto di Midollo Osseo (GITMO)." Haematologica **93**(10): 1514-1522.
- Pieri, L., *et al.* (2015). "JAK2V617F complete molecular remission in polycythemia vera/essential thrombocythemia patients treated with ruxolitinib." Blood **125**(21): 3352-3353.
- Pikman, Y., *et al.* (2006). "MPLW515L is a novel somatic activating mutation in myelofibrosis with myeloid metaplasia." PLoS medicine **3**(7): e270.
- Quintas-Cardama, A., *et al.* (2009). "Lenalidomide plus prednisone results in durable clinical, histopathologic, and molecular responses in patients with myelofibrosis." Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology **27**(28): 4760-4766.
- Rane, S. G., *et al.* (2002). "JAKs, STATs and Src kinases in hematopoiesis." Oncogene **21**(21): 3334-3358.
- Rezvani, A. R., *et al.* (2013). "Cyclophosphamide followed by intravenous targeted busulfan for allogeneic hematopoietic cell transplantation: pharmacokinetics and clinical outcomes." Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation **19**(7): 1033-1039.
- Robin, M., *et al.* (2013). "Ruxolitinib Before Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation (HSCT) In Patients With myelofibrosis: a Preliminary Descriptive Report Of The JAK ALLO Study, a Phase II Trial Sponsored By Goelams-FIM In Collaboration With The Sfgmtc." Blood Abstract
- Robin, M., *et al.* (2014). "Unrelated cord blood transplantation for patients with primary or secondary myelofibrosis." Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation **20**(11): 1841-1846.
- Robin, M., *et al.* (2011). "Allogeneic haematopoietic stem cell transplantation for myelofibrosis: a report of the Societe Francaise de Greffe de Moelle et de Therapie Cellulaire (SFGM-TC)." British journal of haematology **152**(3): 331-339.
- Rondelli, D., *et al.* (2005). "Allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation with reduced-intensity conditioning in intermediate- or high-risk patients with myelofibrosis with myeloid metaplasia." Blood **105**(10): 4115-4119.

- Rondelli, D., *et al.* (2014). "MPD-RC 101 prospective study of reduced-intensity allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with myelofibrosis." Blood **124**(7): 1183-1191.
- Rubin, D. B. (2010). "Propensity score methods." American journal of ophthalmology **149**(1): 7-9.
- Rumi, E., *et al.* (2014). "JAK2 or CALR mutation status defines subtypes of essential thrombocythemia with substantially different clinical course and outcomes." Blood **123**(10): 1544-1551.
- Samuelson, S., *et al.* (2011). "Allogeneic haematopoietic cell transplantation for myelofibrosis in 30 patients 60-78 years of age." British journal of haematology **153**(1): 76-82.
- Scott, B. L., *et al.* (2012). "The Dynamic International Prognostic Scoring System for myelofibrosis predicts outcomes after hematopoietic cell transplantation." Blood **119**(11): 2657-2664.
- Shanavas, M., *et al.* (2015). "Outcomes of Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation in Patients with Myelofibrosis with Prior Exposure to Janus Kinase 1/2 Inhibitors." Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation.
- Silver, R. T., *et al.* (2009). "Recombinant interferon alpha (rIFN alpha-2b) may retard progression of early primary myelofibrosis." Leukemia **23**(7): 1366-1369.
- Skov, V., *et al.* (2012). "Molecular profiling of peripheral blood cells from patients with polycythemia vera and related neoplasms: identification of deregulated genes of significance for inflammation and immune surveillance." Leukemia research **36**(11): 1387-1392.
- Slot, S., *et al.* (2015). "Effect of conditioning regimens on graft failure in myelofibrosis: a retrospective analysis." Bone marrow transplantation **50**(11): 1424-1431.
- Sorrer, M. L., *et al.* (2005). "Hematopoietic cell transplantation (HCT)-specific comorbidity index: a new tool for risk assessment before allogeneic HCT." Blood **106**(8): 2912-2919.
- Stewart, W. A., *et al.* (2010). "The role of allogeneic SCT in primary myelofibrosis: a British Society for Blood and Marrow Transplantation study." Bone marrow transplantation **45**(11): 1587-1593.
- Swerdlow, S. C., E.; Harris, NL.; *et al.*, (2008). "WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues." Lyon, France : IARC
- Tefferi, A. (2010). "Novel mutations and their functional and clinical relevance in myeloproliferative neoplasms: JAK2, MPL, TET2, ASXL1, CBL, IDH and IKZF1." Leukemia **24**(6): 1128-1138.
- Tefferi, A. (2014). "Primary myelofibrosis: 2014 update on diagnosis, risk-stratification, and management." American journal of hematology **89**(9): 915-925.
- Tefferi, A., *et al.* (2013). "Revised response criteria for myelofibrosis: International Working Group-Myeloproliferative Neoplasms Research and Treatment (IWG-MRT) and European LeukemiaNet (ELN) consensus report." Blood **122**(8): 1395-1398.
- Tefferi, A., *et al.* (2014). "Integration of mutations and karyotype towards a genetics-based prognostic scoring system (GPSS) for primary myelofibrosis. ." Blood **124**.

- Tefferi, A., *et al.* (2014). "Type 1 vs type 2 calreticulin mutations in primary myelofibrosis: differences in phenotype and prognostic impact." Leukemia **28**(7): 1568-1570.
- Tefferi, A., *et al.* (2014). "CALR vs JAK2 vs MPL-mutated or triple-negative myelofibrosis: clinical, cytogenetic and molecular comparisons." Leukemia **28**(7): 1472-1477.
- Tefferi, A., *et al.* (2014). "The prognostic advantage of calreticulin mutations in myelofibrosis might be confined to type 1 or type 1-like CALR variants." Blood **124**(15): 2465-2466.
- Tefferi, A., *et al.* (2000). "Splenectomy in myelofibrosis with myeloid metaplasia: a single-institution experience with 223 patients." Blood **95**(7): 2226-2233.
- Tefferi, A., *et al.* (2012). "Leukemia risk models in primary myelofibrosis: an International Working Group study." Leukemia **26**(6): 1439-1441.
- Tefferi, A., *et al.* (2013). "Survival and prognosis among 1545 patients with contemporary polycythemia vera: an international study." Leukemia **27**(9): 1874-1881.
- Tefferi, A., *et al.* (2009). "Myeloproliferative neoplasms: contemporary diagnosis using histology and genetics." Nature reviews. Clinical oncology **6**(11): 627-637.
- Tefferi, A., *et al.* (2011). "Myeloproliferative neoplasms: molecular pathophysiology, essential clinical understanding, and treatment strategies." Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology **29**(5): 573-582.
- Tefferi, A., *et al.* (2014). "Calreticulin mutations and long-term survival in essential thrombocythemia." Leukemia **28**(12): 2300-2303.
- Thiele, J., *et al.* (2005). "European consensus on grading bone marrow fibrosis and assessment of cellularity." Haematologica **90**(8): 1128-1132.
- Tiedt, R., *et al.* (2008). "Ratio of mutant JAK2-V617F to wild-type Jak2 determines the MPD phenotypes in transgenic mice." Blood **111**(8): 3931-3940.
- Vannucchi, A., *et al.* (2014). "Mutation-enhanced international prognostic scoring system (MIPSS) for primary myelofibrosis: an AGIMM & IWG-MRT project. ." Blood **124**.
- Vannucchi, A., *et al.* (2013). "A pooled overall survival analysis of the COMFORT studies: 2 randomized phase 3 trials of ruxolitinib for the treatment of myelofibrosis [abstract]." Blood **122**(21):2820.
- Vannucchi, A., *et al.* (2012). "Reductions in JAK2 V617F allele burden with ruxolitinib treatment in Comfort-II, a phase 3 study comparing the safety and efficacy of ruxolitinib with best available therapy (BAT)." Blood Abstract **802**.
- Vannucchi, A. M., *et al.* (2015). "A pooled analysis of overall survival in COMFORT-I and COMFORT-II, 2 randomized phase III trials of ruxolitinib for the treatment of myelofibrosis." Haematologica **100**(9): 1139-1145.
- Vannucchi, A. M., *et al.* (2015). "Ruxolitinib versus standard therapy for the treatment of polycythemia vera." The New England journal of medicine **372**(5): 426-435.
- Vannucchi, A. M., *et al.* (2013). "Mutations and prognosis in primary myelofibrosis." Leukemia **27**(9): 1861-1869.
- Verstovsek, S., *et al.* (2012). "A double-blind, placebo-controlled trial of ruxolitinib for myelofibrosis." The New England journal of medicine **366**(9): 799-807.
- Verstovsek, S., *et al.* (2014). "A phase 2 study of ruxolitinib, an oral JAK1 and JAK2 Inhibitor, in patients with advanced polycythemia vera who are refractory or intolerant to hydroxyurea." Cancer **120**(4): 513-520.

- Wagner-Ballon, O., *et al.* (2006). "Idiopathic myelofibrosis physiopathology : from mice to human." Hématologie **12**: 345-356.
- Ward, A. C., *et al.* (2000). "The Jak-Stat pathway in normal and perturbed hematopoiesis." Blood **95**(1): 19-29.
- Wilkins, B. S., *et al.* (2013). "Resolution of bone marrow fibrosis in a patient receiving JAK1/JAK2 inhibitor treatment with ruxolitinib." Haematologica **98**(12): 1872-1876.

Vu, le Président du Jury,
(tampon et signature)

Vu, le Directeur de Thèse,
(tampon et signature)

Vu, le Doyen de la Faculté,
(tampon et signature)

**Impact de la greffe de cellules souches allogéniques pour le traitement des patients atteints de myélofibrose primitive ou secondaire :
Résultats de l'expérience nantaise**

RESUME

Les myélofibroses primitives et secondaires sont des hémopathies rares et hétérogènes dont le pronostic est sombre chez les patients de haut risque selon le score DIPSS. L'allogreffe est considérée comme le traitement de première intention pour ces patients. Or les inhibiteurs de JAK2 (ruxolitinib) ont montré leur efficacité tant sur les signes cliniques que sur la survie par rapport aux traitements conventionnels hors allogreffe. Nous avons mené une étude rétrospective de patients pour lesquels l'indication d'allogreffe avait été retenue entre 2000 et 2014 et analysé leur devenir en « intention de greffer ». Soixante et onze patients ont été inclus, 46% ont été allogreffés. Parmi les patients non allogreffés 23% ont reçu du ruxolitinib. La survie globale à 5 ans n'est statistiquement pas différente selon que la greffe ait abouti ou non respectivement 52% et 32% $p=0,12$. La réaction du greffon contre l'hôte chez les patients allogreffés et le recours au ruxolitinib chez les patients non allogreffés était les principaux paramètres influençant favorablement la survie. Enfin les patients avec une myélofibrose secondaire, un caryotype défavorable et un score de DIPSS+ élevé bénéficient de la procédure d'allogreffe par réduction du risque de transformation en leucémie aigue secondaire. En conclusion, nos résultats corroborent ceux de la littérature sur l'effet greffon contre myélofibrose de l'allogreffe mais également l'efficacité du ruxolitinib. L'apport de la biologie moléculaire et des études plus larges permettront de mieux positionner ces deux stratégies.

MOTS-CLES

Myélofibrose primitive, myélofibrose secondaire, allogreffe de cellules souches allogéniques, ruxolitinib