

UNIVERSITÉ TOULOUSE III PAUL SABATIER
FACULTÉ DE SANTÉ
DÉPARTEMENT DES SCIENCES
PHARMACEUTIQUES

ANNÉE : 2023

THESE 2023/TOU3/2116

THÈSE

POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement
par

GAISNE Pierre

**POLYGLOBULIE DE VAQUEZ : ÉTAT DES LIEUX ET DIAGNOSTIC PAR VOLÉMIE
ISOTOPIQUE AU CHU DE TOULOUSE**

le 08 Décembre 2023

Directeur de thèse : Docteur SALABERT Anne-Sophie

JURY

Président : Professeur CUSSAC, Daniel
1^{er} assesseur : Docteur SALABERT, Anne-Sophie
2^{ème} assesseur : Docteur REY, Valérie

PERSONNEL ENSEIGNANT
du Département des Sciences Pharmaceutiques
de la Faculté de santé
au 08 mars 2023

Professeurs Émérites

Mme BARRE A.	Biologie Cellulaire
M. BENOIST H.	Immunologie
Mme NEPVEU F.	Chimie analytique
Mme ROQUES C.	Bactériologie - Virologie
M. ROUGE P.	Biologie Cellulaire
M. SALLES B.	Toxicologie

Professeurs des Universités

Hospitalo-Universitaires

Mme AYYOUB M.	Immunologie
M. CESTAC P.	Pharmacie Clinique
M. CHATELUT E.	Pharmacologie
Mme DE MAS MANSAT V.	Hématologie
M. FAVRE G.	Biochimie
Mme GANDIA P.	Pharmacologie
M. PARINI A.	Physiologie
M. PASQUIER C.	Bactériologie - Virologie
Mme ROUSSIN A.	Pharmacologie
Mme SALLERIN B. (Directrice-adjointe)	Pharmacie Clinique
M. VALENTIN A.	Parasitologie

Universitaires

Mme BERNARDES-GENISSON V.	Chimie thérapeutique
Mme BOUTET E.	Toxicologie - Sémiologie
Mme COSTE A.	Parasitologie
Mme COUDERC B.	Biochimie
M. CUSSAC D. (Doyen-directeur)	Physiologie
Mme DERAËVE C.	Chimie
M. FABRE N.	Thérapeutique
Mme GIROD-FULLANA S.	Pharmacognosie
M. GUIARD B.	Pharmacie
M. LETISSE F.	Galénique
Mme MULLER-STAUMONT C.	Pharmacologie
Mme REYBIER-VUATTOUX K.	Chimie pharmaceutique
M. SEGUI B.	Toxicologie - Sémiologie
Mme SIXOU S.	Chimie analytique
M. SOUCHARD J-P.	Biologie Cellulaire
Mme TABOULET F.	Biochimie
Mme WHITE-KONING M.	Chimie analytique
	Droit
	Pharmaceutique
	Mathématiques

Maîtres de Conférences des Universités

Hospitalo-Universitaires

M. DELCOURT N.	Biochimie
Mme JUILLARD-CONDAT B.	Droit Pharmaceutique
Mme KELLER L.	Biochimie
M. PUISSET F.	Pharmacie Clinique
Mme ROUCH L.	Pharmacie Clinique
Mme ROUZAUD-LABORDE C	Biophysique
Mme SALABERT A.S.	Biochimie
Mme SERONIE-VIVIEN S (*)	Pharmacologie
Mme THOMAS F. (*)	

Universitaires

Mme ARELLANO C. (*)	Chimie Thérapeutique
Mme AUTHIER H.	Parasitologie
M. BERGE M. (*)	Bactériologie - Virologie
Mme BON C. (*)	Biophysique
M. BOUJILA J. (*)	Chimie Analytique
M. BROUILLET F.	Pharmacie Galénique
Mme CABOU C.	Physiologie
Mme CAZALBOU S. (*)	Pharmacie Galénique
Mme CHAPUY-REGAUD S. (*)	Bactériologie - Virologie
Mme COLACIOS C. (*)	Immunologie
Mme ECHINARD-DOUIN V. (*)	Physiologie
Mme EL GARAH F.	Chimie Pharmaceutique
Mme EL HAGE S.	Chimie Pharmaceutique
Mme FALLONE F.	Toxicologie
Mme FERNANDEZ-VIDAL A.	Toxicologie
Mme GADEA A.	Pharmacognosie
Mme HALOVA-LAJOIE B.	Chimie Pharmaceutique
Mme JOUANJUS E.	Pharmacologie
Mme LAJOIE-MAZENC I.	Biochimie
Mme LEFEVRE L.	Physiologie
Mme LE LAMER A-C. (*)	Pharmacognosie
M. LE NAOUR A.	Toxicologie
M. LEMARIE A.	Biochimie
M. MARTI G.	Pharmacognosie
Mme MONFERRAN S	Biochimie
M. PILLOUX L.	Microbiologie
M. SAINTE-MARIE Y.	Physiologie
M. STIGLIANI J-L.	Chimie Pharmaceutique
M. SUDOR J. (*)	Chimie Analytique
Mme TERRISSE A-D.	Hématologie
Mme TOURRETTE-DIALLO A. (*)	Pharmacie Galénique
Mme VANSTEELANDT M.	Pharmacognosie

(*) Titulaire de l'habilitation à diriger des recherches (HDR)

Enseignants non titulaires

Assistants Hospitalo-Universitaires

M. AL SAATI A	Biochimie
Mme BAKLOUTI S.	Pharmacologie
Mme CLARAZ P.	Pharmacie Clinique
Mme CHAGNEAU C.	Microbiologie
Mme DINTILHAC A.	Droit Pharmaceutique
M. LE LOUEDEC F.	Pharmacologie
Mme RIGOLOT L.	Biologie Cellulaire,
Mme STRUMIA M.	Immunologie
	Pharmacie Clinique

Attaché Temporaire d'Enseignement et de Recherche (ATER)

Mme HAMZA Eya	Biochimie
Mme MALLI Sophia	Pharmacie
M. TABTI Redouane	Galénique
	Chimie
	Thérapeutique

REMERCIEMENTS

Au président de mon jury, Monsieur le professeur Daniel CUSSAC,

Je vous remercie de m'avoir fait l'honneur de présider cette thèse. Veuillez accepter ma sincère gratitude et mon profond respect.

A ma directrice de thèse, Madame la docteur Anne-Sophie SALABERT,

Je te remercie de m'avoir guidé et accompagné dans l'élaboration de ce travail. Tes conseils et tes remarques m'ont grandement aidé dans l'écriture de cette thèse. Je souhaite également te remercier pour le temps et la bienveillance que tu m'as consacré, que ce soit durant le stage hospitalier et durant l'écriture de ce travail. Soit assurée de ma gratitude et mon respect.

A l'assesseure de mon jury, Madame la docteur Valérie REY,

Je te remercie d'avoir acceptée de faire partie de mon jury. Soit assurée de ma gratitude et de mon respect, je me réjouis de passer mon stage de 6ème année à tes côtés.

Aux équipes médicales et paramédicales des services de radiopharmacie,

Je remercie les équipes de radiopharmacie des CHU de Purpan et Rangueil pour votre accueil, vos enseignements, votre aide et votre bonne humeur durant mes stages hospitaliers et l'élaboration de ce travail.

Aux professeurs de la faculté de pharmacie de Toulouse, merci pour vos enseignements.

A mes médecins et pharmaciens, merci pour vos tutorats, votre vocation et votre transmission.

A mes amis, de longue date ou de la faculté, sans qui toutes ces années de pharmacie n'auraient pas été les mêmes. Merci du support, de l'amour et de la joie que vous m'apportez.

A ma chérie, merci pour ta patience, l'aide et le soutien dont tu fais preuve. Merci pour tout l'amour que tu m'apportes au quotidien.

Et enfin, un grand merci à ma famille, pour l'amour, les encouragements et le soutien que vous m'apportez chaque jour. Mamie, pour ton amour éternel et la femme que tu étais. Mes grands-parents pour leurs enseignements et valeurs. Mon beau-père, pour ses passions. Mes frères et ma sœur, pour nos liens. Maman et Papa, de croire en moi, pour ce que vous êtes, vos sacrifices et votre amour sans faille.

« La connaissance des mots conduit à la connaissance des choses » Platon

Sommaire

Abréviations.....	8
I. Partie Bibliographique.....	10
A. Hématopoïèse.....	10
A.1. Développement du tissu sanguin chez l'homme.....	10
A.2. Processus de différenciation de l'hématopoïèse.....	11
A.3. Les facteurs de croissance et d'inhibition de l'hématopoïèse.....	13
B. Érythropoïèse.....	14
B.1. Formation des globules rouges.....	14
B.2. Régulation de l'érythropoïèse.....	18
B.2.1. Le Stem Cell Factor.....	18
B.2.2. L'érythropoïétine.....	19
B.2.2.1. Généralités.....	19
B.2.2.2 Régulation de l'EPO en fonction de la pression partielle en O ₂	20
B.2.2.3. Régulation de l'EPO au niveau transcriptionnel.....	20
B.2.2.4 Liaison de l'EPO à son récepteur (EPO-R).....	22
II. Les polyglobulies.....	23
A. Épidémiologie.....	23
B. Physiopathologie.....	25
B.1 Polyglobulie primaire.....	25
B.2 Polyglobulies secondaires.....	30
B.3 Les symptômes cliniques de la polyglobulie de Vaquez.....	32
C. Diagnostic.....	33
C.1. Le contexte clinique.....	35
C.2. Le bilan biologique.....	36
C.3. La recherche des mutations JAK2.....	36
C.4. La masse sanguine.....	37
C.5. La biopsie ostéo-médullaire.....	38
C.6. Les critères de l'OMS.....	38
D. Complications et évolutions de la polyglobulie de Vaquez.....	42
D.1 Les complications cliniques de la PV.....	42
D.2 L'évolution de la PV.....	43
III. Les traitements de la maladie de Vaquez et la prise en charge officinale.....	44
A. Les traitements de première intention.....	45
A.1. La phlébotomie ou saignée.....	45
A.2. L'aspirine.....	46
B. Les traitements cytoréducteurs.....	48
B.1. L'Hydroxyurée ou Hydroxycarbamide (HYDREA®, SIKLOS®).....	48
B.2 Le busulfan (MYLERA®).....	51
B.3. L'anagrélide (XAGRID®).....	52
B.4 L'interféron alpha (IFN- α) (INTRONA®, ROFERON®, VIRAFERON®).....	53
C. Les nouveaux traitements.....	55
C.1. L'interféron alpha 2 pégylé (peg IFN- α) (PEGASYS®, BESREMI®).....	56
C.2. Le Ruxolitinib (JAKAVI®).....	58
D. La prise en charge officinale.....	61
D.1. Le suivi thérapeutique et le soutien moral.....	61
D.2. La prise en charge des effets indésirables liés aux médicaments ou à la maladie..	62
D.3. Les conseils hygiéno-diététiques, la phytothérapie et l'homéopathie.....	66
IV. Partie expérimentale : Volémie isotopique en radiopharmacie.....	68

A. Matériel et méthode.....	68
A.1. Méthodologie de la masse sanguine avec le marquage au ^{99m} Tc.....	68
A.1.1. Indications.....	68
A.1.2. Caractéristiques patient.....	69
A.1.3. Le médicament radiopharmaceutique (MRP) utilisé.....	69
A.1.4. Mode opératoire avec manipulation sous la Hotte à flux laminaire (HFL).....	69
A.1.4.1. Préparations et prélèvement du patient.....	69
A.1.4.2. Marquage au PYP dans la HFL.....	70
A.1.4.3. Lavage des GR afin d'éliminer le PYP libre.....	70
A.1.4.4. Marquage des GR au ^{99m} Tc puis lavage afin d'éliminer le ^{99m} Tc libre.....	71
A.1.4.5. Injection et prélèvements au patient.....	71
A.1.5. Dans le laboratoire de contrôle.....	71
A.1.5.1. Manipulation de la seringue de prélèvement avant marquage.....	71
A.1.5.2. Manipulation de la seringue de dilution.....	72
A.1.5.3. Manipulation des seringues de prélèvement après marquage.....	72
A.1.5.4. Comptage.....	72
A.1.6. Formules de calcul.....	72
A.2. Méthodologie de la masse sanguine avec le marquage au ⁵¹ Cr.....	73
A.2.1. Le MRP utilisé.....	73
A.2.2. Mode opératoire avec manipulation sous HFL.....	73
A.2.2.1. Prélèvement du patient.....	73
A.2.2.2. Marquage dans la HFL.....	74
A.2.2.3. Lavages dans la HFL.....	74
A.2.2.4. Injection, prélèvements et comptage.....	75
A.2.3. Les formules de calculs.....	76
B. Base de données du CHU Purpan.....	77
B.1. Statistiques descriptives de la base de données au ^{99m} Tc entre 2019 et 2022.....	77
B.1.1 Description de la population.....	77
B.1.2. Analyse des prescriptions.....	78
B.1.3. Conformité de l'hématocrite par rapport aux recommandations.....	79
B.1.4. Analyse du volume globulaire total et du nombre de malades.....	80
B.2. Données statistiques de la base de données au ⁵¹ Cr entre 2014 et 2017.....	81
B.2.1 Description de la population.....	81
B.2.2. Analyse des prescriptions.....	82
B.2.3. Conformité de l'hématocrite par rapport aux recommandations.....	82
B.2.4. Analyse du volume globulaire total et du nombre de malades.....	84
B.3. Comparaison des données.....	85
B.3.1. Données de l'ICSH et le CHU Purpan.....	85
B.3.1.1. Analyse des populations.....	85
B.3.1.2. Comparaison des valeurs d'hématocrite.....	86
B.3.2 Comparaison de données entre le ⁵¹ Cr et le ^{99m} Tc.....	87
B.3.2.1. Comparaison des valeurs du VGT.....	87
B.3.2.2. Comparaison des prescriptions hors recommandations.....	88
B.3.2.3. Comparaison du nombre de malades en fonction des prescriptions.....	89
B.3.2.4. Utilisation des tests statistiques pour comparer les populations et les méthodes au ⁵¹ Cr et ^{99m} Tc.....	90
Discussions.....	93
Conclusion.....	96
Annexes.....	97
Bibliographie.....	103

Abréviations

ADN : acide désoxyribonucléique	ECLAP : Collaboration européenne sur l'aspirine à faible dose dans la PV
AFSOS : Association française des soins oncologiques de support	ELN : European LeukemiaNET
AINS : Anti-inflammatoires non stéroïdiens	EMA : European Medicament Agency
AIT : Accident Ischémique transitoire	EPO : érythropoïétine
AMM : Autorisation de mise sur le marché	EPO-R : récepteur à l'EPO
APL : Leucémie aiguë promyélocytaire	ET : Evènement thrombotique
ARN : acide ribonucléique	F : Femme
ARNT : translocateur nucléaire du récepteur d'hydrocarbures aryliques	Fe ²⁺ : fer ferreux
AVC : Accident vasculaire cérébral	FERM : Four-point-one, Ezrin, Radixin, Moesin
BF : Bruit de fond	G-CSF : facteur de stimulation des colonies granulocytaires
BPCO : Bronchopneumopathie Obstructive chronique	GM-CSF : facteur de stimulation des colonies de granulocytes et de macrophages
BRCP : Protéine de résistance au cancer du sein	GR : Globules rouges
Cellules NK : cellules natural killer	HAPC : Polyglobulie chronique de haute altitude
CH : dilution centidécimale haehnahnemannienne	Hb : Hémoglobine
CLP : progéniteurs lymphoïdes communs	HE : Huile essentielle
CMP : progéniteurs myéloïdes communs	HFL : Hotte à flux laminaire
CoCl ₂ : chlorure de cobalt	HIF : facteurs inductibles de l'hypoxie
COX : cyclooxygénase	HIF-PHD : prolyl-4-hydroxylases, HIF dépendantes du fer
CSH : cellules souches hématopoïétiques	HNF4 : facteur nucléaire hépatocytaire 4
CT : tomodynamométrie	Ht : Hématocrite
CYP : cytochrome P450	IDM : Infarctus du myocarde
DASRI : Déchet d'activité de soins à risque infectieux	IL : interleukine
del : délétion	IMC : Indice de masse corporelle
	INF : interférons

ITK : inhibiteur de tyrosine kinase	PCR : Polymerase Chain Reaction
IWG-MRT : International Working Group-Myeloproliferative Neoplasms Research and Treatment	PDGF : facteur de croissance dérivé des plaquettes
JAK : Janus kinase	PEL : Leucémie érythroïde pure
JH : région d'homologie JAK	PgP = Glycoprotéine P
LAM : Leucémie aiguë myéloïde	PNN : polynucléaire neutrophile
LIF : facteur d'inhibition leucémique	PV : polyglobulie de Vaquez
LL : Luer Lock	PVSG : Groupe d'étude de la Polyglobulie Vraie
LMC : Leucémie myéloïde chronique	ROS : espèces réactives de l'oxygène
LT-CSH : long terme cellule souche hématopoïétique	RTK : récepteur à tyrosine kinase
M : Mâle	SC : Surface corporelle
M-CSF : facteur de stimulation des colonies de monocytes	SCF : Stem Cell Factor
MERM : Manipulateur en électro-radiologie médicale	SH2 : domaine d'homologie 2 src
MPOC : Maladie pulmonaire obstructive chronique	ST : Sang total
MPP : progéniteurs multipotents	ST-CSH : court terme cellule souche hématopoïétique
MRP : Médicament radiopharmaceutique	STAT : Signal Transducteurs and Activator of Transcription
MS : Méthionine synthase	TE : Thrombocytopenie Essentielle
NaCl : Chlorure de Sodium	TGF : facteur de croissance transformant
NFS : numération formule sanguine	TNF : facteur de nécrose tumorale
NGS : séquençage de nouvelle génération	TPO : thrombopoïétine
NMP : Néoplasies myéloprolifératives chroniques	UB : ubiquitine
NO : monoxyde d'azote	USS : scanner à ultrasons
O2 : dioxygène	VGT : Volume Globulaire total
OMS : Organisation Mondiale de la Santé	Vitamine B12 : cobalamine
PB : sang périphérique	Vitamine B9 : folate
	VP : Volume Plasmatique
	VST : Volume Sanguin total
	ZAC : Zone à atmosphère contrôlée

I. Partie Bibliographique

La maladie de Vaquez, également connue sous le nom de polyglobulie primitive, primaire ou polycythémie vraie (PV), est une maladie maligne qui affecte les cellules souches hématopoïétiques, entraînant une surproduction de globules rouges dans le sang de manière chronique et évoluant lentement. Sur le plan clinique, la maladie se manifeste par une hypertension artérielle et des signes d'hyperviscosité sanguine, tels que des érythroméalgies ou des érythroses cutanées. Elle peut également se manifester par des complications vasculaires et, dans une moindre mesure, par des complications hématologiques. Les conséquences de la maladie sur la vie quotidienne du patient sont multiples, avec des événements thrombo-emboliques constituant des risques majeurs à court terme, responsables en grande partie de la morbidité et de la mortalité.

Au fil des années, les traitements ont considérablement évolué, introduisant de nouvelles thérapies innovantes pour améliorer la prise en charge des patients. Ce travail débutera par un rappel sur l'hématopoïèse et l'érythropoïèse, puis dans une deuxième partie on abordera les différentes polyglobulies en détaillant la maladie de Vaquez d'un point de vue hématologique, génétique et ces conséquences cliniques permettant son diagnostic clinique et ses évolutions. Dans une troisième partie, nous explorerons les différentes approches thérapeutiques actuelles et novatrices avec leurs effets indésirables ainsi que la prise en charge à l'officine et le rôle du pharmacien. Enfin, nous aborderons la partie expérimentale avec la volémie isotopique au ^{99m}Tc et ^{51}Cr en radiopharmacie au CHU de Toulouse. Celle-ci permettra l'analyse des résultats d'une base de données de 4 ans pour chaque radio-isotope afin de comparer les deux méthodes. En conclusion, nous soulignerons le rôle crucial du pharmacien dans la prise en charge des patients atteints de la maladie de Vaquez ainsi que l'évolution de la population observée au CHU par rapport à la population de référence.

A. Hématopoïèse

Il est essentiel de comprendre les bases de l'hématopoïèse pour appréhender la maladie de Vaquez. Il s'agit d'un processus physiologique continu et régulé par différentes étapes qui assure le renouvellement des différentes cellules sanguines.

A.1. Développement du tissu sanguin chez l'homme

Le siège de l'hématopoïèse varie au cours de la vie, débutant dans le sac vitellin, formateur des îlots sanguins, passant par le foie et la rate et terminant dans la moelle osseuse à partir du 4^{ème} mois (Figure 1).

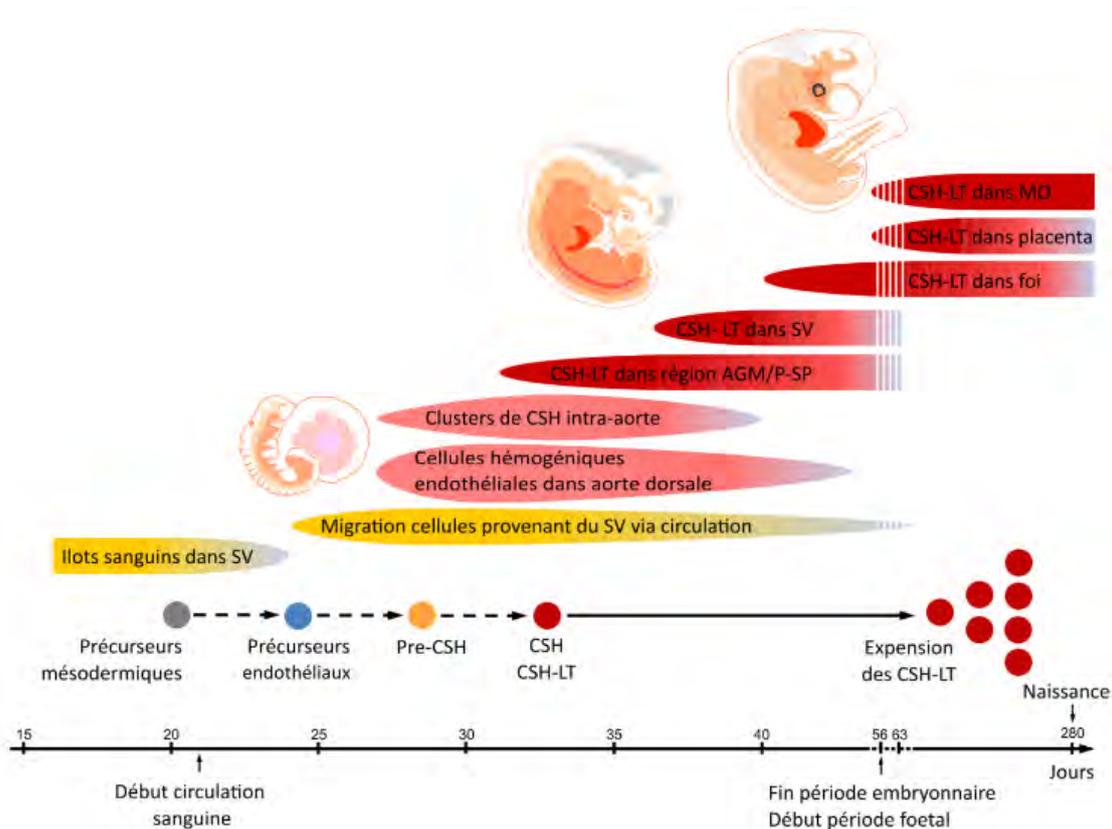


Figure 1 : Chronologie du développement du tissu sanguin chez l'homme.(1)

A.2. Processus de différenciation de l'hématopoïèse

Chez un adulte en bonne santé, la production journalière de nouveaux globules rouges est de centaines de milliards environ par jour, soit 1 % du stock afin de remplacer les cellules détruites(2).

L'hématopoïèse se déroule dans la moelle osseuse où se trouve une population cellulaire hétérogène formant quatre grands compartiments cellulaires. On retrouve les cellules souches hématopoïétiques (CSH), les cellules progénitrices myéloïdes et lymphoïdes et enfin les cellules matures. Les cellules souches sont capables de s'auto-renouveler pour garder un pool ou bien de s'engager en différenciation pour devenir des progéniteurs. Les progéniteurs multipotents (MPP) sont des cellules immatures qui se différencieront en précurseurs engagés dans une des lignées afin de donner des cellules matures servant aux différentes fonctions du corps (Figure 2).

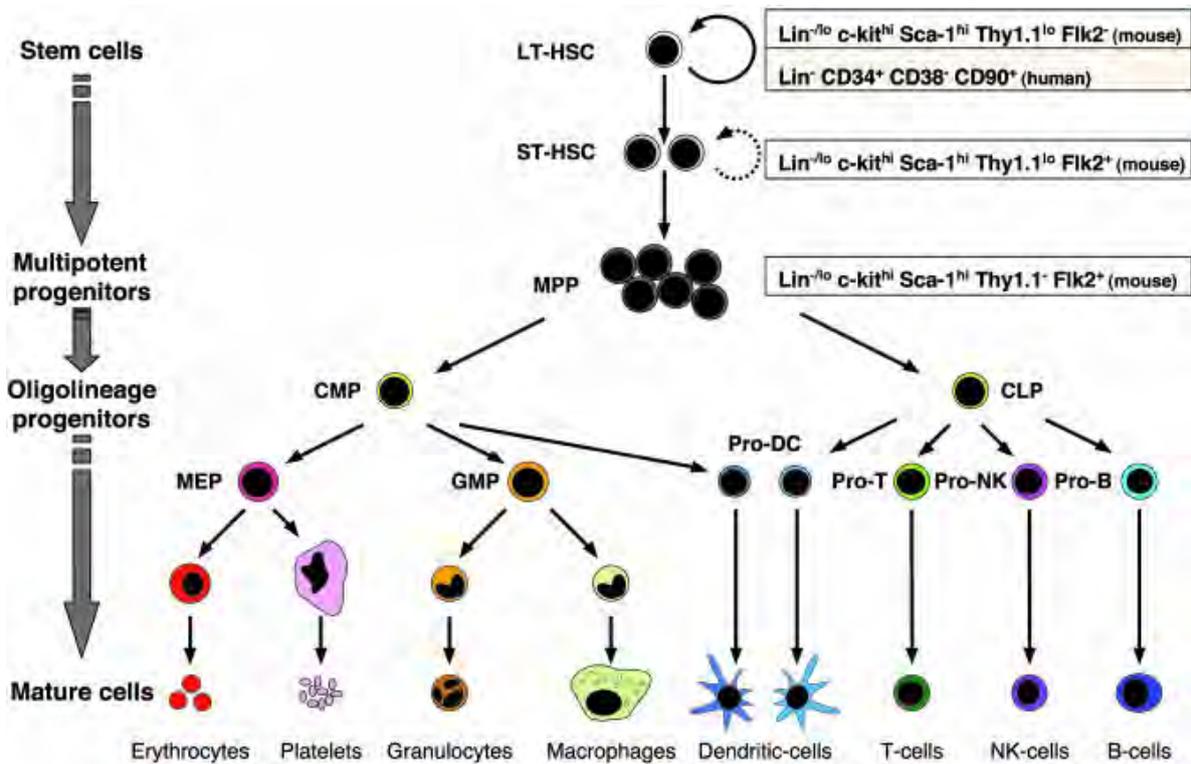


Figure 2 : Les différentes étapes de l'hématopoïèse.(3)

Le processus d'hématopoïèse se divise en plusieurs compartiments essentiels et possède de multiples facteurs de régulation permettant d'activer ou d'inhiber les différentes voies.

- Tout d'abord, les CSH, bien que rares, sont multipotentes et ont un pouvoir de prolifération élevé, assurant ainsi le renouvellement de toutes les lignées sanguines. Elles sont différenciées en long terme CSH (LT-HSC) et court terme CSH (ST-HSC) pouvant se renouveler elles-mêmes. Elles peuvent se différencier en progéniteurs lymphoïdes ou myéloïdes, donnant ainsi naissance à deux grandes lignées hématopoïétiques : la lignée lymphoïde, qui engendrera les cellules NK, les lymphocytes B et T, et la lignée myéloïde, qui produira les polynucléaires basophiles, éosinophiles et neutrophiles, les monocytes/macrophages, les globules rouges et les plaquettes. Les CSH et les MPP, bien qu'indiscernables morphologiquement, expriment notamment l'antigène CD34 à leur surface, qui disparaît au cours de la différenciation.

- Ensuite, les progéniteurs hématopoïétiques constituent un compartiment de différenciation et de prolifération, se dirigeant vers l'une des deux lignées hématopoïétiques : les progéniteurs lymphoïdes issus des progéniteurs lymphoïdes communs (CLP) et les progéniteurs myéloïdes issus des progéniteurs myéloïdes communs (CMP). Bien que non identifiables morphologiquement, les progéniteurs conservent le marqueur CD34 et acquièrent progressivement d'autres marqueurs spécifiques à leur lignée de différenciation. Ils ont également une capacité limitée d'auto-renouvellement avant de se différencier en précurseurs hématopoïétiques.

- Les précurseurs hématopoïétiques représentent le compartiment de spécialisation, où les cellules se maturent et se multiplient. À ce stade, les précurseurs ont perdu le marqueur CD34 mais sont morphologiquement identifiables. Ce sont des cellules différenciées qui acquièrent leurs fonctions dans l'organisme. Bien qu'ayant perdu leur capacité d'auto-renouvellement, ils donnent naissance à des cellules matures fonctionnelles.

- Enfin, les cellules matures, résultant de la différenciation des précurseurs, atteignent leur stade final de développement et rejoignent la circulation sanguine pour remplir leurs fonctions spécifiques. Parmi elles, on trouve les globules rouges de la lignée érythroïde, les plaquettes de la lignée mégacaryocytaire, les polynucléaires et monocytes de la lignée granulo-monocytaire, ainsi que les lymphocytes de la lignée lymphoïde.

A.3. Les facteurs de croissance et d'inhibition de l'hématopoïèse

Les facteurs de croissance hématopoïétiques sont des glycoprotéines agissant comme des "hormones hématopoïétiques". Excepté pour l'érythropoïétine (EPO) et la thrombopoïétine (TPO), produites respectivement dans le rein et le foie, elles sont synthétisées par un grand nombre de cellules présentes dans divers organes : cellules endothéliales, fibroblastes, monocytes/macrophages, lymphocytes. Elles ont aussi le nom de cytokines et pour celles synthétisées par les lymphocytes, de lymphokines et interleukines (IL). Ces cytokines reconnaissent leurs cellules cibles par l'intermédiaire de récepteurs membranaires spécifiques.

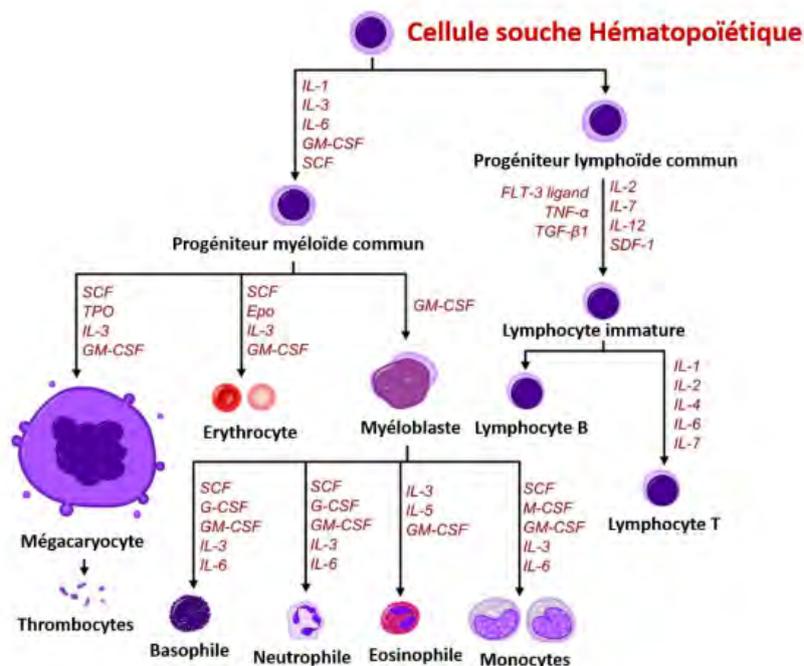


Figure 3 : Les facteurs d'activation et d'inhibition des voies hématopoïétiques.(1)

On distingue schématiquement 3 types de facteurs de croissance selon leur lieu d'action au cours de l'hématopoïèse (Figure3)(4) :

- Les facteurs de promotion : ce sont principalement l'IL-6 et le Stem Cell Factor (SCF), le Flt3-ligand, le facteur d'inhibition leucémique (LIF). Ils augmentent le nombre de cellules souches en cycle cellulaire et sensibilisent les cellules souches multipotentes à l'action des autres facteurs de croissance.

- Les facteurs multipotents : ce sont principalement l'IL-3 et le GM-CSF. Pour la lignée lymphoïde il s'agit d'IL-7. Ils agissent sur les cellules souches les plus immatures après sensibilisation par les facteurs de promotion et ils permettent la survie et la différenciation des cellules souches.

- Les facteurs restreints : ce sont principalement le G-CSF (lignée granuleuse neutrophile), le M-CSF (lignée monocytaire), l'IL 5 (lignée granuleuse éosinophile), l'IL 4 (lignée granuleuse basophile), l'IL 6 (lignée mégacaryocytaire), l'IL 2 (lignée lymphoïde T) l'EPO (lignée érythroïde), la TPO (thrombopoïétine, mégacaryocytaire). Ils agissent sur les cellules souches engagées et favorisent la multiplication cellulaire et la maturation des précurseurs.

Une régulation négative est assurée par différents facteurs tels que le $TNF\alpha$, le $TGF\beta$, notamment sur les cellules érythrocytaires(5), ou les interférons (INF). En produisant des cytokines ou par une action cytotoxique, les cellules NK, les macrophages, monocytes et lymphocytes T interviennent dans cette régulation(6).

B. Érythropoïèse

La polyglobulie de Vaquez étant une surproduction de globules rouges, il est important de décrire le processus d'érythropoïèse.

B.1. Formation des globules rouges

L'érythropoïèse est un processus biologique complexe de formation des érythrocytes, ou globules rouges, qui sont essentiels pour le transport de l'oxygène dans l'organisme. Ce processus se déroule principalement dans la moelle osseuse en plusieurs phases (Figure 4) :

1. Formation des cellules souches hématopoïétiques : l'érythropoïèse commence avec les cellules souches hématopoïétiques, qui sont des cellules multipotentes capables de se différencier en différents types de cellules sanguines, y compris les érythrocytes. Ces cellules souches résident dans la moelle osseuse et sont produites par le processus d'hématopoïèse.

2. Engagement des précurseurs érythrocytaires : Sous l'influence de facteurs de croissance, tels que l'EPO, les cellules souches hématopoïétiques se différencient en précurseurs érythrocytaires, également appelés progéniteurs érythroïdes. Cette étape marque le début du processus de transformation en érythrocytes.
3. Maturation et différenciation érythrocytaire : Les précurseurs érythrocytaires subissent plusieurs étapes de maturation et de différenciation pour devenir des érythroblastes, puis des réticulocytes. Pendant ce processus, les cellules subissent des changements morphologiques majeurs, tels que la perte du noyau cellulaire, l'accumulation d'hémoglobine, et le rétrécissement de la cellule pour former des érythrocytes matures.

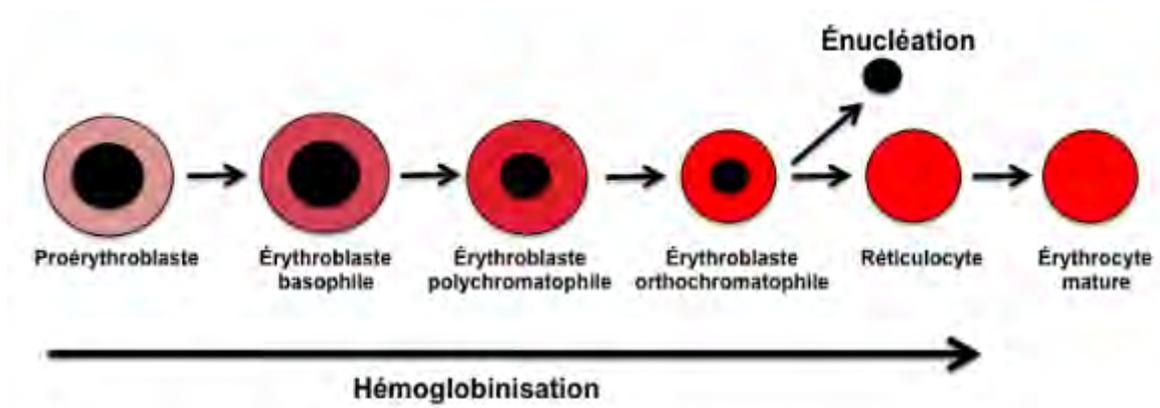


Figure 4 : La différenciation érythrocytaire.(7)

Après l'énucléation, le réticulocyte entreprend une phase de maturation au cours de laquelle il finalise son développement avant de rejoindre la circulation sanguine. Sur une période de quelques jours, il progresse graduellement en perdant la réticuline, éliminant ses vacuoles, remodelant sa bicouche lipidique et changeant de forme : c'est l'hémoglobinisisation. Le réticulocyte évolue vers une structure biconcave en réduisant sa taille entre 6 et 7 micromètres, tout en acquérant une meilleure plasticité et une plus grande déformabilité.

4. Synthèse de l'hémoglobine : L'une des caractéristiques distinctives des érythrocytes est leur teneur élevée en hémoglobine, une protéine qui lie l'oxygène. Lors de la maturation, les érythrocytes accumulent de l'hémoglobine, ce qui leur permet de transporter efficacement l'oxygène.
5. Développement du système membranaire : Les érythrocytes développent une membrane spéciale qui les aide à maintenir leur forme caractéristique de disque biconcave tout en leur permettant de passer à travers les capillaires étroits. Les protéines membranaires, telles que la spectrine, jouent un rôle essentiel dans la flexibilité de la membrane.

6. Élimination des organites cellulaires : Au fur et à mesure que les érythrocytes matures se forment, ils éliminent leurs organites cellulaires, y compris le noyau, ce qui les rend incapables de se reproduire ou de synthétiser de nouvelles protéines. Cependant, cela libère de l'espace pour une plus grande quantité d'hémoglobine, ce qui améliore leur capacité à transporter l'oxygène.
7. Libération dans la circulation sanguine : Une fois que les réticulocytes ont atteint leur maturité, ils sont libérés dans la circulation sanguine depuis la moelle osseuse pour rejoindre le pool d'érythrocytes circulants. Ces érythrocytes matures ont une durée de vie d'environ 120 jours avant d'être éliminés par la rate et le foie.

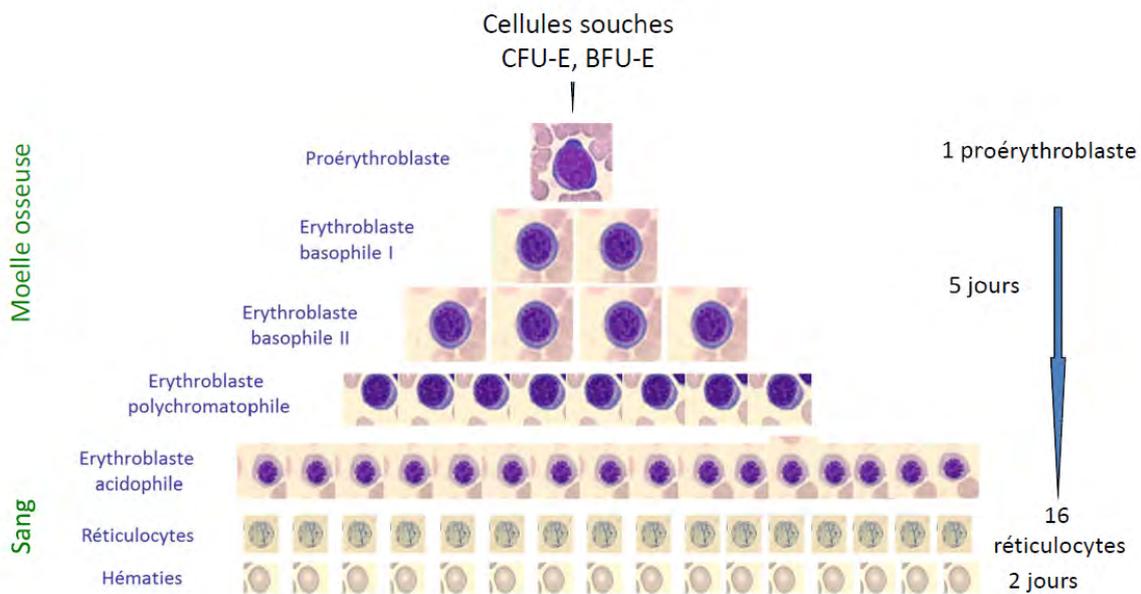


Figure 5 : Cascade de différenciation de la cellule souche jusqu'aux globules rouges.(8)

Il faut 5 jours au proérythroblaste pour devenir des réticulocytes puis encore 2 jours pour obtenir des globules rouges (Figure 5), tout cela grâce à des facteurs indispensables à la différenciation (Figure 6). L'érythropoïèse est un processus continu qui assure un approvisionnement constant en érythrocytes fonctionnels dans la circulation sanguine, contribuant ainsi à maintenir l'homéostasie de l'oxygène dans l'organisme. Chaque jour, 200 à 250 milliards de globules rouges sont produits(9) afin de remplacer ceux qui sont détruits par la rate et le foie en raison de leur durée de vie de 120 jours(10). Tout dysfonctionnement dans ce processus peut entraîner des troubles hématologiques tels que l'anémie.

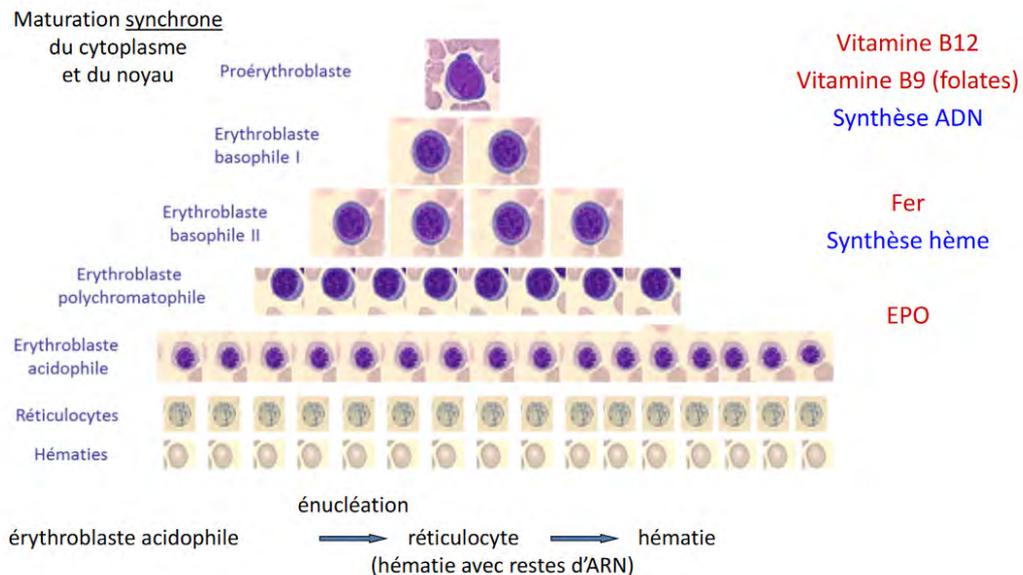


Figure 6 : Facteurs nécessaires à l'érythropoïèse.(8)

Lors de l'érythropoïèse, les vitamines B9 (folates) et B12 (cobalamine) vont permettre une synthèse suffisante d'ADN pour le processus de différenciation tant que le Fer va permettre la synthèse de l'hème présente dans les globules rouges et la fixation de l'oxygène pour le transport de celui-ci (Figure 6). D'autres facteurs sont également importants comme le cuivre, le cobalt et le zinc mais aussi les vitamines B2, B6 et C. (11)

Les folates (B9), retrouvés dans l'alimentation ont trois fonctions très liées :

- Synthèse des acides nucléiques (Purines G, A et Thymine T)
- Synthèse de la méthionine
- Méthylation avec la formation de S-adénosyl-méthionine qui est un donneur de CH₃ pour l'ADN, l'ARN et les protéines.

Cette synthèse des purines dépend du cycle de méthionine et elle a besoin pour cela d'un coenzyme qui est la vitamine B12 (Figure 7).

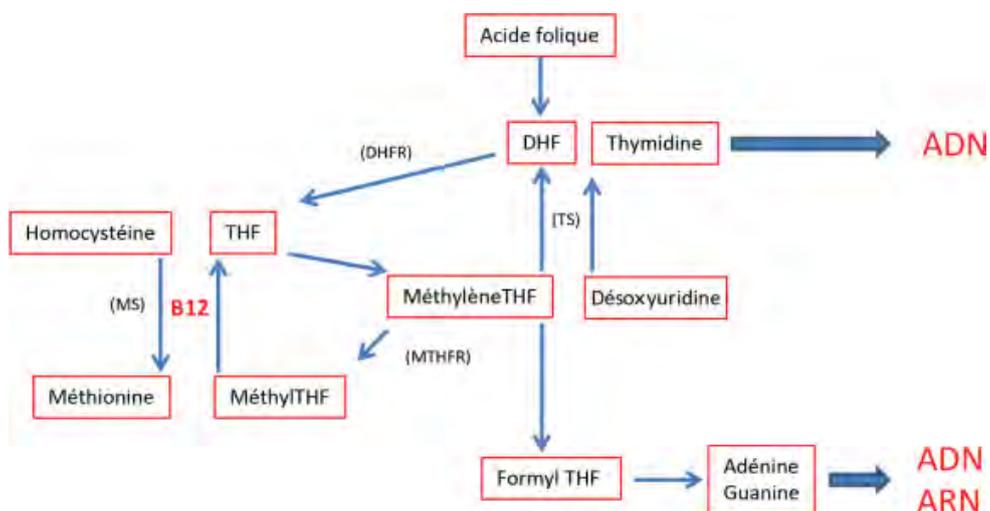


Figure 7 : Synthèse de l'ADN et ARN montrant l'importance des folates et de la cobalamine.

(12)

La vitamine B12 étant un cofacteur pour deux enzymes, elle est essentielle pour le fonctionnement de l'organisme.

Tout d'abord dans la méthionine synthase (MS sur la figure 7), intervenant dans le cycle de la reméthylation, qui en cas de carence de B12 bloque la synthèse des purines, donc d'ADN et engendre une anémie macrocytaire. Lorsqu'on a assez de fer mais pas assez d'ADN produit, les divisions cellulaires permettant de réduire la taille jusqu'à un diamètre d'environ 7 microns ne se font plus et on obtient des gros globules rouges qui ne peuvent plus passer dans les capillaires.

Ensuite dans la L-méthylmalonyl-coenzyme A mutase qui intervient dans le cycle de Krebs et le fonctionnement neuronal. Une carence en vitamine B12 peut ainsi entraîner l'apparition de signes neurologiques.

L'EPO va quant à lui intervenir dans la différenciation des cellules souches hématopoïétiques en précurseurs érythrocytaires et donc dans la régulation de l'érythropoïèse.

B.2. Régulation de l'érythropoïèse

L'EPO joue un rôle essentiel dans la régulation de l'érythropoïèse, qui vise à renouveler les globules rouges en fin de vie. Dans de nombreuses situations cliniques, telles qu'une hémorragie, une hémolyse ou une réduction de l'apport d'oxygène aux tissus, l'activité de l'érythropoïèse peut augmenter jusqu'à huit fois. L'érythropoïétine est le principal déclencheur de ce processus en réponse à l'hypoxie, car sa production par le rein est étroitement régulée par les niveaux d'oxygène disponibles. (13)

De nombreux facteurs de croissance viennent réguler l'érythropoïèse, mais seulement deux sont indispensables à celle-ci : l'EPO et le SCF.(14)

B.2.1. Le Stem Cell Factor

Le SCF va intervenir au début de l'érythropoïèse sur les progéniteurs (Figure 9). Le SCF existe naturellement sous deux formes en raison d'un processus d'épissage alternatif de l'ARN et d'un traitement protéolytique. L'une de ces formes est ancrée dans la membrane, tandis que l'autre est soluble. La forme soluble du SCF est composée de 165 acides aminés, mais le noyau de liaison au récepteur a été identifié sur les 141 premiers résidus. Bien que le SCF puisse fonctionner en tant qu'homodimère non covalent, il est important de noter que dans des conditions physiologiques, la majorité du SCF se présente sous forme de monomère.

La dimérisation du SCF est un processus dynamique, et elle peut jouer un rôle régulateur important dans le contrôle de l'affinité de liaison du récepteur SCF (ou c-kit) ainsi que dans l'activation de celui-ci.(15)

Le récepteur SCF (ou c-kit) appartient à la sous-famille de type III des récepteurs à tyrosine kinase (RTK), qui comprend également d'autres membres tels que le récepteur du M-CSF (facteur de stimulation de macrophages), les récepteurs α et β du facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGF). Lorsque le SCF se lie au récepteur c-kit, cela entraîne une

dimérisation, ce qui active la protéine kinase du récepteur. Cette activation conduit à l'autophosphorylation du récepteur, déclenchant ainsi des signaux intracellulaires (Figure 8). (16,17)

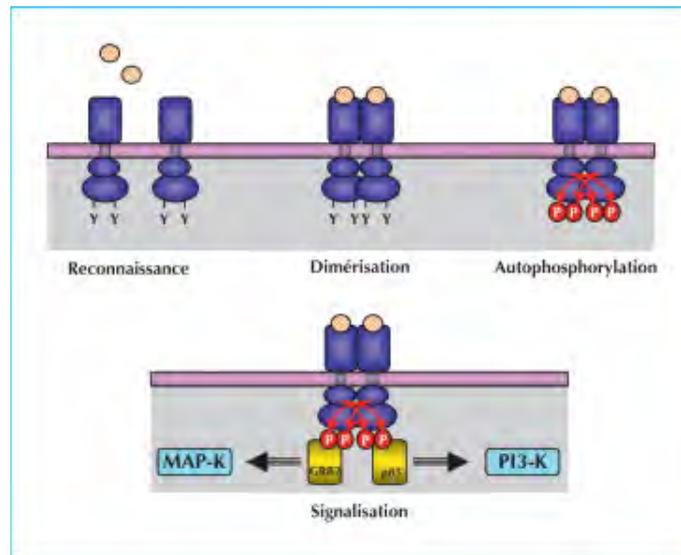


Figure 8 : Représentation schématique de l'activation d'un RTK.(18)

Le récepteur tyrosine kinase C-kit contrôle la fonction des cellules hématopoïétiques primitives, des mélanocytes et des cellules germinales(17).

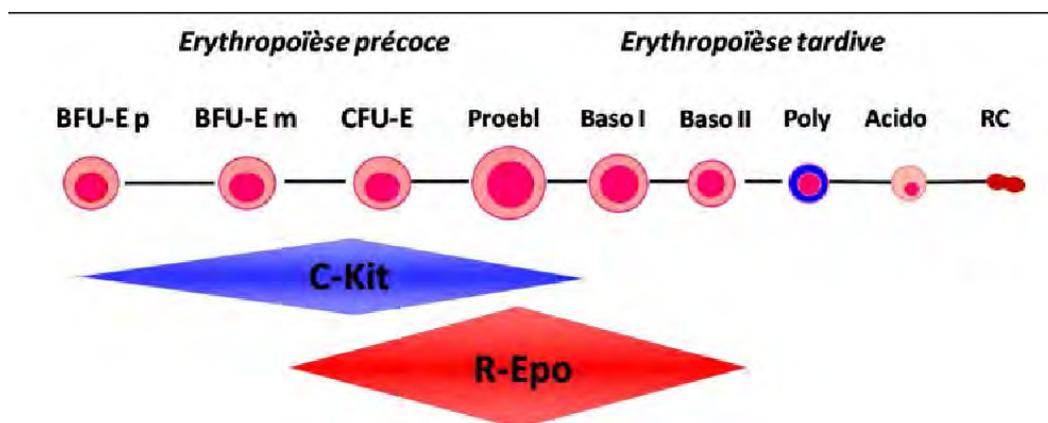


Figure 9 : Expression des récepteurs du SCF et de l'EPO aux différents stades de l'érythropoïèse.(19)

B.2.2. L'érythropoïétine

B.2.2.1. Généralités

L'EPO est le facteur de croissance majeur de l'érythropoïèse et va intervenir au stade précoce mais aussi au stade tardif. C'est une protéine de 165 acides aminés (20) (21) possédant de nombreux sites de glycosylation (la glycosylation est responsable de l'activité in vivo et de la stabilité de la protéine bien que celle-ci gêne pour son activité(22)) et possédant une demi-vie plasmatique d'environ 7 à 8 heures(23). Elle est principalement sécrétée par le rein(24) mais une petite quantité peut être produite par le foie et en moindre mesure par le cerveau, le placenta, la rétine et les testicules(25).

B.2.2.2 Régulation de l'EPO en fonction de la pression partielle en O₂

Agissant comme une hormone (produite par le rein et agissant dans la moelle osseuse), sa production va réguler l'érythropoïèse et le facteur permettant cela est l'oxygène. En effet, lorsque la concentration en oxygène varie dans la circulation sanguine, par exemple lors d'un excès d'oxygène, la synthèse d'EPO va diminuer afin de diminuer la production de globules rouges. Dans le cas contraire, la production d'EPO va augmenter afin d'augmenter la production de globules rouges pour compenser le manque d'oxygène (c'est ce qu'il se passe en altitude car la pression atmosphérique est diminuée et la présence d'oxygène aussi). Les cellules rénales possèdent des capteurs permettant la mesure de la pression partielle d'oxygène tissulaire(26) et ainsi de réguler les besoins de l'organisme (Figure 10). Lors d'une anémie sévère, la production d'EPO peut être augmentée jusqu'à 1000 fois(23).

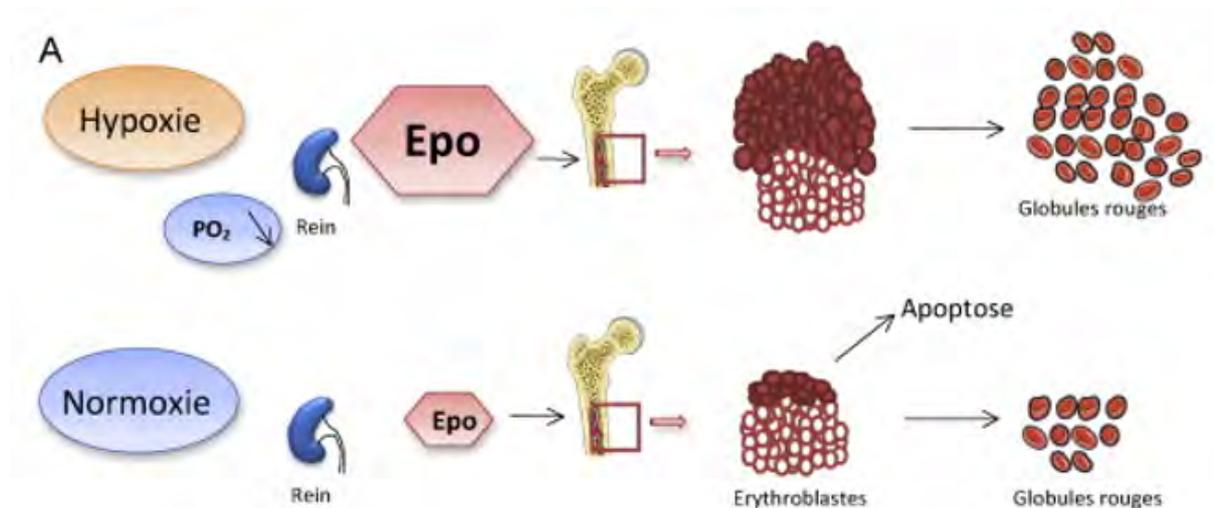


Figure 10 : Régulation de l'érythropoïèse par la pression partielle d'oxygène tissulaire(27)

B.2.2.3. Régulation de l'EPO au niveau transcriptionnel

Cette production ou diminution d'EPO va être engendrée au niveau transcriptionnel par les facteurs inductibles par l'hypoxie (HIF). Les HIF coordonnent cette réaction en provoquant des modifications spécifiques de l'expression des gènes propres à chaque type de cellule.

Cela se traduit par une augmentation de la production d'érythropoïétine (EPO) dans les reins et le foie, une amélioration de l'absorption et de l'utilisation du fer, ainsi que des ajustements dans le micro-environnement de la moelle osseuse. Ces ajustements favorisent la maturation et la prolifération des progéniteurs érythroïdes. Il est composé d'une sous-unité α sensible à l'oxygène et d'une sous-unité bêta exprimée de manière constitutive, connue sous le nom de translocateur nucléaire du récepteur d'hydrocarbures aryles (ARNT). Trois sous-unités α de HIF sont connues : HIF-1 α , HIF-2 α , HIF-3 α (28).

Malgré les découvertes réalisées in vitro qui ont identifié HIF-1 comme le facteur de transcription responsable de l'induction de l'EPO en réponse à l'hypoxie, il est désormais établi que HIF-2 joue un rôle prépondérant dans la régulation de la production d'EPO in vivo (Figure 11)(28):

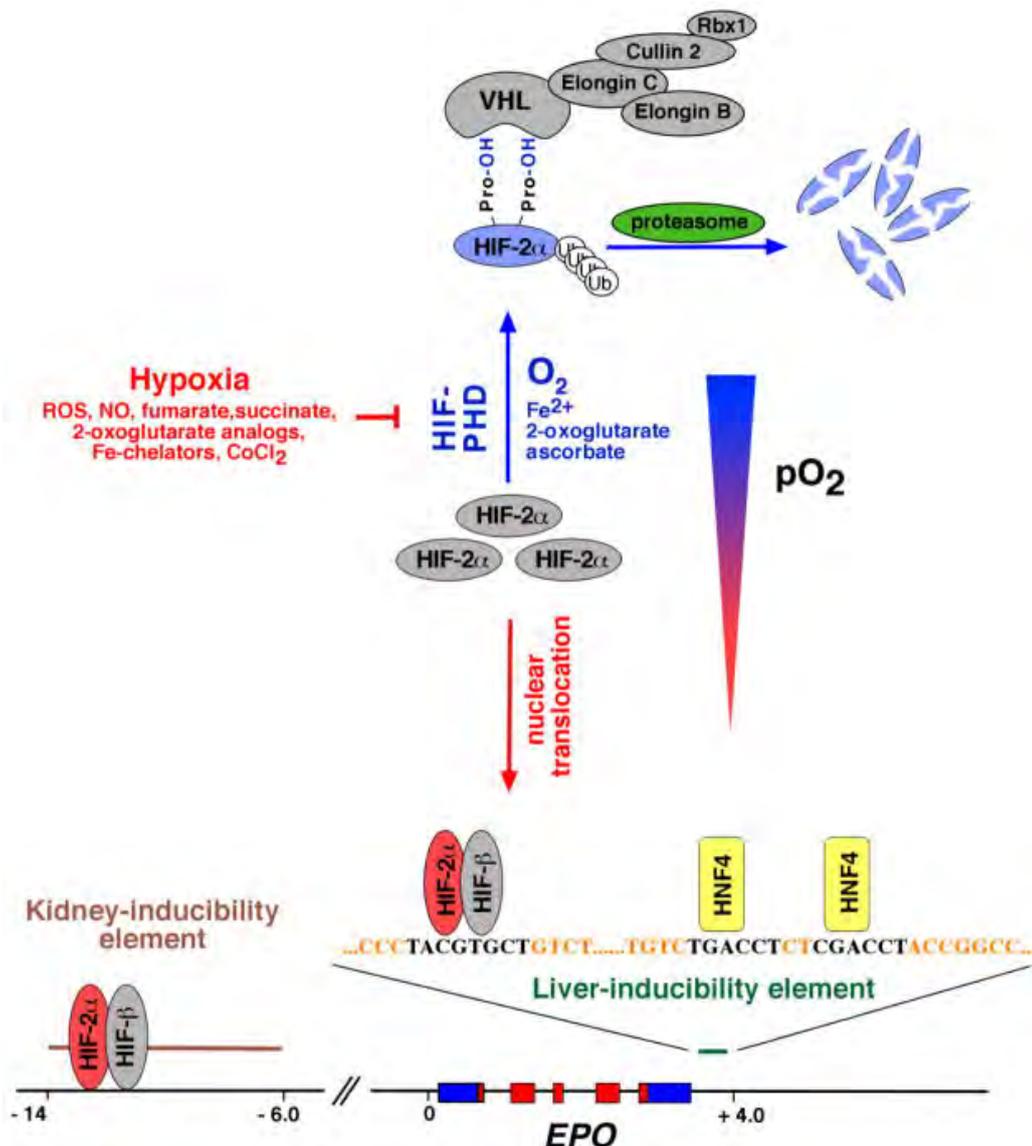


Figure 11 : Vue d'ensemble de la régulation de l'EPO par HIF-2.(28)

Lorsque la pression partielle en O₂ est suffisamment élevée, le complexe VHL-E3-ubiquitine ligase cible HIF-2 α hydroxylé pour entraîner sa dégradation par le protéasome. L'hydroxylation de HIF-2 α est effectuée par les prolyl-4-hydroxylases, HIF dépendantes du fer (HIF-PHD) en présence d'O₂. En l'absence d'O₂, HIF-2 α , synthétisé de manière constitutive, échappe à la dégradation et migre vers le noyau, où il forme un hétérodimère avec HIF- β .

Les hétérodimères HIF-2 α / β se lient au site de liaison et stimulent la transcription de l'EPO en présence de coactivateurs transcriptionnels. L'induction hypoxique de l'EPO dans le foie est médiée par l'élément d'inductibilité hépatique situé à l'extrémité 3' du gène EPO et celle dans les cellules rénales productrices d'EPO nécessite l'élément d'inductibilité rénale, situé entre 6 et 14 kb en amont du site d'initiation de la transcription.

Plusieurs facteurs, notamment le monoxyde d'azote (NO), les espèces réactives de l'oxygène (ROS), le succinate, le fumarate, le chlorure de cobalt et les chélateurs du fer tels que la desferrioxamine, inhibent les HIF-PHD, ce qui entraîne une augmentation de la transcription de l'EPO. Les rectangles (Figure 11) représentent les exons du gène EPO, avec les séquences codantes pour l'EPO en rouge et les régions non traduites en bleu. Les chiffres indiquent la distance par rapport au site de début de la transcription en kilobases, bien que cette représentation ne soit pas à l'échelle. Les sites de liaison 3'-HNF4 sont également présentés.

HIF-3 α régulerait lui aussi l'hypoxie mais nous ne connaissons pas de manière précise ces effets. Une étude de 2020 a démontré de manière préliminaire que celui-ci aurait un rôle dans l'apparition de pré-éclampsie en régulant la croissance des cytotrophoblastes extravilloux via FLT-1 et la voie de signalisation JAK/STAT(29).

B.2.2.4 Liaison de l'EPO à son récepteur (EPO-R)

Afin de pouvoir agir, l'EPO va venir se fixer à son récepteur, EPO-R. Le récepteur cellulaire EPO-R, codé par le gène EPOR, est une protéine de surface cellulaire qui porte une chaîne glucidique liée à N, contribuant à un poids moléculaire total d'environ 56 à 57 kDa. EPO-R appartient à la superfamille des récepteurs de cytokines de type I.

En tant que protéine transmembranaire unique, il se compose de trois domaines structurels distincts :

1. Un domaine extracellulaire de 226 acides aminés, impliqué dans la liaison à l'érythropoïétine.
2. Un domaine hélicoïdal transmembranaire de 23 acides aminés, qui facilite le transfert intracellulaire crucial des changements de conformation induits par l'EPO.
3. Un domaine intracellulaire C-terminal de 235 acides aminés, qui contient des sites de liaison pour la kinase JAK2 et des sites de phosphorylation de la tyrosine 8. Ces sites servent de points d'ancrage pour les facteurs de transcription tels que STAT5, qui activent les voies de signalisation en aval.

Le récepteur EPO-R existe généralement sous forme d'homodimères, et il subit des changements de conformation en réponse à l'autophosphorylation de la kinase JAK2 associée au récepteur (Figure 12)(30). Ces modifications sont essentielles pour déclencher les réponses cellulaires induites par l'EPO et seront détaillées plus loin.

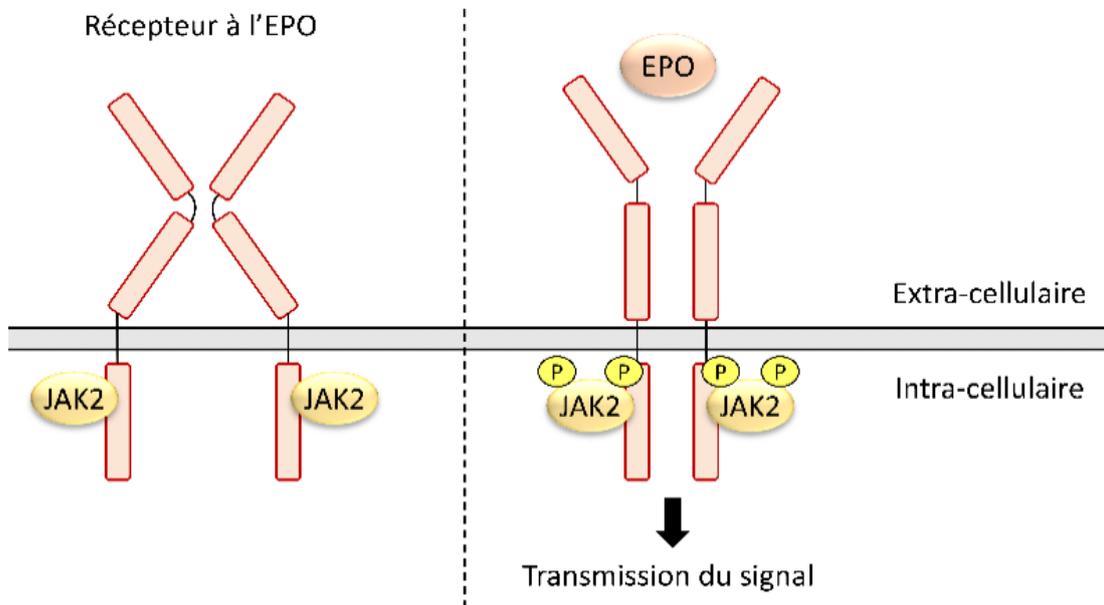


Figure 12 : liaison de l'EPO sur son récepteur entraînant un changement de conformation et une phosphorylation de JAK2.(31)

Il s'agit d'une mutation de la kinase JAK2 qui va être à l'origine de la polyglobulie de Vaquez et que nous allons détailler dans la prochaine partie.

II. Les polyglobulies

A. Épidémiologie

La polyglobulie est un terme général qui désigne une augmentation anormale du nombre de globules rouges dans le sang. Elle peut être classifiée en deux catégories principales : la polyglobulie primaire et la polyglobulie secondaire. Pour cela, on va utiliser le nombre de globules rouges mais aussi l'hémoglobine (Hb) et surtout l'hématocrite (Ht). En effet, l'Ht est un rapport exprimé en pourcentage correspondant au volume de globules rouges sur le volume sanguin total. Pour caractériser une polyglobulie, on utilise le volume globulaire total (VGT), c'est-à-dire le volume occupé par les globules rouges dans le sang. En effet, une augmentation du VGT supérieure à 125 % de la valeur théorique calculée par rapport à la morphologie du patient permet de poser un diagnostic de polyglobulie vraie/primaire. Si le

VGT est normal ou présente une augmentation mais inférieure à 125 %, alors on considère que c'est une polyglobulie fausse/secondaire (Figure 13). Dans la pratique quotidienne et les recommandations de l'OMS(32), l'Hb et l'Ht permettent d'identifier une possible polyglobulie. On effectuera l'examen de la masse sanguine en cas de doute.

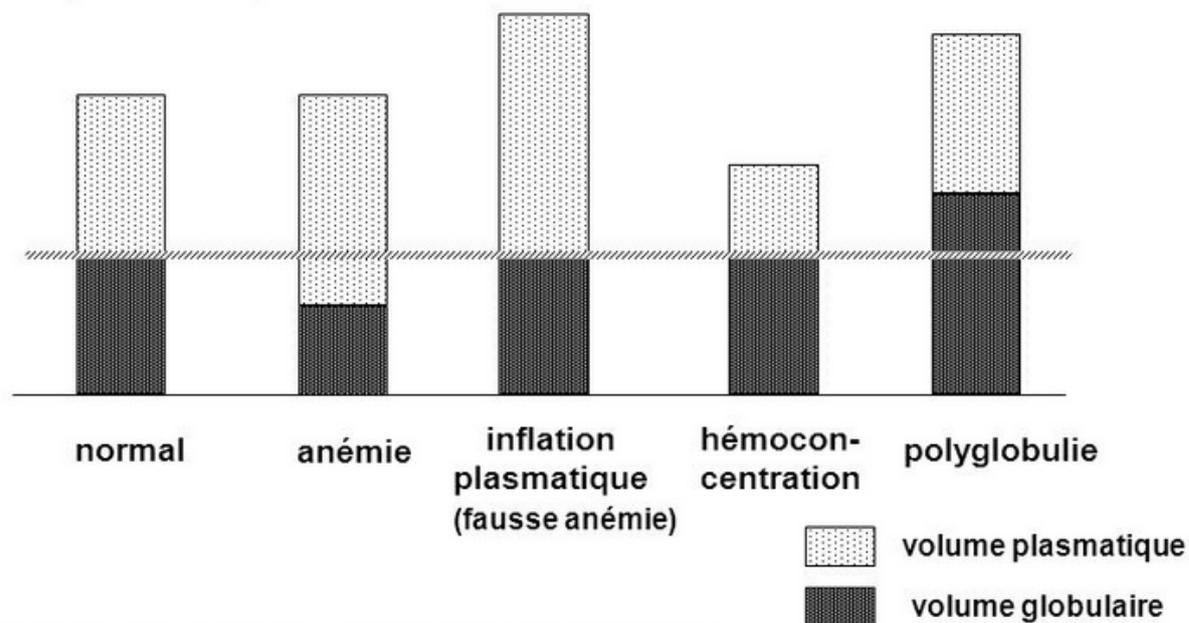


Figure 13 : Représentation du VGT en fonction des différentes causes.(33)

La polyglobulie primaire, également connue sous le nom de polyglobulie de Vaquez, est une maladie hématologique caractérisée par une production excessive de globules rouges dans la moelle osseuse et provenant d'une anomalie génétique de la lignée érythroblastique. Elle est généralement causée par une mutation génétique acquise et peut être associée à une augmentation de la viscosité sanguine. La polyglobulie primaire est considérée comme une maladie rare.

La polyglobulie secondaire se caractérise par une augmentation de la quantité totale de globules rouges, résultant d'une stimulation accrue de leur production par une lignée érythroblastique normale. Cette condition peut être soit congénitale, soit acquise, respectivement désignée comme polyglobulie secondaire congénitale ou polyglobulie secondaire acquise.

Il est difficile de fournir des statistiques spécifiques sur l'épidémiologie des polyglobulies en France, car elles sont considérées comme des affections rares et les données exactes peuvent varier. Néanmoins, une étude sur l'épidémiologie de la myélofibrose, thrombocytémie essentielle et polyglobulie vraie dans l'Union Européenne regroupant des publications entre le 1^{er} Janvier 2000 et le 6 Décembre 2012 montre une incidence entre 0,4

et 2,8 pour 100 000 par an(34). Globalement on estime à 1 cas pour 100 000 habitants par an(35). De plus, une étude de l'Institut National du Cancer en 2018 évalue le nombre de nouveaux cas de polyglobulie de Vaquez en France à 1163 cas chaque année avec une légère dominance masculine et un âge médian de 60 ans(36).

B. Physiopathologie

B.1 Polyglobulie primaire

La polyglobulie vraie est décrite pour la première fois en 1892 à Paris, par le médecin français Louis Vaquez (1860-1936), chez un patient présentant des symptômes : étourdissements, cyanose, volume sanguin augmenté et dont l'autopsie révéla une hépato-splénomégalie massive(37). Les cas de PV ont ensuite été classés et définis plus précisément en 1967 par le Groupe d'Étude de la Polyglobulie Vraie (PVSG)(38) puis de nos jours par l'OMS en 2001, 2008 et 2016. La polyglobulie de Vaquez ou polyglobulie primaire fait partie des néoplasies myéloprolifératives chroniques. Elle est caractérisée par une production excessive de globules rouges, conduisant à une augmentation de l'hématocrite et à une éventuelle augmentation de la viscosité sanguine. Les néoplasies myéloprolifératives chroniques (NMP) sont un groupe de maladies hématologiques caractérisées par une prolifération excessive et anormale des cellules souches de la moelle osseuse qui produisent les cellules sanguines. Dans ces conditions, les cellules souches subissent des mutations génétiques qui entraînent une production accrue de globules rouges, de globules blancs et/ou de plaquettes.

Les principales néoplasies myéloprolifératives chroniques comprennent :

1- Polyglobulie de Vaquez : augmentation prédominante des globules rouges

2- Thrombocytémie essentielle (TE) : elle se caractérise par une production excessive de plaquettes, ce qui peut augmenter le risque de caillots sanguins.

3- Myélofibrose primaire : dans cette maladie, la moelle osseuse se remplit progressivement de tissu fibreux, ce qui peut entraîner une diminution de la production de cellules sanguines normales.

4- Leucémie myéloïde chronique (LMC) : bien que techniquement classée comme une maladie myéloproliférative, la LMC implique généralement une production excessive de globules blancs, en particulier des granulocytes.

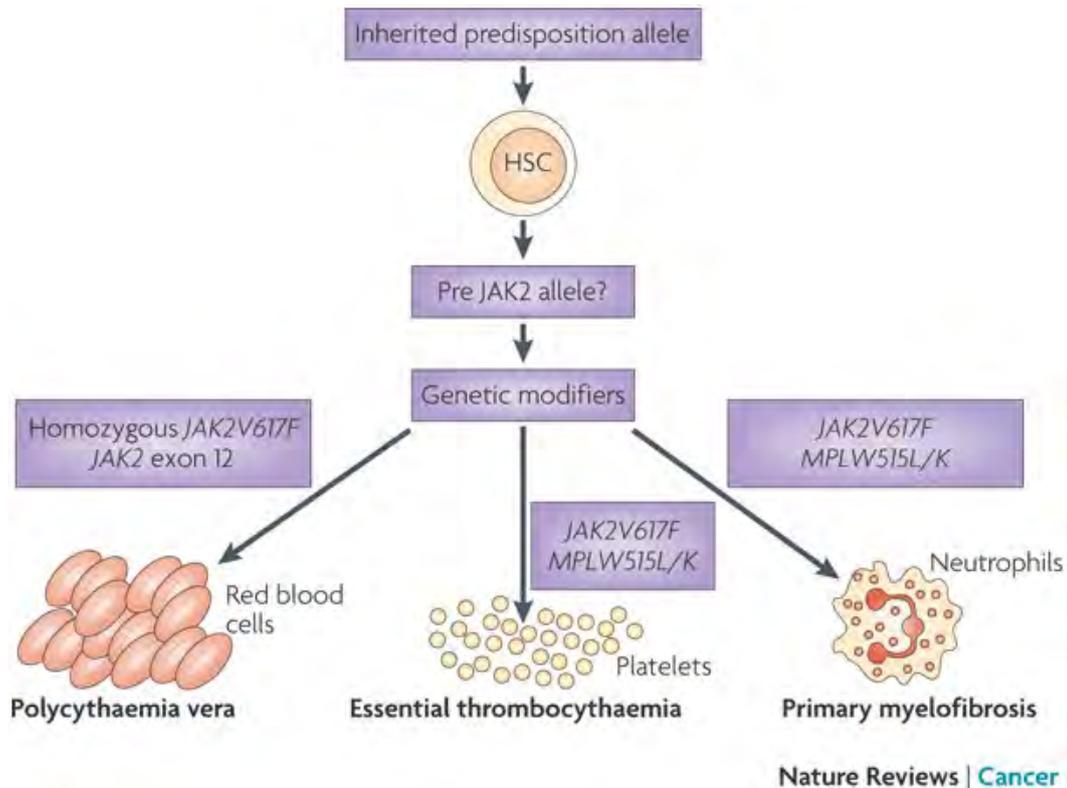


Figure 14 : Rôle de JAK2 dans la formation des différentes lignées.(39)

La polyglobulie de Vaquez est causée principalement par une mutation somatique acquise dans le gène JAK2 (Janus kinase 2). Découverte en 2005(40), cette mutation de l'activité tyrosine kinase est le mécanisme à la base des néoplasies myéloprolifératives chroniques (Figure 14), caractérisée dans la polyglobulie de Vaquez par la présence d'une polycythémie diverse comprenant une thrombocytose, une leucocytose, provoquant une splénomégalie. Elle est associée dans 95 % des cas à une mutation V617F de l'exon 14 du gène JAK2. Cette découverte a pu se faire grâce à la technique de PCR (Polymerase Chain Reaction) spécifique aux allèles ou par séquençage, qui a été utilisée dans une étude de 220 cas de polyglobulie de Vaquez(41). Cependant 6 cas parmi les 220 ne présentaient pas de mutation V617F, mais 5 d'entre eux (soit plus de 80 % des négatifs) présentaient une des 2 mutations de l'exon 12 de JAK2 (F537-K539del ou N542-E543del).

Une autre étude de 2011 a recherché les autres mutations de JAK2 indépendamment de V617F positifs sur les deux tiers des 106 patients. Les patients présentant des mutations d'exon 12 ont présenté un taux d'hémoglobine significativement plus élevé et un taux de plaquettes et de leucocytes plus faibles au moment du diagnostic. Les incidences de thrombose, leucémie et décès étant cependant similaires entre la mutation JAK2 V617F et celles de l'exon 12 (Figure 15)(42).

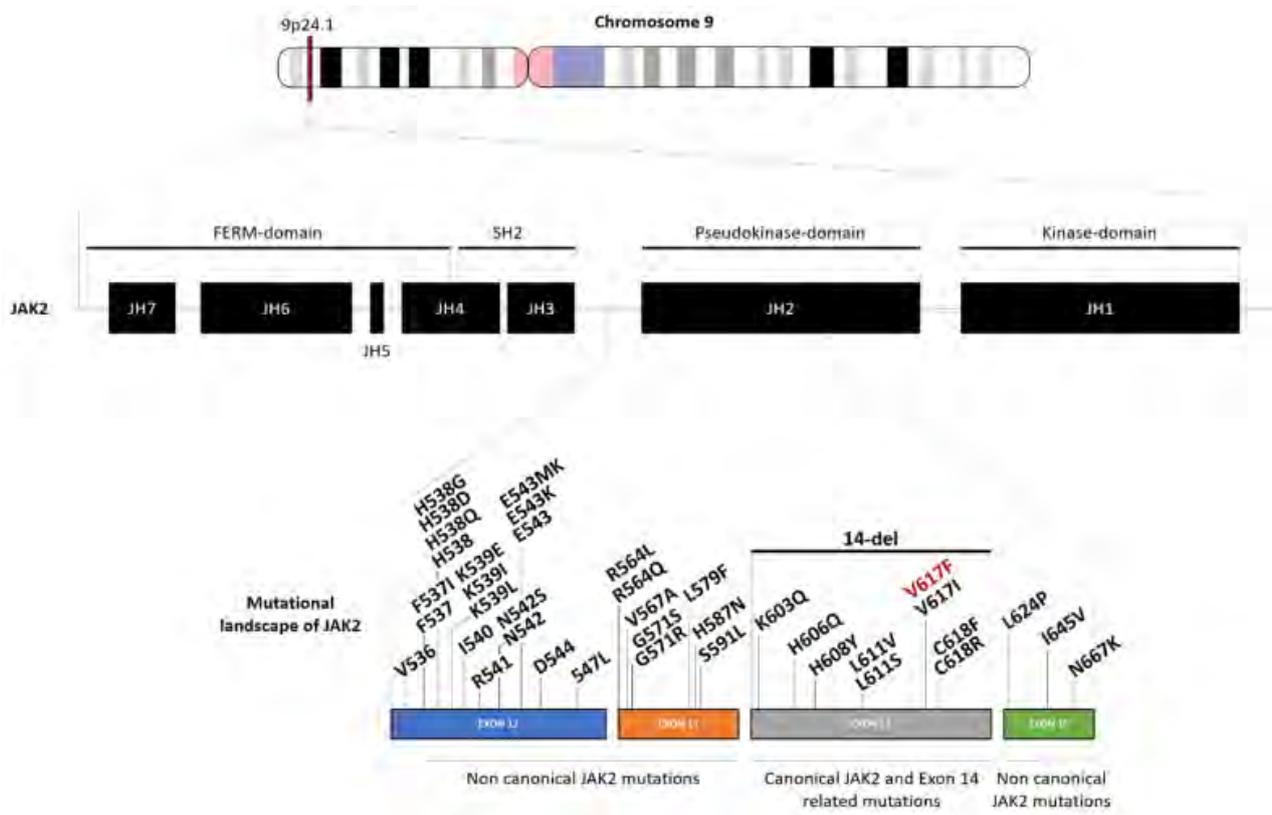


Figure 15 : Vue schématique de la structure du gène JAK2 et de son paysage mutationnel dans la polyglobulie de Vaquez.(43)

Le gène JAK2 se trouve sur le chromosome 9 à l'emplacement 9p24.1 (4 984 390–5 129 948). Il est composé de 7 domaines d'homologie (JH1 à JH7) qui correspondent à 4 domaines fonctionnels : domaines FERM, SH2, Pseudokinase et Kinase. Dans PV, les mutations ont affecté la région de JAK2 s'étendant de l'exon 12 à l'exon 15 et appartiennent principalement au domaine JH2/Pseudokinase.

Cette mutation est couramment désignée sous le nom de JAK2 V617F en raison du changement d'acide aminé valine en phénylalanine à la position 617 de la protéine JAK2. Cette mutation conduit à une activation anormale et constitutive de la voie de signalisation JAK-STAT, qui joue un rôle clé dans la régulation de la production de cellules sanguines.

La voie JAK-STAT est une cascade de signalisation impliquant plusieurs protéines, dont les kinases JAK (Janus kinases) et les facteurs de transcription STAT (signal transducers and activators of transcription). Elle joue un rôle crucial dans la régulation de la prolifération cellulaire, de la différenciation et de la survie cellulaire. La mutation JAK2 V617F conduit à une activation chronique de cette voie (Figure 16), ce qui entraîne une production excessive de cellules souches hématopoïétiques et une surproduction de globules rouges, de plaquettes et de globules blancs dans la moelle osseuse.

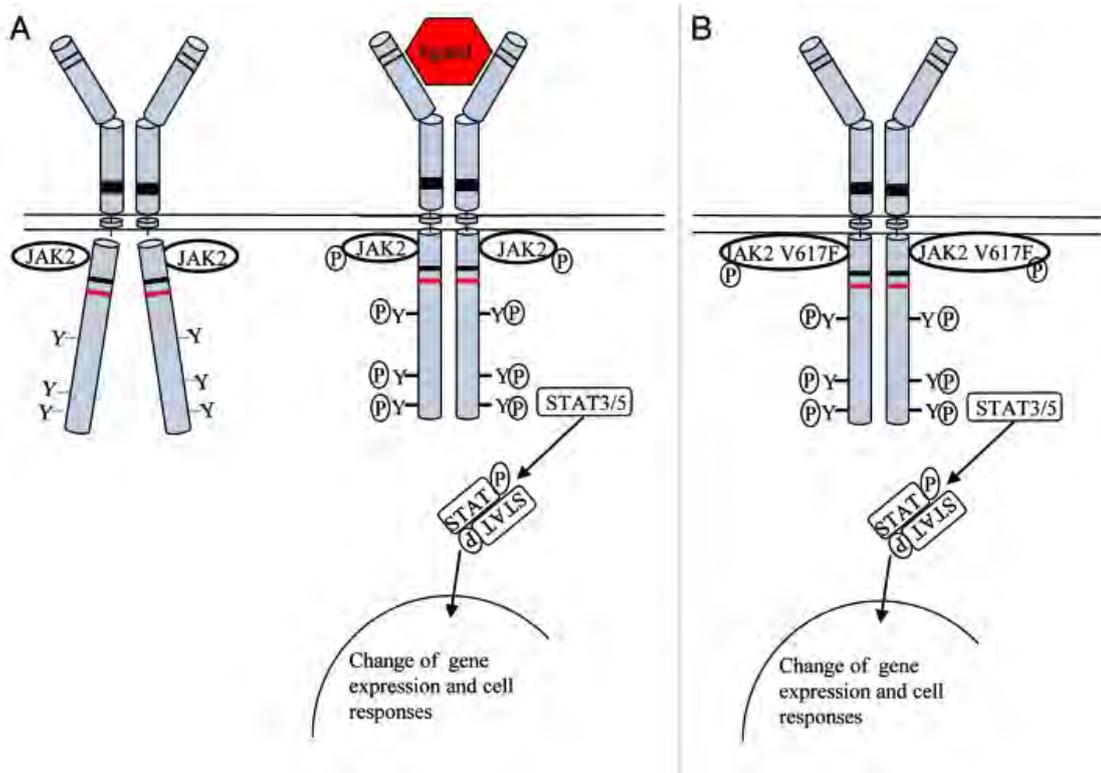


Figure 16 : Signalisation par la voie JAK-STAT.(44)

Dans le cas A, la liaison au ligand, qui est l'EPO dans la voie de production des érythroblastes, induit un changement conformationnel du récepteur des cytokines et permet la phosphorylation des protéines JAK. Les protéines JAK2 phosphorylées vont permettre la phosphorylation des résidus de tyrosine (Y) dans le domaine cytoplasmique du récepteur et fournir un site d'amarrage pour les protéines STAT. Les STAT phosphorylés se dissocient du récepteur, se dimérisent et par translation arrivent dans le noyau où elles modulent l'expression génique.

Dans le cas B, celui du JAK2 V617F, les tyrosines cytosoliques sont constamment phosphorylées, conduisant à une activation constitutive des protéines STAT. Il n'y a plus besoin du ligand, donc de l'EPO, pour stimuler l'activation des érythroblastes.

Cette prolifération anormale des cellules souches hématopoïétiques conduit à une expansion clonale, où une population de cellules dérivées d'une seule cellule souche mutée prolifère de manière incontrôlable. Les mécanismes précis par lesquels la mutation JAK2 V617F favorise cette expansion clonale ne sont pas encore complètement élucidés, mais ils impliquent des perturbations dans les voies de signalisation intracellulaire, notamment celles régulant la prolifération, la différenciation et l'apoptose (mort cellulaire programmée).

En résumé, la mutation JAK2 V617F dans la polyglobulie de Vaquez entraîne une activation anormale de la voie JAK-STAT, ce qui perturbe l'équilibre de la production de cellules sanguines et conduit à la prolifération excessive de globules rouges, de plaquettes et de globules blancs.

En plus de la mutation JAK2 V617F, d'autres mutations géniques et mécanismes moléculaires peuvent être impliqués dans la polyglobulie de Vaquez et d'autres néoplasies myéloprolifératives mais d'apparition plus rare. Voici quelques-uns des mécanismes et mutations connus :

1- Mutation CALR : Une autre mutation courante observée dans les néoplasies myéloprolifératives, y compris certaines formes de polyglobulie de Vaquez, est la mutation CALR. Cette mutation concerne principalement le gène CALR et conduit à des changements dans la structure de la calréticuline, une protéine impliquée dans le repliement des protéines et l'homéostasie du calcium(45). Les protéines mutées perdent le motif de rétention ER à l'extrémité C-terminale qui est censé promouvoir la voie de signalisation JAK. Comme le JAK2 étant déjà muté dans la PV, cette mutation CALR est donc rare, voir absente(43). On a retrouvé ces mutants CALR dans les granulocytes périphériques et dans les BFU-E au moment du diagnostic(46).

2- Mutation MPL : Certaines néoplasies myéloprolifératives, y compris la polyglobulie de Vaquez, peuvent présenter des mutations dans le gène MPL, qui code le récepteur de la thrombopoïétine. Les mutations MPL peuvent entraîner une stimulation excessive de la production de plaquettes et contribuer aux caractéristiques de la maladie. Les mutations W515L et W515K sont les plus connues et induisent une activation constitutive et indépendante des cytokines de la voie JAK-STAT(47).

3- Autres mutations géniques : En plus des gènes JAK2, CALR et MPL, d'autres mutations géniques ont été identifiées dans les néoplasies myéloprolifératives : TET2, DNMT3A, ASXL1, EZH2, NF1(43)... Ces mutations touchent généralement des gènes impliqués dans les voies de signalisation, la régulation de la croissance cellulaire et la réponse aux dommages à l'ADN. La mutation LNK ou SH2B3, est une autre mutation génique associée aux néoplasies myéloprolifératives, y compris la polyglobulie de Vaquez. La protéine LNK (ou SH2B3) joue un rôle dans la régulation négative des voies de signalisation impliquées dans la croissance et la différenciation des cellules sanguines par le récepteur EPO en inhibant JAK2/STAT5, AKT et MAPK(48). On retrouve cette mutation chez environ 7 % des patients atteints de PV(49), démontrant une coexistence avec les mutations JAK2/CALR/MPL/TET2 et ASXL1(50). Les techniques de séquençage de l'ADN ayant évolué ces dernières années, de nouvelles mutations vont être découvertes afin de comprendre les différents processus impliqués dans ces maladies.

4- Facteurs épigénétiques : Les modifications épigénétiques, telles que les changements dans la méthylation de l'ADN et les modifications des histones, jouent également un rôle dans le développement des néoplasies myéloprolifératives. Ces altérations épigénétiques peuvent influencer l'expression des gènes impliqués dans la régulation de la prolifération cellulaire et de la différenciation.

5- Micro-environnement de la moelle osseuse : Le micro-environnement de la moelle osseuse, composé de cellules stromales et de facteurs de croissance, joue un rôle important dans la régulation de la production de cellules sanguines. Des anomalies dans ce micro-environnement peuvent favoriser la prolifération des cellules souches mutées et contribuer à la pathogenèse des néoplasies myéloprolifératives.

La complexité des néoplasies myéloprolifératives et des mécanismes moléculaires sous-jacents est encore en cours de compréhension. Les interactions entre différentes mutations génétiques, mécanismes épigénétiques et facteurs du micro-environnement sont complexes et variées.

La détection de ces mutations dans le cadre du diagnostic des polyglobulies primaires est essentielle pour confirmer le diagnostic et guider les options de traitement. Les traitements peuvent inclure l'utilisation de médicaments ciblant les voies de signalisation altérées, tels que les inhibiteurs de JAK2, pour contrôler la production excessive de globules rouges et gérer les symptômes associés.

B.2 Polyglobulies secondaires

Les polyglobulies secondaires, également appelées polyglobulies réactives, sont des conditions où il y a une augmentation du nombre de globules rouges dans le sang en réponse à certaines conditions ou facteurs extérieurs. Contrairement aux polyglobulies primaires (la polyglobulie de Vaquez est définie comme polyglobulie primitive acquise et il existe aussi la polyglobulie primitive congénitale, que nous ne détaillerons pas dans cette thèse, qui est une mutation du gène du récepteur de l'EPO), les polyglobulies secondaires ne sont pas causées par une mutation génétique acquise, mais sont plutôt une réponse adaptative du corps à des situations spécifiques mais principalement dues à des hypoxies.

L'hypoxie se réfère à une condition où les tissus du corps ne reçoivent pas une quantité suffisante d'oxygène. En réponse à l'hypoxie, le corps peut activer divers mécanismes compensatoires, tels que l'augmentation de la fréquence cardiaque, la libération accrue d'EPO, et d'autres ajustements pour essayer de maintenir un apport adéquat d'oxygène aux tissus. Cependant, ces mécanismes peuvent entraîner des adaptations à long terme, comme l'érythrocytose et donc une polyglobulie secondaire dans le but d'améliorer le transport d'oxygène.

Voici quelques exemples de conditions ou de facteurs qui peuvent causer des polyglobulies secondaires :

1- Altitude élevée : l'hypoxie peut être causée par une diminution de la concentration d'oxygène dans l'air inspiré, lié à une diminution de la pression partielle en oxygène (PO₂). Cela peut se produire à des altitudes élevées où la pression atmosphérique est plus basse, ou en raison de certaines conditions médicales qui réduisent la capacité des poumons à absorber l'oxygène. Une étude en 2022 sur la maladie rénale liée à la polyglobulie chronique de haute altitude (HAPC) chez les habitants tibétains a été effectuée sur 416 patients en effectuant une biopsie du rein(51). 17 patients répondaient au critère d'érythrocytose excessive (≥ 190 g/L pour les femmes et ≥ 210 g/L pour les hommes) de l'HPAC et des dizaines d'autres présentaient des lésions vasculaires glomérulaires et extraglomérulaires.

2- Maladies pulmonaires chroniques : L'oxygène doit passer des poumons dans le sang à travers les membranes alvéolaires et un problème dans ce processus, tel que la bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO), peut entraîner une diminution de la quantité d'oxygène qui atteint la circulation sanguine.

3- Troubles cardiaques : Certaines affections cardiaques comme les cardiopathies congénitales cyanogènes ou l'insuffisance cardiaque entraînent une réduction de la capacité cardiaque à pomper le sang efficacement et donc une augmentation de la production de globules rouges en raison de la réduction de l'apport en oxygène aux tissus.

4- Tabagisme : le tabagisme va influencer la production de globules rouges, car la combustion du tabac entraîne la formation de monoxyde de carbone (CO) qui va se lier à l'hémoglobine à la place de l'oxygène et entraîner une hypoxie.

5- Conditions de déséquilibre du transport d'oxygène : L'hémoglobine est responsable du transport de l'oxygène et des situations telles que l'anémie ou des anomalies de l'hémoglobine peuvent réduire la capacité du sang à transporter l'oxygène. On retrouve l'érythrocytose congénitale secondaire produisant des hémoglobines à haute affinité pour l'oxygène. En 1966, un patient a été diagnostiqué en ayant un taux d'Hb de 199g/L(52). Cependant cette mutation des gènes α et β des chaînes de globines n'est qu'une parmi des centaines, les deux tiers n'entraînant pas d'érythrocytose significative et étant des variations instables, certaines provoquent des anémies hémolytiques et des taux d'Hb légèrement inférieurs à la normale(53).

6- Mauvaise utilisation de l'oxygène au niveau tissulaire et tumeur : Même si le sang transporte suffisamment d'oxygène, certains tissus peuvent ne pas être en mesure de l'utiliser correctement en raison de troubles métaboliques ou de dysfonctionnements cellulaires. Certaines situations médicales, telles que des tumeurs produisant de l'EPO, peuvent entraîner une polyglobulie secondaire.

En 2021, une étude a comparé les différences phénotypiques et le taux de thrombose dans l'érythrocytose secondaire (SE) par rapport à la polyglobulie de Vaquez(54). Sur 102 patients, 36 souffraient de SE et 66 de PV et les chercheurs ont obtenus comme résultats :

- Les taux sériques médians d'EPO étaient normaux dans la cohorte SE (10,3 mUI/mL, plage <1-148) contre inférieurs à la normale chez les patients PV (2,3 mUI/mL, page <1-14,1), la différence étant significative ($p < 0,0001$).

- Le taux d'Hb médian était de 176 g/L pour les patients SE et 179 pour les patients PV, pas de différence significative entre les deux.

- Le taux d'Ht médian était de 52,9 % (plage 48-60) pour les patients SE et 54,2 % (plage 44,6-70,2), pas de différence significative mais au moment du diagnostic, une proportion significativement inférieure de patients SE présentaient une Ht > 55 % par rapport aux patients PV (25 % contre 48 % des patients, $p = 0,02$).

- Lors du diagnostic, les patients SE vis-à-vis des patients PV avaient un nombre de plaquettes de base significativement inférieur (191 vs $417 \times 10^9/L$, plage 125-476 contre 120-995).

Les étiologies de l'érythrocytose dans la cohorte SE ont été signalées comme idiopathiques dans 50 % ($n = 18$), comme étant liées au tabagisme/maladie pulmonaire obstructive chronique (MPOC) dans 22,2 % ($n = 8$), liées au tabagisme et à d'autres facteurs dans 8,3 % ($n = 3$), l'apnée du sommeil et la polykystose rénale dans 5,6 % ($n = 2$) chacune, ou une combinaison des deux dernières dans 2,7 % ($n = 1$), l'apnée du sommeil plus lésion hépatique dans 2,7 % ($n = 1$) et enfin érythrocytose après transplantation rénale dans 2,7 % ($n = 1$).

Le traitement des polyglobulies secondaires implique généralement de traiter la cause sous-jacente (altitude, tabac) mais dans d'autres cas, le traitement peut consister à gérer la maladie sous-jacente, comme les troubles cardiaques ou pulmonaires.

B.3 Les symptômes cliniques de la polyglobulie de Vaquez

Il arrive que les patients n'aient aucun signe clinique de la maladie, sa découverte se faisant lors d'un bilan sanguin. L'excès de globules rouges provoque une hyperviscosité du sang. Cette viscosité augmentée entraîne des risques de thromboses et d'hypoxie des tissus, notamment au niveau de la micro-circulation sanguine.

Celle-ci engendre des céphalées, des vertiges, des bourdonnements d'oreille, des phosphènes, des paresthésies, voire une lipothymie (sensation de malaise sans perte de connaissance), une amaurose transitoire (baisse de l'acuité visuelle strictement monoculaire et transitoire) ou une diplopie (perception simultanée de 2 images d'un objet unique).

L'hyperviscosité peut entraîner des érythroses faciales sur le nez, le cou, les lèvres, les oreilles ou encore les muqueuses mais aussi des érythromélgies (extrémités des mains et des pieds rouges et gonflés avec sensation de brûlure en raison d'un thrombus artériolaire).

On retrouve une splénomégalie chez environ 30 à 40 % des patients, manifestée par une sensation de pesanteur de l'hypochondre gauche. La rate séquestre de manière physiologique des leucocytes, 30 % du nombre total de plaquettes et 1 à 2 % de globules rouges. Cette séquestration va être augmenté du fait de l'augmentation du nombre de globules rouges présent dans le sang, entraînant ainsi son hypertrophie.

On observe un prurit caractéristique de la maladie chez 60 % des patients : le prurit aquagénique, qui est déclenché par contact avec l'eau chaude lors de la douche, du bain ou de la vaisselle. Sa physiopathologie est inconnue. Plusieurs pistes peuvent être explorées en se basant sur la compréhension d'autres prurits. Le prurit semble débiter dans la peau, au niveau des terminaisons nerveuses libres, où la Substance P, en association avec d'autres neuropeptides, agit comme le principal médiateur. Des variations de leur concentration, une augmentation des récepteurs des neuropeptides ou d'autres substances comme les cytokines, déclenchant les démangeaisons, ainsi qu'une libération excessive de ces médiateurs pourraient être à l'origine du prurit aquagénique.

On observe la survenue d'une complication thrombotique inaugurale, veineuse le plus souvent ou artérielle dans 15-20 % des cas(35).

On retrouve aussi chez ces patients de la fatigue, de l'insomnie et des problèmes de concentration à hauteur respectivement de 91 %, 68 % et 61 %(55).

Enfin, on peut également observer une lithiase urinaire ou des crises de goutte suite à l'hyperuricémie symptomatique provoquée par la destruction de cellules.

Lors de l'apparition d'un de ces symptômes ou lors d'un bilan sanguin anormal qui a été confirmé par un deuxième, on va effectuer des examens afin d'établir le diagnostic de la maladie.

C. Diagnostic

Le diagnostic de la polyglobulie de Vaquez se fait grâce à des éléments cliniques et biologiques. Le plus souvent, la découverte se fait de manière fortuite au cours d'un bilan sanguin ou lors de l'apparition de signes cliniques (détaillés dans la partie précédente) tels qu'un prurit, une éruption cutanée ou encore de thromboses.

Le diagnostic va se dérouler en plusieurs phases selon les guidelines de la société anglaise d'hématologie publiées en Novembre 2018 (Figure 17).

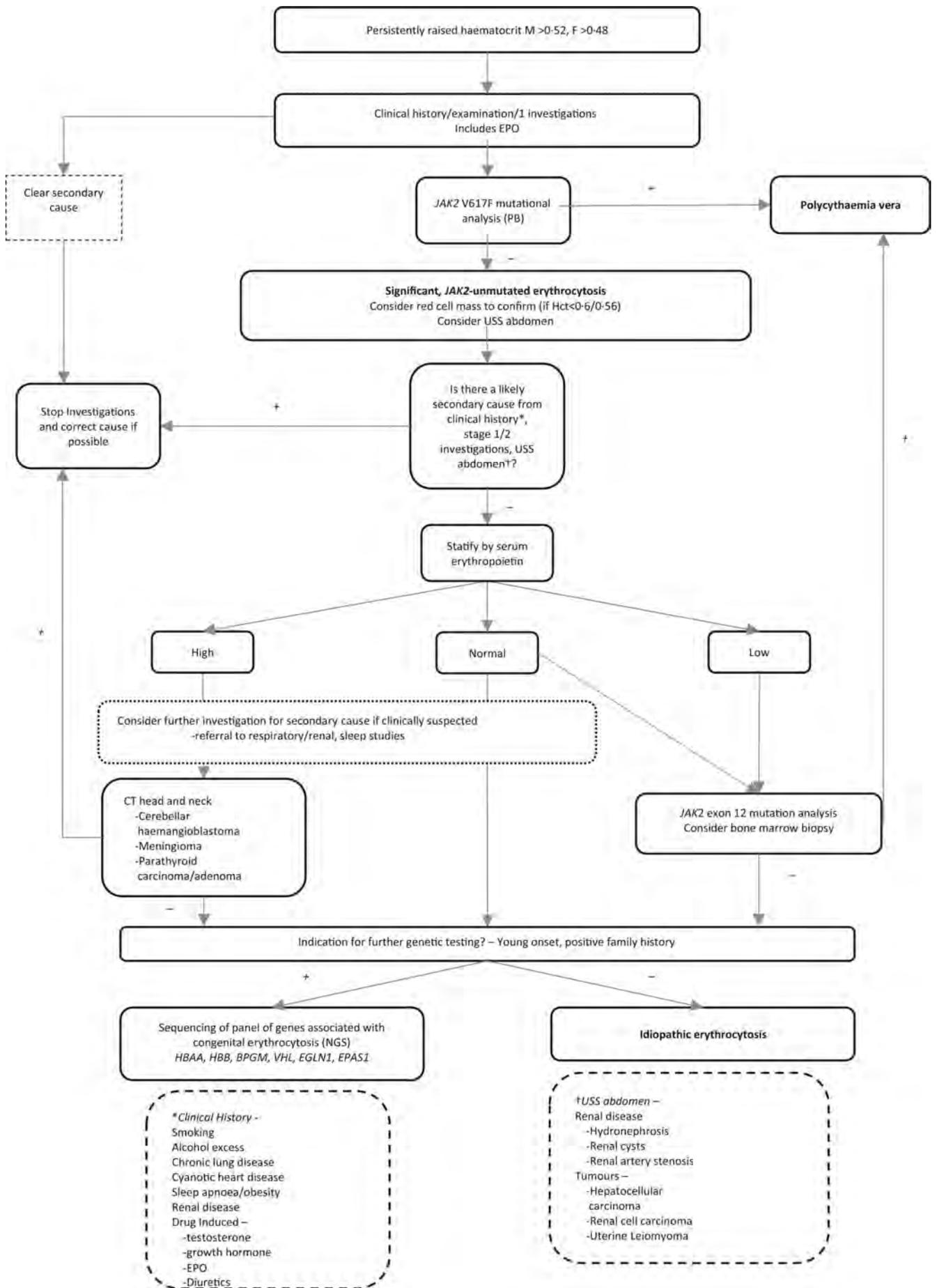


Figure 17 : Algorithme pour l'étude d'une érythrocytose.(56)

La persistance d'une hématoците ou d'une hémoglobine élevée provoque le début des investigations : il est recommandé de commencer par une recherche de la mutation JAK2 après les investigations cliniques incluant le dosage de l'EPO, puis en cas de formes moins probantes de poursuivre avec l'examen de la masse sanguine (si l'hématoците est < 60 % pour les hommes et 56 % pour les femmes), une échographie de l'abdomen voir une biopsie ostéo-médullaire.

En effet, selon les guidelines de la société anglaise d'hématologie, si le patient présente une hématoците élevée (>52 % chez l'homme et >48 % chez la femme) ou un volume globulaire augmenté (>25%) avec une mutation JAK2 V617F positive, le diagnostic de la PV est posé. C'est pourquoi ils conseillent d'effectuer une numération de la formule sanguine (NFS) pour connaître le taux d'Ht, la recherche de mutation JAK2 V617F qui est présente chez 95 % des cas de PV et le dosage de l'EPO qui permet de fournir des informations sur les causes potentielles de l'érythrocytose devant la persistance d'une Ht ou Hb élevée. Cependant ce dosage de l'EPO ne sert qu'à clarifier une potentielle cause secondaire d'érythrocytose et ne sera utilisé qu'en deuxième intention.

En revanche, si la recherche de mutation JAK2 V617F est négative, il est recommandé d'effectuer l'examen de la masse sanguine et une échographie de l'abdomen. Si malgré cela, les examens sont négatifs, on statue avec le dosage de l'EPO sérique : habituellement diminué voir normal dans la PV, on peut effectuer une recherche de mutation JAK2 exon 12 et une biopsie ostéo-médullaire. Mais si celui-ci est augmenté, on va rechercher une cause secondaire (comme une tumeur) par de l'imagerie complémentaire.

C.1. Le contexte clinique

Le contexte clinique et l'anamnèse du patient vont permettre d'identifier des situations évidentes telles qu'une prise de médicaments, une tumeur sécrétrice d'EPO, une hypoxie, une hémococentration ou encore des antécédents familiaux de polyglobulies, de thromboses. Cela permet d'orienter vers une polyglobulie primaire ou secondaire. Une échographie abdominale peut être réalisée après une palpation pour trouver ou confirmer une splénomégalie mais aussi une possible tumeur sécrétrice d'EPO au niveau rénal ou hépatique. Chez les transplantés rénaux, on observe assez fréquemment, de l'ordre de 10 à 15 %(57), une polyglobulie mais cela n'exclut pas l'apparition d'une néoplasie myéloproliférative(58). Les symptômes cliniques (détaillés dans la partie précédente) vont permettre d'orienter vers un bilan sanguin afin de déterminer les causes de ceux-ci.

C.2. Le bilan biologique

La NFS est un des éléments majeurs permettant le diagnostic d'une polyglobulie. En effet, elle va permettre de connaître la concentration en globules rouges, l'hémoglobine et l'hématocrite. Le nombre de globules rouges sera augmenté à partir de 6 T/L chez l'homme et 5,3 T/L chez la femme. La polyglobulie de Vaquez sera suspectée lorsque l'hémoglobine est supérieure à 16,5 g/dL chez l'homme, 16,0 g/dL chez la femme ou lorsque l'hématocrite est supérieure à 49 % chez l'homme et 48 % chez la femme(32). Il s'agit d'un critère majeur pour déterminer une polyglobulie de Vaquez.

Cependant, il est important de noter que les taux d'hémoglobine et d'hématocrite peuvent parfois être trompeurs dans l'évaluation de la polyglobulie. Par exemple, l'hématocrite peut sembler normal en raison de l'expansion du volume plasmatique, et l'hémoglobine peut être dans la fourchette normale en cas de carence en fer concomitante. Par conséquent, la mesure la plus fiable pour diagnostiquer la polyglobulie est souvent l'examen de la masse sanguine(59). De plus, en cas de polyglobulie, il est courant, bien que non systématique, de constater une augmentation du nombre de neutrophiles, une thrombocytose ainsi qu'une hyperleucocytose.

Le bilan biologique va aussi doser le taux d'EPO sérique. Il va être diminué ou normal dans la polyglobulie de Vaquez et augmenté en cas de polyglobulie secondaire. Il s'agit d'un critère mineur pour déterminer une polyglobulie de Vaquez.

C.3. La recherche des mutations JAK2

Depuis le développement de la technique de PCR, de l'analyse moléculaire et des séquenceurs de nouvelle génération, la recherche de mutations géniques dans certaines pathologies permet de poser un diagnostic. Pour la polyglobulie de Vaquez, il s'agit de la découverte de la mutation JAK2 V617F exon 14 en 2005(40) puis de celles de l'exon 12. Retrouvées chez 95 % des patients, il s'agit d'un critère majeur pour déterminer une polyglobulie de Vaquez.

On prélève le sang du patient afin d'amplifier par PCR la partie de l'exon 14 V617F de l'ADN, avec des amorces sens 5' correspondant aux allèles sauvage et muté et une amorce commune 3' et en fonction de la fluorescence détectée, on en conclut à la présence de la mutation ou non(60). Même chose concernant les mutations de l'exon 12. Si les mutations JAK2 s'avèrent négatives et en fonction de la masse sanguine, on utilisera un séquenceur haut débit pour rechercher les autres mutations possibles pouvant entraîner une polyglobulie de Vaquez (détaillé dans la partie B1 et figure 18).

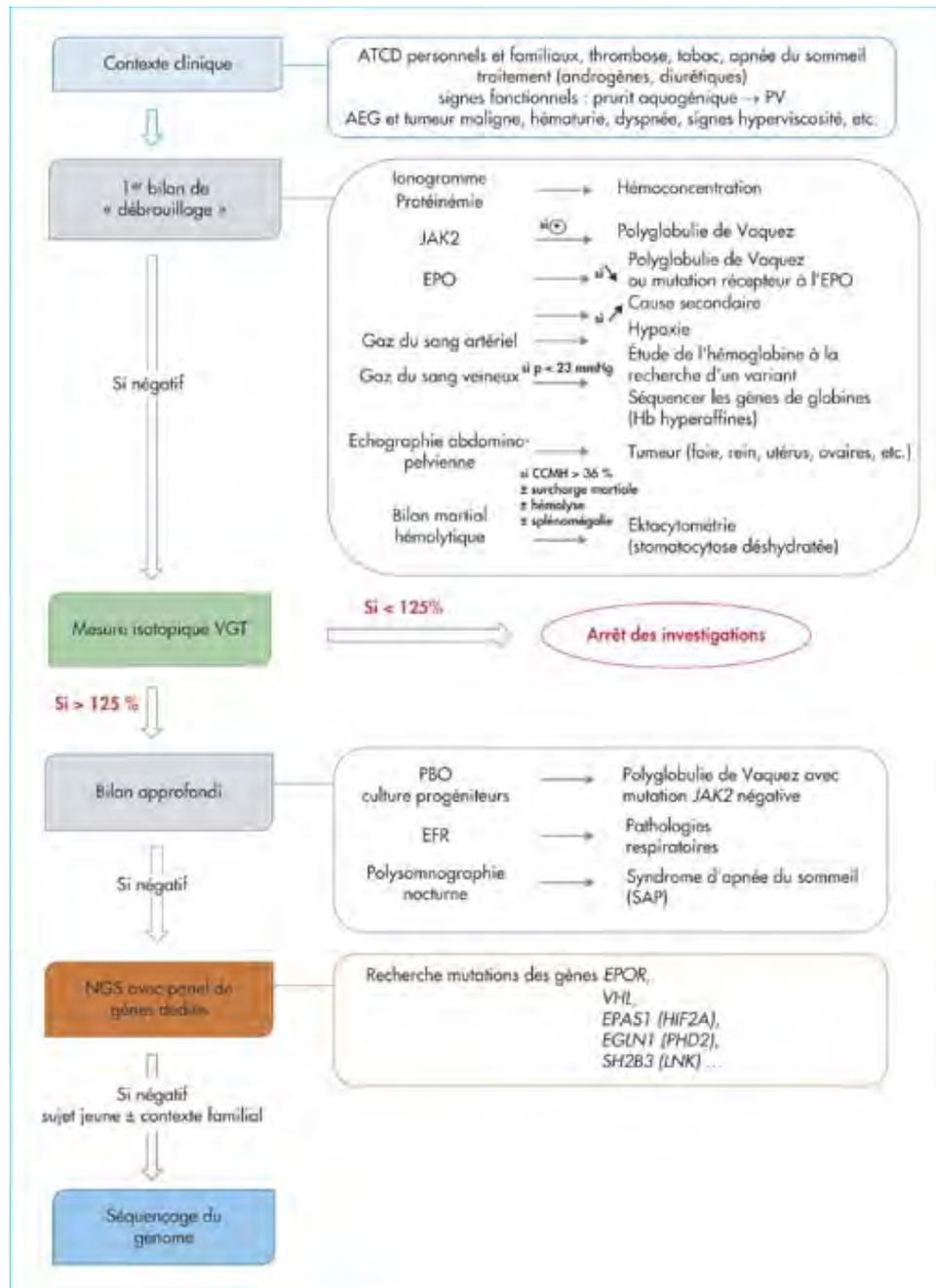


Figure 18 : Arbre décisionnel de 2022 des polyglobulies héréditaires et idiopathiques.(61)

C.4. La masse sanguine

Il s'agit d'un examen permettant de radio-marquer les globules rouges d'un prélèvement à l'aide d'un radio-isotope, le ^{99m}Tc (anciennement le ^{51}Cr), de les réintroduire dans le système circulatoire du patient, puis de re-prélever un échantillon sanguin afin de mesurer le volume globulaire total. Les globules rouges réinjectés sont dilués dans la circulation sanguine, donc la mesure radioactive des prélèvements permet de calculer le volume dans lequel les globules rouges ont été dilués, ce qui correspond au volume globulaire total. Un VGT supérieur à 125 % de la valeur théorique, calculée à partir du sexe, du poids et de la taille du

patient, permet de conclure à une polyglobulie de Vaquez. Les calculs du VGT et du volume sanguin total (VST) sont réalisés à partir des comptages et pesées des dilutions isotopiques. Dans notre CHU, le volume plasmatique (VP) quant à lui sera calculé par soustraction du VGT au VST.

En revanche, il est possible de calculer le VP grâce à l'albumine par marquage isotopique à l'iode 125 comme cela se fait dans d'autres CHU. Avant l'injection de l'albumine marquée, il est essentiel de bloquer la captation thyroïdienne en administrant de l'iodure de potassium pour éviter une irradiation inutile de la glande thyroïde. Une fois l'albumine marquée injectée dans la circulation sanguine, on attend un certain temps pour permettre une répartition homogène dans le volume plasmatique. La mesure du volume plasmatique s'effectue en quantifiant les émissions radioactives de l'iode 125. En cas de passage anormalement élevé d'albumine dans le secteur extracellulaire, des techniques telles que l'échantillonnage séquentiel multiple avec régression linéaire sont utilisées pour estimer et corriger ces anomalies.

Cet examen ainsi que les calculs associés seront développés dans la dernière partie.

C.5. La biopsie ostéo-médullaire

La polyglobulie primaire est un trouble dont le diagnostic ne peut généralement pas être établi par une ponction de la moelle osseuse. Lorsque cette procédure est effectuée, l'examen de la moelle osseuse révèle souvent des caractéristiques typiques telles qu'une augmentation de la production de cellules sanguines de tous types (panmyélose), de grands mégacaryocytes regroupés, et parfois une augmentation des fibres de réticuline. Il s'agit d'un des critères majeurs pour déterminer une polyglobulie de Vaquez.

Cependant, il est important de noter que ces observations ne permettent pas de distinguer de manière certaine la polyglobulie primaire d'autres affections caractérisées par une érythrocytose excessive, telles que la polyglobulie familiale congénitale, ou d'autres maladies myéloprolifératives, parmi lesquelles la polyglobulie primaire est la plus fréquente. Par conséquent, le diagnostic de la polyglobulie primaire repose souvent sur une combinaison de critères cliniques, biologiques et histopathologiques, ainsi que sur l'exclusion d'autres causes possibles d'érythrocytose excessive.(59)

C.6. Les critères de l'OMS

Les critères diagnostiques de la polyglobulie de Vaquez n'ont cessés d'évoluer au fur et à mesure depuis sa découverte en 1892. En effet, les améliorations des techniques de biologie, puis l'arrivée de la PCR et enfin le séquençage de l'ADN amène de nouvelles connaissances sur la maladie(62). Les critères de PV ont été classés et définis en 1967 par le Groupe d'Étude

de la Polyglobulie Vraie (PVSG)(38), améliorés en 1996 par Pearson puis de nos jours par l'OMS en 2001, 2008 et 2016 (Figure 19 et Annexe 1).

Le changement important s'effectue en 2005 avec la découverte de la mutation de l'exon 14 de JAK2 V617F ce qui conduira à la modification de 2008 par l'OMS avec le rajout de la biopsie ostéomédullaire(63). Retrouvée chez 95 % des patients, cette mutation va devenir un des critères majeurs de diagnostic.

En 1996 pour Pearson, le diagnostic de PV nécessite 3 critères majeurs ou 2 majeurs et 2 mineurs, même chose en 2001. En 2008, il faut 2 critères majeurs et 1 mineur ou le 1^{er} critère majeur et 2 critères mineurs.

	Critères du PVSG modifiés par Pearson en 1996	Critères de l'OMS en 2001	Critères de l'OMS en 2008
Critères majeurs	1- Ht > 60% chez l'homme, Ht > 56% chez la femme ou VGT > 25% de la valeur théorique 2- Pas de cause de polyglobulie secondaire 3- Splénomégalie clinique 4- Marqueur de clonalité	1- Hb > 18,5 g/dL chez l'homme, Hb > 16,5 g/dL chez la femme ou VGT > 25% de la valeur théorique 2- Pas de cause de polyglobulie secondaire 3- Splénomégalie clinique 4- Anomalie cytogénétique clonale (sauf chromosome Phi) 5- Pousse spontanée de colonies érythroblastiques en culture	1- Hb > 18,5 g/dL chez les hommes/Hb > 16,5 g/dL chez les femmes ou VGT > 25% de la valeur théorique 2- Présence de JAK2 V617F ou d'une autre mutation fonctionnellement similaire telle que la mutation JAK2 exon 12
Critères mineurs	1- Thrombocytose > 400 G/L 2- Hyperleucocytose à PNN > 10 G/L 3- Splénomégalie radiologique 4- Pousse spontanée de colonies érythroblastiques en culture ou EPO sérique basse	1- Thrombocytose > 400 G/L 2- Hyperleucocytose > 12 G/L 3- Panmyélose avec prolifération érythroïde et mégacaryocytaire à la biopsie médullaire 4- EPO sérique basse	1- Biopsie de la moelle osseuse montrant une hypercellularité en fonction de l'âge avec une croissance des trois lignées (panmyélose) et une prolifération érythroïde, granulocytaire et mégacaryocytaire importante

			2- Taux sérique d'EPO inférieur à la normale 3- Formation de colonies érythroïdes endogènes in vitro
Critères requis pour le diagnostic	- 3 critères majeurs - 2 critères majeurs et 2 mineurs	- 3 critères majeurs - 2 critères majeurs et 2 mineurs	- 2 critères majeurs et 1 mineur - Le 1 ^{er} critère majeur et 2 mineurs

Figure 19 : Evolution des critères diagnostiques entre 1996 et 2008.

Les critères diagnostiques de la PV ont été modifiés en 2016 (Figure 20), avec une réduction des seuils d'hémoglobine et d'hématocrite requis pour le diagnostic (16,5 g/dL d'hémoglobine et 49 % d'hématocrite chez les hommes, 16,0 g/dL d'hémoglobine et 48 % d'hématocrite chez les femmes). Cette révision a été motivée par la découverte d'une condition appelée "PV masquée". Dans le cadre d'une étude, parmi 397 patients présentant une morphologie de la moelle osseuse conforme aux critères de l'OMS de 2008, des cas avec un taux d'hémoglobine inférieur à 18,5 g/dL chez les hommes (dans une plage de 16,0 à 18,4) et inférieur à 16,5 g/dL chez les femmes (dans une plage de 15,0 à 16,4) ont été inclus et considérés comme ayant une "PV masquée". Cette étude a révélé que 140 patients (soit 35 %) présentaient une PV masquée, mais seulement 59 patients (soit 15 %) répondaient aux critères de l'OMS de 2008(64). En d'autres termes, en abaissant les seuils, on a identifié un groupe de patients présentant des caractéristiques de la polyglobulie essentielle, mais qui n'auraient pas été diagnostiqués selon les anciens critères.

En outre, la révision des critères a entraîné le retrait d'un test coûteux qui évaluait la formation endogène de colonies érythroïdes in vitro. Cette méthode n'était disponible que dans un nombre limité de laboratoires de recherche et n'était plus jugée nécessaire pour le diagnostic de la polyglobulie essentielle selon les nouveaux critères.

Dorénavant, pour caractériser une PV, on retrouve comme critères majeurs et mineurs(32) :

Majeurs :

- Hémoglobine > 16,5 g/dL pour les hommes, > 16,0 g/dL pour les femmes ou Hématocrite > 49% chez les hommes et > 48% chez les femmes ou une augmentation du VGT supérieure à 25 % de la valeur normale.
- Biopsie ostéomédullaire montrant une hypercellularité pour l'âge avec une croissance de trois lignées (panmyélose) comprenant une prolifération érythroïde, granulocytaire et mégacaryocytaire importante avec des mégacaryocytes pléomorphes et matures (différences de taille)
- Présence de mutation JAK2 ou JAK2 exon 12

Mineurs :

- Niveau d'érythropoïétine sérique inférieur à la normale

	Critères de l'OMS en 2008	Critères de l'OMS en 2016
Critères majeurs	<p>1- Hb > 18,5 g/dL chez les hommes/Hb > 16,5 g/dL chez les femmes ou VGT > 25% de la valeur théorique</p> <p>2- Présence de JAK2 V617F ou d'une autre mutation fonctionnellement similaire telle que la mutation JAK2 exon 12</p>	<p>1- Hb > 16,5 g/dL chez les hommes/Hb > 16,0 g/dL chez les femmes, ou Hct > 49 % chez les hommes/Hct > 48 % chez les femmes, ou VGT > 25% de la valeur théorique</p> <p>2- Biopsie de BM montrant une hypercellularité en fonction de l'âge avec une croissance des trois lignées (panmyélose), y compris une prolifération érythroïde, granulocytaire et mégacaryocytaire proéminente avec des mégacaryocytes pléomorphes, matures (différences de taille) ;</p> <p>3- Présence de mutation JAK2 V617F ou JAK2 exon 12</p>
Critères mineurs	<p>1- Biopsie de la moelle osseuse montrant une hypercellularité en fonction de l'âge avec une croissance des trois lignées (panmyélose) et une prolifération érythroïde, granulocytaire et mégacaryocytaire importante</p> <p>2- Taux sérique d'EPO inférieur à la normale</p> <p>3- Formation de colonies érythroïdes endogènes in vitro</p>	<p>- Taux sérique d'EPO inférieur à la normale</p>
Critères requis pour le diagnostic	<p>- 2 critères majeurs et 1 mineur</p> <p>- Le 1^{er} critère majeur et 2 mineurs</p>	<p>- Les 3 critères majeurs</p> <p>- 2 critères majeurs et le mineur</p>

Figure 20 : Comparaison des critères diagnostiques de l'OMS entre 2008 et 2016.(65)

D. Complications et évolutions de la polyglobulie de Vaquez

D.1 Les complications cliniques de la PV.

Les événements thromboemboliques (ET) représentent une complication significative des néoplasies myéloprolifératives. Les patients souffrant de NMP ont un risque accru d'événements thrombotiques par rapport à la population générale, ce qui ajoute une charge de morbidité et de mortalité supplémentaire à leurs affections sous-jacentes. Notamment, la PV présente un risque accru d'ET et de maladies cardiovasculaires par rapport à d'autres troubles myéloprolifératifs.

Une analyse rétrospective réalisée sur les données du registre suédois du cancer, qui a inclus 9 429 patients atteints de néoplasmes myéloprolifératifs (dont 3 001 avaient la PV) sur une période allant de 1987 à 2009, avec un suivi jusqu'en 2010, a révélé que 3 mois après le diagnostic, les patients atteints de PV avaient un risque environ 3 fois plus élevé de thrombose artérielle et un risque environ 13 fois plus élevé de thrombose veineuse par rapport à des témoins appariés pour l'âge et le sexe(66). Les patients atteints de PV sont exposés à un risque significativement accru de développer des ET.

Selon des études observationnelles récentes(67) (68), les patients atteints de PV sont susceptibles de présenter différents types d'événements thrombotiques, à la fois artériels et veineux.

Les thromboses artérielles sont responsables de la majorité des événements cardiovasculaires chez les patients atteints de PV, représentant environ 60 à 70 % de ces événements. Cela inclut une variété de conditions telles que l'accident ischémique transitoire (AIT), l'accident vasculaire cérébral (AVC), l'infarctus aigu du myocarde (crise cardiaque) et l'occlusion artérielle périphérique, tous liés à l'obstruction des artères par des caillots sanguins dans le contexte de la PV(69).

Les thromboses veineuses chez les patients atteints de PV peuvent se manifester de plusieurs manières : cela peut inclure des thromboses veineuses profondes (formation de caillots dans les veines profondes des membres inférieurs notamment), des embolies pulmonaires (obstruction des artères pulmonaires par des caillots sanguins), ainsi que des thromboses veineuses dans des sites inhabituels. Ces sites inhabituels peuvent comprendre des thromboses de la veine splanchnique (obstruction des veines de la région abdominale : veine porte, mésentérique, splénique et hépatiques (syndrome de Budd-Chiari)), la thrombose veineuse superficielle (caillots dans les veines superficielles) ou du sinus sagittal supérieur (dans le cerveau).

D.2 L'évolution de la PV

La PV peut naturellement évoluer vers d'autres NMP au bout de plusieurs années (dans les 10 ans ou plus) : une myélofibrose ou une leucémie aiguë myéloblastique (LAM)(69).

Lors d'une étude en 2013, sur 1545 patients présentant une PV, il y a eu une évolution de 138 patients (soit 9%) vers une myélofibrose et 50 patients (soit 3%) vers une LAM(70).

La myélofibrose sera alors qualifiée de myélofibrose post-PV et survient quelques années après la PV. Le tableau clinique de la myélofibrose post-PV peut ressembler à celui de la myélofibrose primitive. Les patients atteints présentent souvent une anémie progressive, une pancytopénie (diminution de toutes les lignées cellulaires sanguines, y compris les globules rouges, les globules blancs et les plaquettes) et une splénomégalie massive. La fibrose médullaire observée peut créer un environnement peu propice à l'hématopoïèse normale, ce qui peut progressivement conduire à une insuffisance médullaire avec une anémie. En réponse à cette insuffisance médullaire, l'organisme peut développer une hématopoïèse extra-médullaire, c'est-à-dire la formation de cellules sanguines en dehors de la moelle osseuse. Cela se produit souvent au niveau de la rate et du foie, où ces organes peuvent prendre en charge partiellement la production de cellules sanguines.

Une étude de 2008(71) et une autre de 2015(72) ont observé que pour l'évolution de la PV en myélofibrose, on retrouve des facteurs prédictifs : la mutation homozygote JAK2 V617F, un taux sérique élevé de la lactate déshydrogénase faisait parti des critères de diagnostic d'une myélofibrose primaire ou encore la leucocytose.

La LAM est souvent précédée d'une phase d'infiltration blastique partielle et de myélodysplasie avec pancytopénie. La transformation en LAM se caractérise par la présence de 20 % ou plus de blastes dans la moelle osseuse. Cette évolution vers la LAM peut être considérée comme une progression naturelle de la maladie, mais elle est fortement favorisée par certains facteurs tels que les traitements cytotoxiques, les agents mutagènes et les agents alkylants. Les mécanismes exacts de cette transformation ne sont pas encore complètement compris. Cependant, des recherches ont montré que cette évolution vers la LAM est multifactorielle et certains traitements médicaux ont des effets inducteurs. Elle est malheureusement de mauvais pronostic car il s'agit de la première cause de décès, survient chez 5 à 10 % des patients avec une survie médiane entre 3 et 6 mois. Parmi les LAM, on peut retrouver des cas plus rares : la leucémie érythroïde pure (PEL)(73) et la leucémie aiguë promyélocytaire (APL)(74). Ce sont des sous-forme de LAM, l'APL arrête la différenciation des leucocytes au stade promyélocytaire et est de bon pronostic(75) alors que la PEL induit la prolifération de blastes de la lignée érythroïde sans composante myéloblastique(76) et est de mauvais pronostic.

Devant les différentes formes de PV et ses complications, il est important de sélectionner un traitement optimal afin de limiter les risques de complications, contrôler la maladie et son évolution. C'est ce que nous allons aborder dans la partie suivante.

III. Les traitements de la maladie de Vaquez et la prise en charge officinale

La prise en charge des polyglobulies, y compris la polyglobulie de Vaquez, vise à normaliser la production de globules rouges et à prévenir les complications associées à une viscosité sanguine accrue. L'objectif est donc de soulager les symptômes du patient et de prolonger la survie en prévenant les risques de thrombose, de splénomégalie et de transformation leucémique. Les options thérapeutiques varient en fonction du type de polyglobulie et des caractéristiques individuelles du patient mais nous allons retrouver plusieurs lignes de traitements en fonction du patient (Figure 21). Il n'existe pas encore de traitement curatif à cette maladie rare dont on ne connaît pas encore tous les mécanismes, on aura donc des traitements symptomatiques voir préventifs des effets de celle-ci.

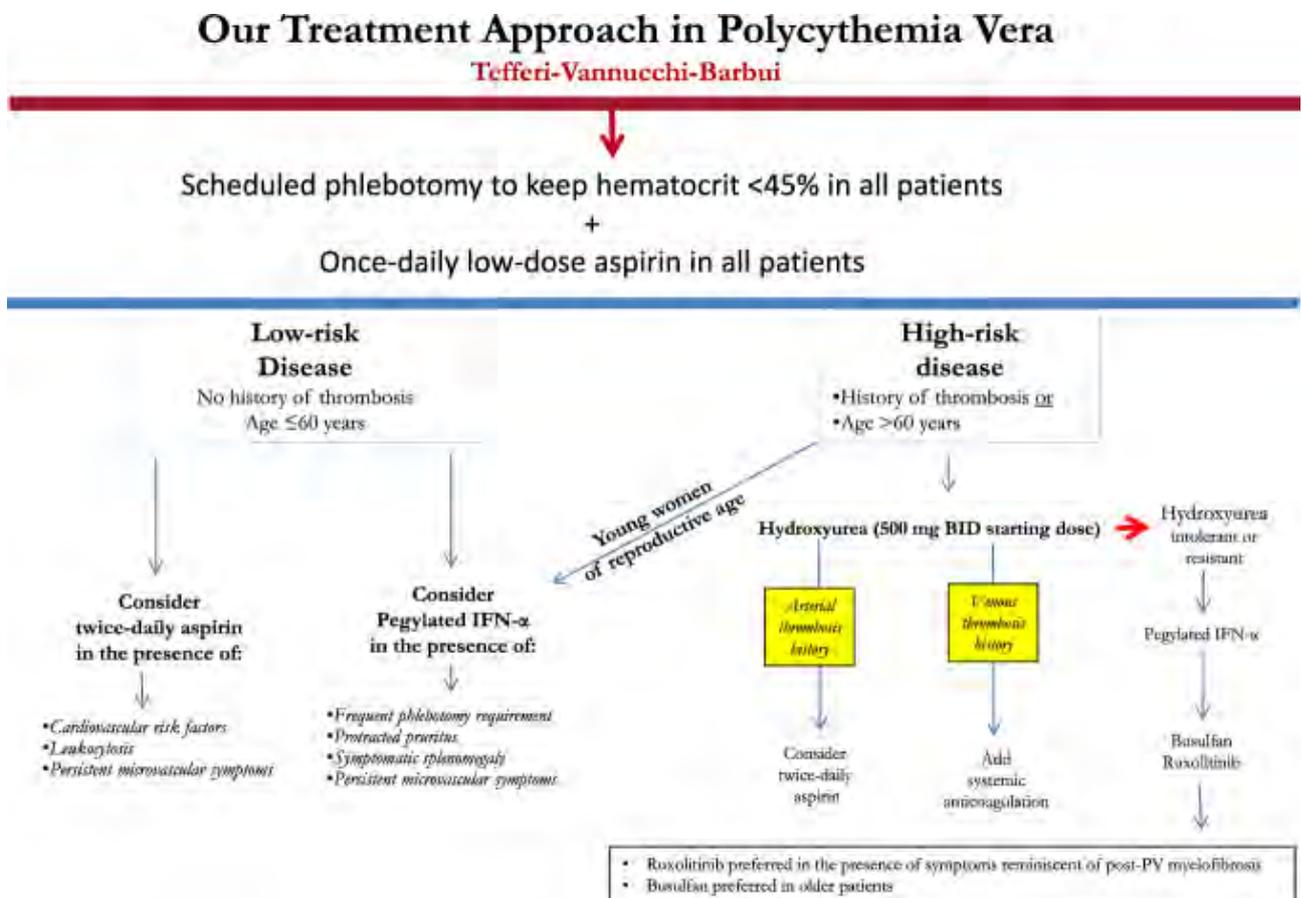


Figure 21 : l’algorithme du traitement de la PV adapté au risque par Tefferi-Vannucchi-Barbui publié au journal américain d’hématologie en 2023.(77)

A. Les traitements de première intention

A.1. La phlébotomie ou saignée

Il s'agit du traitement le plus ancien et le plus utilisé. Utilisée depuis des siècles par des grands noms de la médecine comme Hippocrate ou Galien et plusieurs civilisations, notamment les grecs, les arabes et les romains, elle a connu des utilisations intensives avant d'être limitée en raison de son utilisation abusive et de n'être indiquée que dans 4 cas : la polyglobulie de Vaquez, la drépanocytose, la porphyrie cutanée et les hémochromatoses(78) (79).

Dans la polyglobulie de Vaquez, l'objectif de la saignée est de faire diminuer l'hématocrite du patient sous le seuil de 45 % afin de diminuer le risque de survenue d'un événement thrombotique. Le risque thrombotique a été caractérisé en 1856, par le médecin Rudolph Virchow, par 3 facteurs favorisant la formation du caillot sanguin, aussi nommé la triade de Virchow (Figure 22) : l'altération de la paroi vasculaire, la stase sanguine et l'hypercoagulabilité.

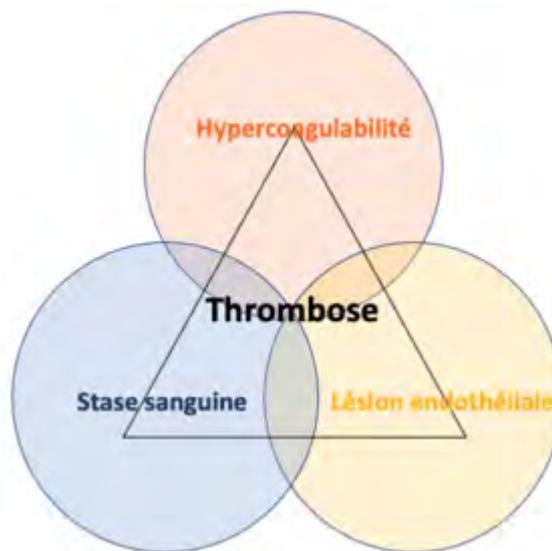


Figure 22 : la triade de Virchow.(80)

La saignée permet donc de diminuer rapidement la masse des globules rouges (donc l'Ht) ce qui conduit à une diminution de la viscosité sanguine(81). L'objectif de l'hématocrite < 45 % indiqué dans les recommandations n'avait pas été testé dans un essai clinique randomisé mais une étude de 2013 a démontré que chez les patients atteints de PV, ceux dont l'Ht était < 45 % présentaient un risque de décès cardiovasculaire et de thrombose majeure significativement plus faible que le groupe (4,4 % contre 10,9%) dont l'objectif d'Ht était entre 45 et 50 %(82).

Dans un premier temps, les saignées visent à stabiliser la maladie. Bien qu'elles ne constituent pas un traitement de fond, elles sont souvent recommandées en cas d'urgence en réponse à une aggravation des symptômes cliniques et constituent parfois pendant des années le seul traitement possible du patient.

Il s'agit d'un prélèvement de sang d'un volume de 300 à 450mL en fonction du poids et de la taille de la personne, comme un don du sang. Au départ, 2 à 3 fois par semaine puis en fonction du bilan sanguin on ajustera à une fois toutes les 4 à 8 semaines(83) afin de rétablir une hémocrite < 45 %. En cas de pathologie cardiaque du patient, il faudra faire une compensation isovolémique, avec une perfusion de Glucose 5 % ou de NaCl 0,9 %, lors de la saignée afin d'éviter une décompensation. Il faut contrôler le taux de fer avec notamment la ferritine car il y a très souvent une asthénie suivant la saignée et une thrombocytose réactive avec anémie par carence martiale (déficit en fer). Cette carence produira une érythrose hypochrome (diminution du taux d'hémoglobine dans les globules rouges leur donnant une coloration plus claire) et microcytaire (globules rouges plus petits) mais elle ne sera pas supplémentée pour éviter la formation de nouveaux globules rouges ou alors de manière fine et précise avec des doses très faibles. En cas de thrombocytose (> 1000 G/L), on administrera de l'aspirine à faible dose et en cas de résistance, un traitement cytoréducteur.

A.2. L'aspirine



L'aspirine est un antiagrégant plaquettaire recommandé à faible dose (80 à 325mg/jour)(84) en prévention primaire chez tous les patients atteints de la PV. On retrouve les spécialités comme Aspirine Protect®, Kardegic®, Résitune®. Agissant en tant qu'inhibiteur irréversible de la cyclooxygénase 1 (COX 1), elle permet d'éviter la transformation de l'acide arachidonique en prostaglandines et thromboxanes (permettant l'activation plaquettaire) en se liant au site catalytique (Figure 23).

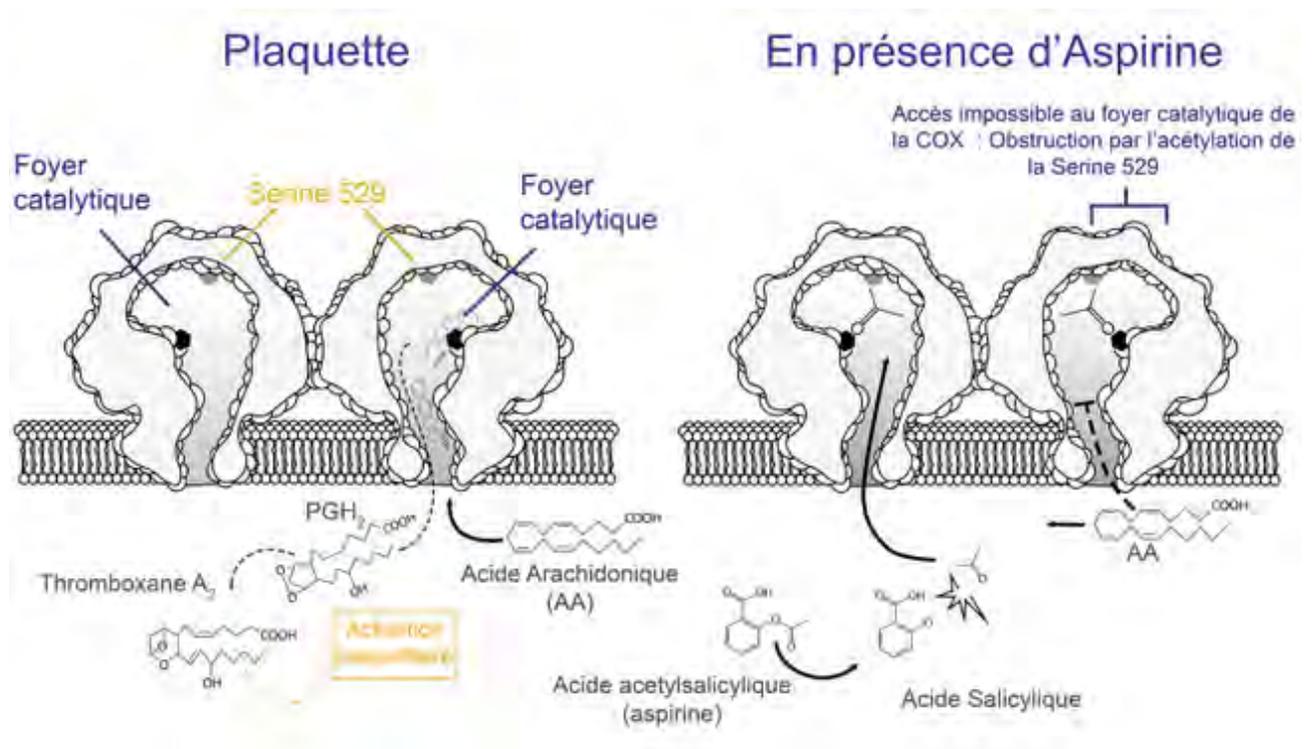


Figure 23 : Action de l'aspirine sur la COX.(85)

En raison du risque plus élevé d'ET chez ces patients, son utilisation semble toute indiquée. Cependant, chez les patients asymptomatiques de moins de 60 ans, sans facteurs de risque cardiovasculaire et chez les patients de plus de 60 ans présentant un risque hémorragique (complications hémorragiques gastro-intestinales supérieures), l'aspirine ne sera pas utilisée(81) (86). Une autre étude chez des patients ET à faible risque (<60 ans, sans thrombose ni cytoréduction) a montré une incidence similaire de thrombose avec ou sans aspirine(86).

Une étude de l'ECLAP (European Collaboration on Low-Dose Aspirin in Polycythemia Vera) a évalué l'efficacité de l'aspirine à faible dose (100 mg par jour) par rapport à un placebo dans un contexte de PV. Après une période de suivi de 3 ans, les résultats de l'étude ont été significatifs et ont montré que l'utilisation de l'aspirine à faible dose a entraîné une réduction du risque combiné d'infarctus du myocarde (IDM), d'AVC, d'autres événements cardio-thrombotiques et de décès dus à des accidents vasculaires. De plus, l'étude a montré que la prise multiple (2x par jour) d'aspirine dans la journée a une meilleure efficacité sur la diminution sérique de thromboxane A₂, sur les symptômes microvasculaires et l'étude n'a pas montré d'augmentation significative des épisodes hémorragiques(84). Pour les patients à haut risque ayant un antécédent d'ET artériel, une double anti-agrégation plaquettaire sera mise en place et pour ceux ayant un antécédent d'ET veineux, l'aspirine sera combinée à un anticoagulant.

Chez la femme enceinte, l'aspirine est un traitement de première intention et est recommandée en raison des risques de perte fœtale précoce, d'accouchement prématuré et d'autres complications. Cependant, une surveillance de l'hématocrite peut suffire car lors de la grossesse, le volume sanguin augmente et l'hématocrite diminue. En cas de résistance à l'aspirine ou chez des patientes à haut risque, un traitement cytoréducteur par IFN-alpha pégylé est recommandé.(84)

En conséquence, l'aspirine à faible dose est généralement considérée comme le traitement standard chez tous les patients atteints de la maladie de Vaquez qui ne présentent pas de contre-indications spécifiques à ce médicament. En cas de contre-indication, de résistance au traitement, de risques élevés ou de prolifération de lignée cellulaire, un traitement cytoréducteur sera mis en place.

B. Les traitements cytoréducteurs

Il existe actuellement un large consensus entre l'European LeukemiaNET (ELN) et l'International Working Group-Myeloproliferative Neoplasms Research and Treatment (IWG-MRT) concernant la nécessité d'un traitement cytoréducteur chez les patients à haut risque atteints de PV, en plus de la phlébotomie et du traitement à l'aspirine(87). Il existe également un consensus général sur les médicaments qui ne devraient pas être utilisés à cet égard (par exemple, le chlorambucil(88), le Phosphore 32(89), Le pipobroman(90)) en raison de leur potentiel leucémogène et/ou cancérigène déjà bien démontré. Nous ne les aborderons donc pas dans ce travail.

Comme leur nom l'indique, ce sont des traitements qui vont venir réduire la production des cellules sanguines dans la moelle osseuse. Ils interviennent en deuxième ligne de traitement pour des patients ayant un fort risque de complications thrombotiques, une résistance à l'aspirine, une myéloprolifération progressive ou des symptômes persistants.

B.1. L'Hydroxyurée ou Hydroxycarbamide (HYDREA®, SIKLOS®)



C'est le médicament cytoréducteur le plus utilisé dans la maladie de Vaquez. C'est un anticancéreux classé dans les antinéoplasiques cytostatiques actifs sur l'ADN dont le mécanisme d'action n'est pas complètement connu. Il inhibe la synthèse d'ADN en bloquant la ribonucléase réductase qui permet la réduction des ribonucléotides (ARN) en désoxyribonucléotides (ADN) et bloque ainsi le cycle de division cellulaire lors de la phase S, phase de copie de l'ADN cellulaire et étape limitante du cycle (Figure 24). Il agit principalement dans la moelle osseuse sur la granulopoïèse, puis sur la thrombocytopoïèse et en dernier lieu sur l'érythropoïèse. Il provoque ainsi une diminution du nombre de globules rouges et donc de l'hématocrite mais aussi des plaquettes et des leucocytes.

Une étude de la base de données ECLAP sur 1042 atteints de PV, l'hydroxyurée a démontré son avantage par rapport à la phlébotomie seule, notamment en terme de protection contre les événements cardiovasculaires et la transformation fibrotique(91). Les études rétrospectives sur l'ET et la PV n'ont pas démontré que l'hydroxyurée amplifiait la transformation leucémique(92) (93).

A l'initiation, la dose initiale est de 500mg deux fois par jour(84). La posologie recommandée pour la polyglobulie de Vaquez est de 15 à 20 mg/kg/24h en une seule prise(94), avec un objectif d'hématocrite < 45 % et un taux de plaquettes < 400 G/L atteignable par la plupart des patients avec une dose moyenne journalière de 500 à 1000mg.

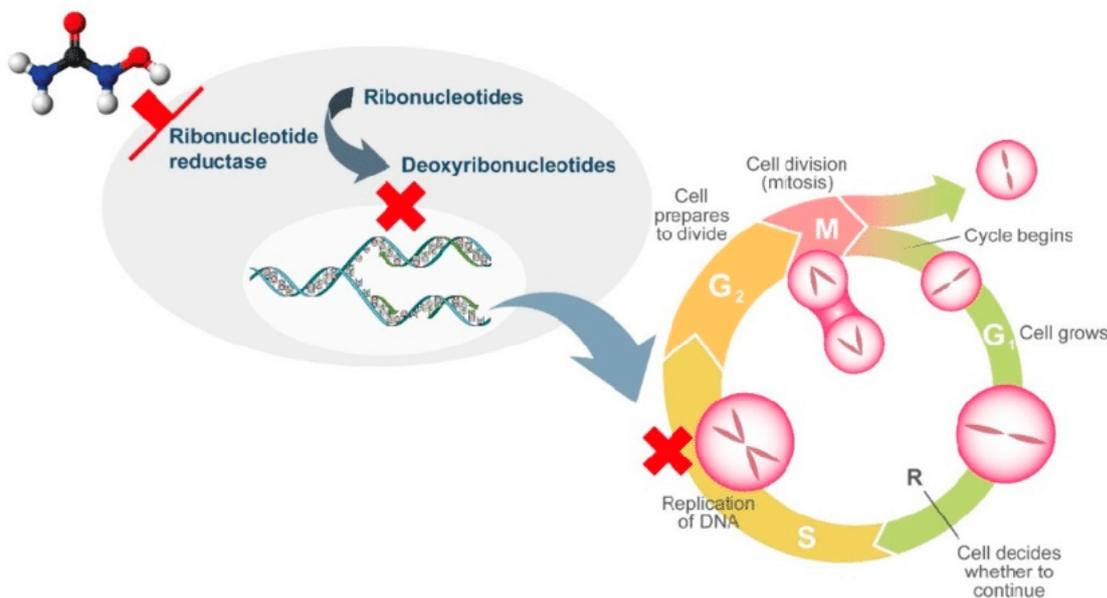


Figure 24 : Schéma d'action de l'hydroxyurée.(95)

Bien que ce soit un traitement bien toléré dans l'ensemble, l'hydroxyurée va comprendre une multitude d'effets indésirables(94) :

- Affection des organes de reproduction (oligo/azoospermie en générale réversible) et du sein. Il est tératogène donc formellement contre-indiqué chez la femme enceinte ou

allaitante, un test de grossesse sera effectué systématiquement chez les femmes en âge de procréer.

- Affection hématologiques et lymphatiques : dépression médullaire, leucopénie, thrombocytopénie, anémie, lymphopénie.
- Affections cutanées : alopecie, rashes, kératites, dermites, ulcères sur les membres supérieurs et inférieurs en général, apparition de cancers cutanés.
- Troubles du métabolisme et hépato-gastro-intestinaux : anorexie, hépatotoxicité, diarrhées, vomissements...
- Troubles neurologiques : hallucination, désorientation, convulsions, vertiges, céphalées...
- Troubles rénaux : dysurie, augmentation de la créatininémie, de l'urémie et l'uricémie.
- Troubles généraux : fièvre, asthénie, malaises.

15 à 24 % des patients (le pourcentage varie en fonction des études) présentent une intolérance ou une résistance à l'hydroxyurée. Cette résistance entraîne une réduction de l'espérance de vie du patient mais dans le cadre de l'intolérance, l'espérance de vie du patient n'est pas modifiée. L'European Leukemia Net (ELN) a effectué une classification des critères de résistance/intolérance à l'hydroxyurée (Figure 25) afin de détecter plus rapidement ses patients résistants et réduire les risques de complications pour les patients. Il suffit d'un seul de ces critères pour que le patient soit déclaré résistant/intolérant à l'hydroxyurée. L'ELN confirme l'espérance de vie raccourcie en cas de résistance à l'hydroxyurée en plus d'observer un taux plus élevé de transformation en LAM.

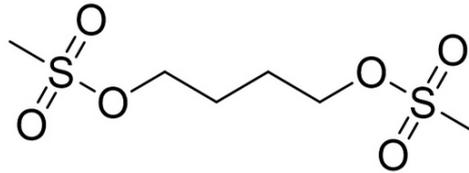
1. Nécessité d'une saignée pour maintenir l'hématocrite <45 % après 3 mois à la posologie minimale de 2 g/jour d'hydroxyurée
2. Myéloprolifération incontrôlée, c'est-à-dire une numération plaquettaire > 400 × 10 ⁹ /L et un nombre de globules blancs >10 × 10 ⁹ /L après 3 mois à la posologie minimale de 2 g/jour d'hydroxyurée
3. Incapacité à réduire la splénomégalie massive de plus de 50 % telle que mesurée à la palpation, OU échec à soulager complètement les symptômes liés à la splénomégalie, après 3 mois à la posologie minimale de 2 g/jour d'hydroxyurée
4. Nombre absolu de neutrophiles <1,0 × 10 ⁹ /L, nombre de plaquettes <100 × 10 ⁹ /L ou hémoglobine < 10,0 g/dL à la dose la plus faible d'hydroxyurée nécessaire pour obtenir une réponse clinico-hématologique complète ou partielle
5. Présence d'ulcères de jambe ou autres toxicités non hématologiques inacceptables liées à l'hydroxyurée, telles que des manifestations cutané-muqueuses, des symptômes gastro-intestinaux, une pneumonie ou de la fièvre, quelle que soit la dose d'hydroxycarbamide

Figure 25 : Critères de résistance/intolérance à l'hydroxyurée par l'ELN.(96)

D'après une étude récente, la résistance à l'hydroxyurée trouverait une explication dans la génétique. La probabilité de développer une résistance à l'hydroxyurée après 5 ans de traitement était de 64 % chez les patients présentant une perturbation/aneuploïdie de TP53 , 49 % présentant des aberrations d'épissage ou de chromatine, 27 % présentant une mutation homozygote JAK2 et 14,5 % présentant une mutation hétérozygote JAK2(97).

L'hydroxyurée est un traitement efficace et bien toléré pour la plupart des patients mais certains vont présenter soit à l'introduction, soit des années après une résistance/intolérance au traitement. Pour ces patients, il va falloir effectuer une modification du traitement permettant de contrôler la maladie.

B.2 Le busulfan (MYLERA®)



Il s'agit d'un agent alkylant agissant sur l'ADN en se fixant sur celui-ci et inhibe la transcription de celui-ci. Il engendrerait la formation de pontages (liaisons covalentes) entre les brins bien que ce mécanisme n'ait pas été clairement démontré(98). Il va entraîner une myélosuppression provoquant une diminution des lignées cellulaires, notamment celle des globules rouges dans la maladie de Vaquez.

La posologie de départ est de 2 à 4 mg/jour, soit 1 à 2 comprimés, et un contrôle strict du bilan sanguin est effectué afin de voir s'il n'y a pas une leucopénie ou une thrombopénie. En entretien, la dose recommandée est de 2 mg/jour mais peut être comprise entre 0,5 et 2 mg/jour en fonction des patients et de la réponse attendue(84). Son efficacité a été évalué dans 2 études et la réponse hématologique complète a été observée chez 83 % des patients(99) et dans l'autre chez 75 % des patients(100).

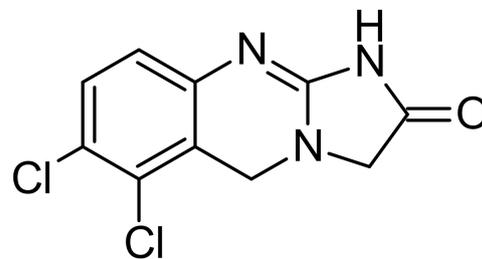
Parmi les effets indésirables retrouvés dans les études et les plus fréquents(98), on a :

- Effet leucémogène avec apparition de LAM
- Troubles hématologiques : insuffisance médullaire, thrombopénie, leucopénie, agranulocytose...

- Troubles hépto-gastro-intestinaux : diarrhées, vomissements ; ulcérations, ictère, fibrose voir nécrose hépatique...
- Atteinte des organes de reproduction : Stérilité, azoospermie, insuffisance ovarienne... en raison de ces effets teratogènes, il est contre-indiqué en cas de grossesse ou d'allaitement.
- Affectations cutanées : alopecie, hyperpigmentation.

Malgré cela, il s'agit d'un traitement efficace comme le démontre les études de 2014(99) (83 % de réponse hématologique complète) et 2015(100) en cas d'intolérance ou de résistance à l'hydroxyurée et est préférentiellement utilisé pour les personnes âgées.

B.3. L'anagrélide (XAGRID®)



L'anagrélide est un inhibiteur de la maturation et différenciation des mégacaryocytes qui engendrent les plaquettes et un inhibiteur de l'AMP (adénosine monophosphate) cyclique phosphodiesterase III. On a un effet anti-thrombotique dont le mécanisme précis n'est pas connu mais étant donné qu'il inhibe la production de mégacaryocytes, on a moins de plaquettes et donc moins de risques thrombotiques. Les études sur culture cellulaire ont montré que l'anagrélide supprimait l'expression des facteurs de transcriptions dont GATA-1 et FOG-1 nécessaires à la mégacaryocytopoïèse (Figure 26).

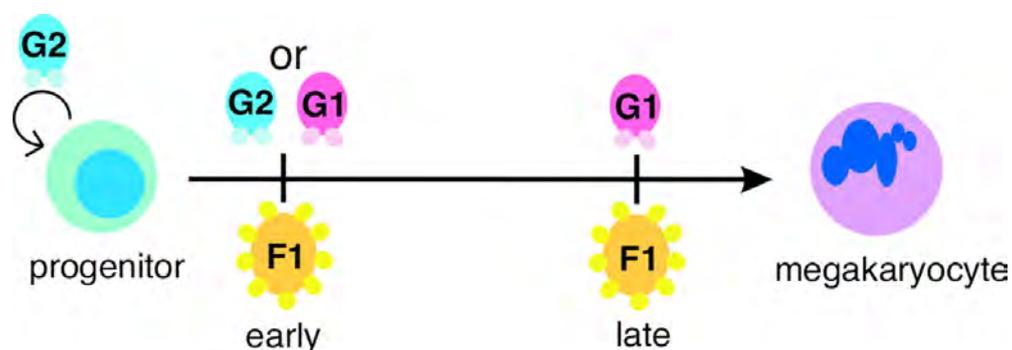


Figure 26 : Interaction des facteurs FOG-1 et GATA-1 dans le développement des mégacaryocytes.(101)

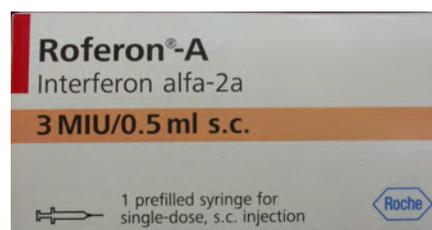
Sur la figure ci-dessus, G1 correspond à GATA-1, G2 à GATA-2 et F1 à FOG-1. On observe qu'au début du cycle, l'anagrélide aura pour effet de supprimer les facteurs de transcription G1 et F1 et donc la différenciation du progéniteur puis plus loin dans le cycle, même effet pour la maturation du mégacaryocyte.

Il est indiqué dans la thrombocytopénie essentielle et pour les situations de thromboses importantes n'étant pas régulées par le traitement habituel de la personne. La posologie initiale recommandée est de 1 mg/jour en deux prises (soit 0,5 mg/dose) et doit être maintenue pendant 1 semaine. Après une semaine, la posologie peut être adaptée au cas par cas mais l'augmentation de posologie se fera par 0,5 mg/jour sur la période d'une semaine mais ne devra pas excéder 2,5mg/jour car on entre dans le surdosage avec des effets cardiaques (augmentation de la fréquence et allongement du QT). Durant les essais cliniques, des doses allant jusqu'à 10 mg/jour ont été utilisées(102).

Une surveillance particulière est à appliquer durant l'initiation avec une NFS tous les 2 jours durant la 1ère semaine d'initiation puis 1 fois par semaine afin d'éviter la thrombopénie. La diminution des plaquettes sera observée entre 14 et 21 jours après l'instauration du traitement et la réponse thérapeutique chez la plupart des patients est obtenue avec une posologie entre 1 et 3 mg/jour. Les patients atteints d'insuffisance hépatique ou rénale modérée ou sévère sont contre indiqués à l'utilisation de l'anagrélide.

Les effets indésirables retrouvés sont des céphalées, des vertiges, des anémies, des rétentions d'eau, des tachycardies, des troubles gastro-intestinaux, des éruptions cutanées et des asthénies.

B.4 L'interféron alpha (IFN- α) (INTRONA®, ROFERON®, VIRAFERON®)



Les interférons sont une famille de protéines essentielles pour le système immunitaire, jouant un rôle crucial dans la défense contre les infections virales, les tumeurs et d'autres menaces. On distingue principalement trois types d'interférons : l'IFN- α , l'IFN- β et l'IFN- γ , chacun ayant des fonctions spécifiques au sein du système immunitaire. Ces protéines sont produites par différentes cellules, notamment les leucocytes, les fibroblastes, les cellules épithéliales, les lymphocytes T et les cellules NK.

Le mécanisme d'action des interférons repose sur leur liaison aux récepteurs de surface des cellules, déclenchant ainsi une cascade de signalisation intracellulaire. Cette activation induit la production de protéines antivirales et la régulation positive de gènes impliqués dans la

réponse immunitaire. Les fonctions principales des interférons comprennent la résistance antivirale, en limitant la réplication virale dans les cellules infectées, ainsi que l'activation des cellules tueuses, telles que les lymphocytes T cytotoxiques et les cellules NK, pour détruire les cellules infectées. De plus, ils jouent un rôle essentiel dans la modulation de la réponse immunitaire, participant à la régulation de l'activité des cellules immunitaires et à la gestion de l'inflammation. Ces réponses comprennent l'inhibition de la réplication virale dans les cellules infectées, la suppression de la prolifération cellulaire et des activités immunomodulatrices telles que l'amélioration de l'activité phagocytaire des macrophages et l'augmentation de la cytotoxicité spécifique des lymphocytes envers les cellules cibles (Figure 27).

Concernant l'interféron alfa-2a, il a été démontré qu'il partage de nombreuses caractéristiques avec l'interféron alfa naturel chez les humains. Il exerce son action antivirale en induisant une résistance cellulaire aux infections virales et en régulant les effecteurs du système immunitaire pour neutraliser les virus ou éliminer les cellules infectées par ces virus. Le mécanisme essentiel de l'activité antitumorale de l'interféron alfa-2a demeure encore inconnu. Cependant, des études ont révélé diverses modifications dans les cellules tumorales humaines exposées à cette substance. Par exemple, chez les cellules HT 29, une réduction significative de la synthèse de l'ADN, de l'ARN et des protéines a été observée. In vitro, l'interféron alfa-2a exerce une activité antiproliférative sur divers types de tumeurs humaines et inhibe la croissance de certaines tumeurs humaines greffées chez des souris dépourvues de système immunitaire(103). L'interféron possède ainsi des propriétés cytoréductrices intéressantes.

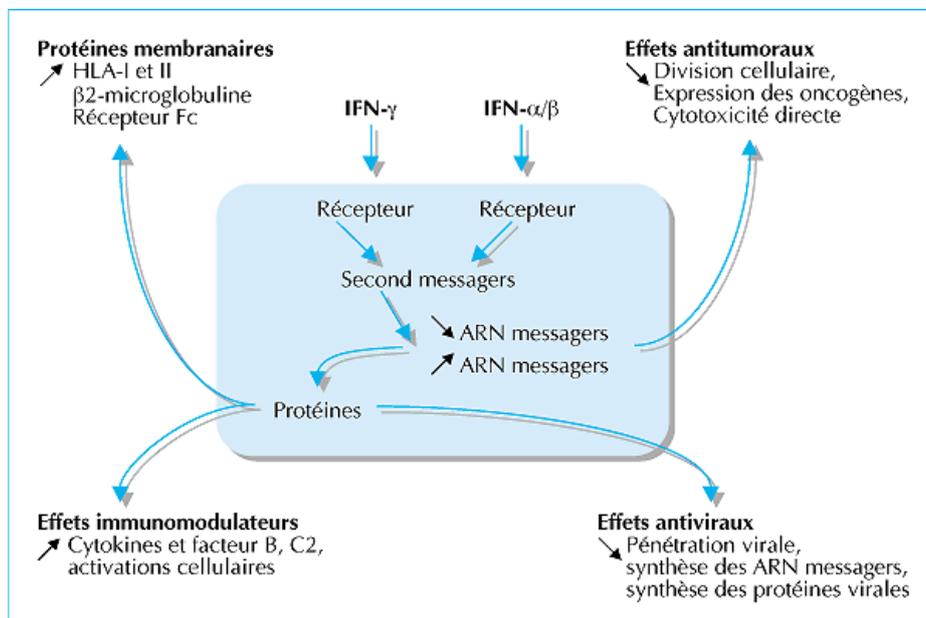


Figure 27 : Effets des interférons sur le système immunitaire.(104)

Ces spécialités sont composées de molécules recombinantes produites par génie génétique et se présentent sous forme de solutions injectables par voie sous cutanée. C'est un traitement utilisé en première intention depuis 1985 dans les MNP(105) ayant montré son

efficacité au travers d'études et ayant l'intérêt de ne pas être leucémogène contrairement aux traitements précédents(106). Il permet d'obtenir une rémission complète dans 50 % des cas avec une hémocrite stable sans phlébotomies concomitantes, une réduction de la splénomégalie chez 77 % des patients et un contrôle du prurit chez 81 % des patients(106). Il est recommandé en première intention chez les patients de moins de 40 ans nécessitant un traitement cytoréducteur en raison de son utilisation prolongée sans effet leucémogène(107) et en deuxième intention chez les patients résistants ou intolérants à l'hydroxyurée.

Dans le traitement de la maladie de Vaquez la posologie habituelle est de 3 MIU, trois fois par semaine mais peut être adaptée au patient en fonction de sa réponse et des effets indésirables(108). En effet, entre 20 et 40 % des patients durant les études(105) abandonnent le traitement en raison des effets indésirables.

Les effets indésirables retrouvés chez les patients sont :

- Syndrome pseudo-grippal avec diminution de l'appétit, fièvre, frissons, fatigue, céphalées
- Affections musculo-squelettiques: myalgies, arthralgies
- Affectations cutanées : alopecie, hypersudation
- Troubles gastro-intestinaux : diarrhées, vomissements, nausées, sécheresse buccale
- Affections hématologies : leucopénie, thrombocytopénie et anémie

En fin de compte, malgré les inconvénients notables associés à l'interféron alpha, tels que la fréquence élevée des injections avec l'inconfort de l'administration par voie sous-cutanée, l'incidence de nombreux effets secondaires avec un profil de toxicité élevé et des coûts considérables, il demeure un traitement de première intention. Pour pallier ces désagréments, de nouvelles formulations ont émergé dans le paysage thérapeutique sous forme d'interféron alpha pégylé et l'interféron alpha a vu sa commercialisation arrêtée le 30/06/2020. Ces versions pégylées offrent un profil de sécurité amélioré, moins d'effets indésirables et une durée d'action prolongée, ce qui contribue à améliorer l'efficacité et la tolérance du traitement.

C. Les nouveaux traitements

Dans cette partie, nous allons aborder la nouvelle forme d'interféron alpha pégylée, puis nous discuterons des thérapies ciblées. La découverte de la mutation JAK2V617F, présente chez la majorité des personnes atteintes de la maladie de Vaquez, a ouvert la voie au développement de plusieurs thérapies ciblant cette mutation au niveau moléculaire. À cette fin, des inhibiteurs de la protéine JAK2 ont été identifiés. Au-delà de la voie JAK2/STAT5, des recherches ont également montré que les inhibiteurs de l'histone déacétylase et de la

protéine MDM2 pourraient constituer des traitements prometteurs dans la prise en charge de la maladie de Vaquez en limitant la prolifération des cellules tumorales mais ces molécules là n'en sont qu'au stade des essais cliniques c'est pourquoi nous ne les aborderons pas dans ce travail. Ces avancées dans la compréhension des mécanismes moléculaires de la maladie ouvrent de nouvelles perspectives thérapeutiques pour les patients atteints de la maladie de Vaquez.

C.1. L'interféron alpha 2 pégylé (peg IFN- α) (PEGASYS[®], BESREMI[®])



Il s'agit d'une modification chimique de l'interféron alpha permettant de lier une molécule de polyéthylène glycol à celui-ci afin d'augmenter son poids moléculaire pour ainsi diminuer sa cinétique d'élimination et augmenter son efficacité(109). Il aura donc une toxicité plus faible, une solubilité et une solubilité augmentées sans affecter son activité thérapeutique et une demi-vie plasmatique plus longue. On observe donc une meilleure balance bénéfice/risque pour l'interféron pégylé que pour l'interféron non pégylé.

La différence entre le BESREMI[®] et le PEGASYS[®] est qu'il ne s'agit pas du même interféron recombiné. Le PEGASYS[®] contient le peginterféron alfa-2a alors que le BESREMI[®] contient le ropeginterféron alfa-2b. Le 2b va voir son administration et sa posologie dépendre du poids de la personne alors que le 2a ne dépend pas du poids de la personne et son administration se fera chaque semaine(110).

Bien qu'utilisés depuis des décennies, les interférons n'ont pas d'autorisation de mise sur le marché (AMM) pour la PV en France. Récemment, le BESREMI a obtenu son autorisation en 2019 par l'European Medicines Agency (EMA) pour l'indication de la PV en monothérapie. Cependant le PEGASYS n'a toujours pas d'indication pour la PV mentionné dans l'AMM mais reste toujours disponible pour le traitement des MNP dans un cadre de prescription compassionnelle(111)(111).

La posologie est ajustée au cas par cas. La dose initiale recommandée est de 100 microgrammes (ou 50 microgrammes si le patient suit un autre traitement cytoréducteur) en sous-cutanée toutes les 2 semaines. La dose doit être augmentée progressivement de 50

microgrammes toutes les 2 semaines jusqu'à stabilisation des valeurs hématologiques. La dose maximale est de 500 microgrammes toutes les 2 semaines. Pour la phase d'entretien, la dose ayant permis la stabilisation des paramètres hématologiques doit être maintenue pendant au moins 1 an et demi avec une administration toutes les 2 semaines. Ensuite la dose peut être adaptée et/ou l'intervalle d'administration augmentée à 4 semaines en fonction du patient(112).

Les effets indésirables fréquents retrouvés vont être similaires à ceux de l'interféron alpha mais moindres et une étude observe environ 10 % des patients qui arrêtent le traitement en raison de ceux-ci(113) :

- Anomalies du bilan sanguin : leucopénie, thrombocytopénie, augmentation des gamma-glutamyl transférases
- Affections musculo-squelettiques : arthralgie, myalgie
- Syndrome grippal et asthénie

L'IFN-alpha peg peut néanmoins induire des cytolyses hépatiques, des dépressions et des atteintes auto-immunes mais toujours sans être leucémogène. Il sera donc contre-indiqué chez les personnes ayant des troubles psychiatriques et ceux ayant des troubles thyroïdiens.

Une étude prospective, ouverte et multicentrique de phases 1 et 2 (effectuée en Autriche sur 51 patients) avec augmentation de dose sur l'IFN-alpha pegylé montre une faible toxicité, une administration toutes les 2 semaines, induit des taux de réponse élevés et soutenus et induit des taux de réponse moléculaire partielle et complets significatifs avec une réduction de la charge allélique JAK2(114). L'interféron alpha pégylé induit une réponse hématologique plus lente que l'hydroxyurée, mais cette réponse est plus durable. De plus, il est associé à moins de toxicités hématologiques, de carcinomes cutanés ou d'ulcères cutanés.

Il y a eu peu d'études comparant l'IFN- α 2 pégylé à l'hydroxyurée(115), et l'essai danois DALIAH(116) est l'une des rares études ayant effectué cette comparaison chez des patients nouvellement diagnostiqués avec des MNP. Ces études ont révélé que l'IFN- α 2 pégylé n'était pas supérieur à l'hydroxyurée en termes de normalisation du nombre élevé de cellules sanguines après 12 et 24 mois de traitement. Cependant, après 36 mois, les médicaments Pegasys/PegIntron (dans le cadre de l'essai DALIAH) et Ropeginterféron alfa-2b (Besremi) ont montré une supériorité convaincante en ce qui concerne l'obtention de rémissions moléculaires majeures. Cette rémission moléculaire majeure a été évaluée en se basant sur la normalisation continue du nombre élevé de cellules sanguines associée à une diminution de la charge allélique JAK2V617F. Il est important de noter que, malgré ces avantages, l'essai DALIAH a enregistré un taux d'abandon élevé, atteignant jusqu'à 40 à 50 %, lors de traitements à long terme avec Pegasys ou PegIntron(111).

Ainsi, chez les patients à haut risque atteints de PV, l'hydroxyurée et l'IFN-alpha pégylé sont des traitements de première intention et permettent de basculer sur l'autre si le patient est

résistant/intolérant à l'un. En cas d'échec de ceux-ci, une nouvelle molécule de thérapie ciblée visant JAK2 a été développée.

C.2. Le Ruxolitinib (JAKAVI®)



C'est un puissant inhibiteur sélectif des protéines kinases JAK1 et JAK2 et appartient donc à la famille des inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK). On l'utilise dans la PV en 2^{ème} intention après l'hydroxyurée et l'interféron-alpha pégylé si le patient y est intolérant/résistant. Il s'agit d'une thérapie ciblée pour les patients présentant la mutation JAK2V617F permettant d'inhiber l'hématopoïèse par le blocage de la voie de signalisation JAK2/STAT5. Il a obtenu l'AMM en décembre 2015 pour la PV suite à deux études (les études RESPONSE) car il était initialement prévu pour la splénomégalie et la myélofibrose.

Avant une instauration du ruxolitinib, un bilan sanguin est nécessaire et ceux-ci doivent être effectués toutes les 2 à 4 semaines jusqu'à la stabilisation de la dose. La posologie initiale recommandée est de 10mg deux fois par jour par voie orale et peut être modifiée en fonction de l'efficacité et de la tolérance. Cette posologie initiale ne peut être augmentée durant les 4 premières semaines et ensuite, l'augmentation doit se faire avec une intervalle d'au moins 2 semaines. Si l'efficacité est insuffisante et que les numérations sanguines sont bonnes, la dose peut être augmentée par paliers de 5 mg deux fois par jour au maximum, jusqu'à la dose maximale de 25 mg deux fois par jour (Figure 28).

	Dose au moment de la diminution des plaquettes				
	25 mg deux fois par jour	20 mg deux fois par jour	15 mg deux fois par jour	10 mg deux fois par jour	5 mg deux fois par jour
Taux de plaquettes	Nouvelle dose				
100 000 à <125 000/mm ³	20 mg deux fois par jour	15 mg deux fois par jour	Aucun changemen t	Aucun changemen t	Aucun changemen t
75 000 à <100 000/mm ³	10 mg deux fois par jour	10 mg deux fois par jour	10 mg deux fois par jour	Aucun changemen t	Aucun changemen t
50 000 à <75 000/mm ³	5 mg deux fois par jour	5 mg deux fois par jour	5 mg deux fois par jour	5 mg deux fois par jour	Aucun changemen t
Moins de 50 000/mm ³	Interrompre	Interrompre	Interrompre	Interrompre	Interrompre

Figure 28 : Dosage recommandé chez les patients atteints de PV(117).

Dans le cadre de la PV, des ajustements de la dose du traitement doivent être envisagés lorsque le taux d'hémoglobine diminue en dessous de 12 g/dl, et il est fortement recommandé de réduire la dose en cas de diminution en dessous de 10 g/dl. Le traitement doit être suspendu lorsque le taux de plaquettes tombe en dessous de 50 000/mm³ ou que le nombre absolu de neutrophiles devient inférieur à 500/mm³ ou lorsque le taux d'hémoglobine descend en dessous de 8 g/dl. Une fois que les numérations sanguines remontent au-dessus de ces seuils, le traitement peut être repris à une dose de 5 mg deux fois par jour. Il est important d'augmenter la dose progressivement tout en surveillant de près l'héogramme complet, y compris la numération et la formule leucocytaire.

Les effets indésirables du ruxolitinib les plus fréquents sont :

- Effets hématologiques : anémie, thrombocytopénie, neutropénie
- Effets généraux : prise de poids, céphalées, étourdissements
- Sur le plan métabolique : élévation de l'alanine aminotransférase, de l'aspartate aminotransférase et une hypercholestérolémie

Le ruxolitinib s'est révélé efficace dans le traitement des PV qui sont réfractaires ou intolérantes à l'hydroxyurée. Une étude de phase 3 en 2017 appelée "RESPONSE"(118) a comparé le ruxolitinib (groupe de 110 patients) au meilleur traitement disponible (MTD) (groupe de 112 patients). Les résultats ont montré que le ruxolitinib était supérieur en termes de contrôle de l'hématocrite et de la rate, avec respectivement 60 % et 40 % des patients sous ruxolitinib atteignant ces objectifs par rapport à seulement 40 % et 0,9 % des patients sous MTD. Sur une période de suivi de 80 semaines, 83 % des patients sont restés sous traitement par ruxolitinib, tandis que 88 % des patients sous MTD ont été transférés au ruxolitinib(84).

Des conclusions similaires ont été obtenues dans une autre étude en 2022, "RESPONSE-2"(119), qui a démontré une supériorité similaire du ruxolitinib par rapport au MTD (62 % contre 19 %) en termes de contrôle de l'hématocrite. Cette étude portait sur des patients atteints de PV sans splénomégalie nécessitant un traitement de deuxième intention. Les données de suivi de RESPONSE-2 ont montré que le contrôle de l'hématocrite avec le ruxolitinib était durable, avec la majorité des patients transférés du bras MTD au bras ruxolitinib, ce qui était attendu étant donné les critères d'éligibilité de l'étude.

La plupart des patients du groupe MTD ont reçu de l'hydroxyurée. Le ruxolitinib a également été évalué comme traitement de sauvetage pour les PV résistantes ou intolérantes à l'hydroxyurée en 2023 dans une autre étude de phase 2 appelée "MAJIC-PV"(120), avec des résultats prometteurs. Dans cette étude, 43 % des patients sous ruxolitinib ont atteint une rémission complète, contre 26 % sous MTD. De plus, les patients traités par ruxolitinib ont montré des réponses plus durables et un meilleur contrôle des symptômes. La survie sans

événement à un an était également plus élevée chez les patients atteints de rémission complète, et le traitement par ruxolitinib était associé à une diminution de la charge allélique JAK2 V617F, ainsi qu'à une amélioration de la survie globale et de la survie sans événement. Ces résultats soulignent l'efficacité du ruxolitinib en tant que traitement de choix pour les patients atteints de PV résistantes ou intolérantes à l'hydroxyurée. De plus, le ruxolitinib possède l'AMM pour la myélofibrose secondaire à une PV, les études RESPONSE 1 et 2 ainsi que COMFORT-I et II(121) confirmant son efficacité dans celle-ci.

Toutes ces études montrent l'efficacité du ruxolitinib mais celui-ci sera utilisé en seconde intention après l'hydroxyurée notamment pour des questions financières : plus de 3000€ pour un mois de traitement contre 3,90€ pour l'hydroxyurée. C'est un traitement qui n'est pas curatif malgré la thérapie ciblée qu'il propose, c'est pourquoi il est important de poursuivre les recherches sur cette maladie rare. Devant cette multitude de traitements (Figure 29), c'est au pharmacien qu'il incombe de délivrer, de prodiguer les conseils nécessaires et de travailler avec les autres professionnels de santé pour une prise en charge thérapeutique optimale.

Traitements	Classe thérapeutique	Pharmacodynamie / Effets
Aspirine	Antiagrégant plaquettaire	Inhibe la COX1 fabriquant les thromboxanes A2 nécessaires à l'activation plaquettaire ⇒ diminution du risque thrombotique
Hydroxyurée	Anti-néoplasique cytostatique	Inhibe la ribonucléotide réductase et donc la synthèse d'ADN, bloque la division cellulaire, diminue la production de globules rouges et de plaquettes ⇒ diminution de la viscosité et du risque thrombotique
Busulfan	Agent Alkylant de l'ADN	Inhibe la transcription de l'ADN ⇒ diminution de la production cellulaire des différentes lignées, dont la lignée rouge
Anagrélide	Autre agent anti-néoplasique	Suppression des facteurs de transcription FOG-1 et GATA-1 nécessaires à la mégacaryocytopoïèse ⇒ diminution du nombre de plaquettes

Interféron alpha et interféron alpha pégylé	Agent immunostimulant / interférons	Modulateur de la réponse immunitaire, inflammatoire, cytoréducteur ⇒ diminution de la production cellulaire et réduction de l'inflammation
Ruxolitinib	Inhibiteur de tyrosine kinase (JAK1 et JAK2) / thérapie ciblée	Inhibition de l'hématopoïèse par blocage de la voie de signalisation JAK2/STAT5 ⇒ diminution de la production de cellules souches hématopoïétiques et donc de globules rouges

Figure 29 : Tableau récapitulatif des traitements utilisés dans la polyglobulie de Vaquez

D. La prise en charge officinale

Le pharmacien joue un rôle primordial dans la surveillance, l'optimisation du traitement ainsi que ces effets indésirables car il est le premier professionnel de santé que le patient voit en règle générale. Il permet un suivi régulier hebdomadaire ou mensuel en fonction des passages du patient à l'officine et permet au patient de pouvoir discuter au comptoir ou dans un espace de confiance de son ressenti sur sa maladie. Il permet ainsi de faire le relai avec le médecin traitant et l'hématologue.

D.1. Le suivi thérapeutique et le soutien moral

Le pharmacien d'officine joue un rôle essentiel en tant que professionnel de la santé et acteur de premier recours dans la prise en charge des patients. Sa proximité avec la patientèle lui permet d'assumer plusieurs responsabilités, dont l'une des plus importantes est de s'assurer de la bonne observance du traitement par les patients.

L'observance des patients atteints de maladies chroniques revêt une grande importance dans la gestion de leur santé. Les patients qui ne suivent pas correctement leur traitement peuvent rencontrer des problèmes d'efficacité mais aussi la survenue d'effets indésirables. La durée prolongée des traitements et leur caractère contraignant sont des facteurs qui influent sur l'observance thérapeutique au fil du temps. Les patients ont souvent tendance à oublier ou à interrompre leur traitement lorsque celui-ci est long et contraignant. La lassitude à l'égard des traitements, la non compréhension de ceux-ci, la perte de confiance en leur efficacité et leur utilité, ainsi que l'amélioration apparente de l'état de santé du patient

peuvent également être des raisons pour lesquelles les patients cessent de prendre leur traitement.

Dans ces situations, le pharmacien a un rôle essentiel à jouer en termes d'information et de soutien. Face à ces moments de doute et d'interrogation, les patients ont besoin d'un intervenant de première ligne qui soit disponible, attentif et capable de prodiguer des conseils visant à maximiser l'efficacité du traitement. Le pharmacien se doit d'être à l'écoute, de faire preuve d'empathie, de ne pas juger et de valoriser tous les efforts que le patient a mis en place jusque là. Il peut aussi orienter le patient vers des associations de patients, vers des forums de patients atteints par la maladie de Vaquez afin qu'il se sente moins seul face à la maladie. L'adhérence thérapeutique doit être évaluée avec précision et rigueur par les professionnels de la santé, et cela nécessite la participation active des patients eux-mêmes. La confiance du patient envers son traitement est un élément crucial : s'il croit en son traitement, il sera plus enclin à l'accepter et à suivre la prescription. Cette adhérence thérapeutique est fondamentale, car elle influe sur l'efficacité du traitement, la survenue des effets indésirables, et la prolongation de l'espérance de vie du patient.

Pour faciliter la prise des médicaments, le pharmacien met à disposition divers outils tels que des fiches médicaments, des fiches de conseils, des fiches de suivi de traitement, des piluliers, et des plannings de prise hebdomadaire. Il peut aussi faire un bilan de médication avec le patient afin de savoir si celui-ci a bien compris les traitements, leurs effets, les modalités de prise. En fonction des réponses, le pharmacien peut expliquer ce qui n'est pas acquis et faire des rappels sur la maladie. Si celui-ci n'a pas toutes les connaissances au moment de l'entretien sur la prise en charge ou un médicament, il peut chercher les informations à la suite de l'entretien et revenir ultérieurement vers le patient pour lui expliquer en détail. Mais il est fondamental que le pharmacien revienne vers le patient, sinon l'échange et la relation de confiance soignant-soigné sera brisée.

Pour favoriser une bonne adhérence thérapeutique, il est essentiel que les patients acquièrent une meilleure connaissance de leur maladie et de leur traitement, et qu'ils gèrent de manière adéquate leurs médicaments au quotidien. C'est pourquoi il est impératif pour tous les professionnels de santé de mettre en place un accompagnement personnalisé du patient et de mettre en œuvre des stratégies pour faciliter cette adhérence.

D.2. La prise en charge des effets indésirables liés aux médicaments ou à la maladie.

La coordination des soins par le pharmacien, en partenariat avec les médecins, revêt une importance capitale dans cette démarche. Si le pharmacien constate un problème lié au médicament ou sur l'état de santé du patient, il doit prévenir le médecin traitant. Cependant, la réussite de cette approche nécessite la participation active du patient. C'est le patient qui va nous rapporter les effets indésirables qu'il subit soit des traitements, soit de la maladie. La

connaissance du pharmacien va permettre de trouver des alternatives et de soulager le patient dans son quotidien en effectuant le relai avec les autres professionnels de santé.

Concernant les médicaments de la maladie de Vaquez, il va falloir surveiller principalement le risque de saignements, le bilan sanguin et donc l'état général du patient. Cependant, les médicaments peuvent présenter des interactions entre eux et peuvent nuire au patient, il est donc important que le pharmacien les décèle en fonction de chaque molécule :

- Pour les interactions médicamenteuses liées à l'aspirine, il faudra faire attention à la majoration du risque hémorragique dans la prise concomitante avec : un autre antiagrégant plaquettaire, un anticoagulant oral, les thrombolytiques (Streptokinase, Urokinase), les héparines (non fractionnées et de bas poids moléculaires), les anti-inflammatoires non stéroïdiens ou encore les glucocorticoïdes systémiques.

- Pour les interactions médicamenteuses liées à l'hydroxyurée : l'hydroxyurée est contre indiquée avec le vaccin antiamarile (fièvre jaune) et déconseillée avec les vaccins vivants atténués en raison du risque de contraction de la maladie par diminution des défenses immunitaires. On préconisera l'utilisation de vaccin inactivé lorsqu'ils existent. Si le patient est traité par anticoagulant oral et chimiothérapie, il faut augmenter la fréquence de contrôle de l'INR en raison de la variabilité de la coagulation. Il faudra aussi faire attention avec les patients sous phénytoïne, qui est un anti-épileptique, car il y a un risque de convulsions par diminution d'absorption digestive de celle-ci par l'hydroxyurée. De plus, l'hydroxyurée peut voir son métabolisme hépatique augmenter par la phénytoïne et voir sa toxicité cytotoxique augmenter ou diminuer. Enfin, on fait attention à l'hydroxyurée avec les autres immunosuppresseurs en raison du risque de syndrome lymphoprolifératif par immunodépression excessive.

- Pour les interactions médicamenteuses avec le busulfan : celui-ci est contre indiqué avec le vaccin antiamarile (fièvre jaune) et déconseillé avec les vaccins vivants atténués en raison du risque de contraction de la maladie par diminution des défenses immunitaires. On préconisera l'utilisation de vaccin inactivé lorsqu'ils existent. Si le patient est traité par anticoagulant oral et chimiothérapie, il faut augmenter la fréquence de contrôle de l'INR en raison de la variabilité de la coagulation. Il faudra aussi faire attention avec les patients sous phénytoïne, qui est un anti-épileptique, car il y a un risque proconvulsivant et de majoration de neurotoxicité. Le busulfan peut voir son métabolisme hépatique augmenter par la phénytoïne et voir son efficacité diminuer. De plus, l'association avec la ciclosporine ou le tacrolimus peut provoquer une immunodépression excessive avec un risque de lymphoprolifération. Enfin, il faut faire attention avec l'itraconazole et le métronidazole qui respectivement réduisent la clairance du busulfan de 20 % et augmentent ces taux de 80 %, donc un risque de toxicité accrue.

- Pour les interactions médicamenteuses avec l'anagrélide : l'anagrélide est principalement métabolisé par le CYP1A2, il faut donc faire attention aux inhibiteurs ou inducteurs du CYP1A2 comme la fluvoxamine, l'enoxacine ou encore l'oméprazole qui vont modifier la

clairance ou l'exposition au médicament. Cependant, l'anagrélide est lui aussi légèrement inhibiteur du CYP1A2, il faut donc faire attention aux médicaments partageant ce mécanisme de clairance comme la théophylline. De plus, l'anagrélide est un inhibiteur de la phosphodiesterase III (PDE III) comme les médicaments utilisés à court terme pour les insuffisances cardiaques : l'amrinone, l'enoximone et la milrinone ainsi que celui pour l'artériopathie oblitérante des membres inférieurs : le cilostazol. Leurs effets seront exacerbés s'ils sont pris ensemble.

- Pour les interactions médicamenteuses avec les interférons pégylés (les non pégylés n'étant plus commercialisés) : les interférons α pégylés augmenteraient le profil pharmacocinétique de la théophylline de 25 %, ils seraient donc inhibiteurs du CYP1A2. Il serait contre-indiqué chez les patients ayant de la telbivudine (traitement hépatite B) en raison du risque accru de neuropathie périphérique(122).

- Enfin, les interactions médicamenteuses avec le ruxolitinib : le ruxolitinib est métabolisé par le CYP3A4 et CYP2C9. Ainsi tous les médicaments inducteurs ou inhibiteurs de ces cytochromes sont susceptibles d'entraîner une augmentation de l'exposition au ruxolitinib. Parmi les inhibiteurs, on retrouve : la plupart des antifongiques que sont les azolés (kétoconazole, fluconazole...), les antiviraux inhibiteurs de la protéase du VIH (ritonavir, Indinavir...) et un antibiotique de classe thérapeutique des macrolides souvent prescrit, la clarithromycine. Parmi les inducteurs, on retrouve : la carbamazépine, la rifampicine, le millepertuis. Le ruxolitinib est un inhibiteur de P-gP et de la protéine de résistance au cancer du sein (BRCP) dans l'intestin. On aura une augmentation de l'exposition aux substrats de ces transporteurs comme le dabigatran, la ciclosporine, la rosuvastatine et potentiellement la digoxine(123).

A l'officine, on retrouve beaucoup de patients poly-médicamentés puisqu'ils ont plusieurs pathologies. Pour résumer l'ensemble de ces interactions, si un patient présente une maladie de Vaquez, il aura systématiquement de l'aspirine associé ou non à un 2^{ème} voir 3^{ème} traitement cytoréducteur ou de nouvelle génération. Il faudra vérifier sur l'ordonnance la présence d'un autre antiagrégant et/ou anticoagulant, d'héparines en cas d'hospitalisation ou autrement du patient et d'AINS systémiques en cas de douleurs. Ensuite, si le patient a un cytoréducteur comme l'hydroxyurée ou le busulfan, il ne faut pas de vaccin vivant atténué, on demande si un contrôle de l'INR est fait régulièrement et on fait attention aux antifongiques azolés et à la phénytoïne. Si le patient a de l'anagrélide, on surveille principalement la présence d'oméprazole car beaucoup de personnes prennent des inhibiteurs de la pompe à protons pour le reflux gastro-oesophagien lié à l'acidité de l'estomac. Si on retrouve des interférons pégylés, il faut faire attention avec les traitements des patients atteints d'hépatite B et C ainsi qu'à la théophylline qui est un bronchodilatateur se retrouvant pour des pathologies comme l'asthme, l'emphysème et la bronchite chronique. Enfin, si le patient présente le ruxolitinib, il faut faire attention à tous les inducteurs et inhibiteurs enzymatiques présent sur l'ordonnance (détaillés dans le paragraphe ci-dessus) pouvant augmenter l'exposition au ruxolitinib ainsi qu'aux molécules substrats de la P-gP ou

du BRCP, elles aussi fréquemment retrouvées dans les ordonnances : dabigatran, rosuvastatine, digoxine ou ciclosporine.

En cas d'interactions, le pharmacien peut conseiller au patient d'espacer ou décaler la prise des médicaments : par exemple faire une prise matinale pour le premier et une prise le soir pour le second. En cas de contre-indications, le pharmacien appellera le médecin spécialiste afin de trouver une solution avec lui, en trouvant un autre médicament ne présentant pas d'interactions ou en supprimant l'un d'eux en attendant de trouver une solution. Si le médecin spécialiste n'est pas joignable, le pharmacien contacte le médecin généraliste et si aucun des deux n'est disponible, il peut décider de ne pas délivrer le médicament présentant un risque pour la santé du patient. Il renouvellera ces appels auprès des médecins dans la journée ou les jours suivants afin de trouver une solution pour le patient et que celui-ci présente une prise en charge optimale pour ces différentes pathologies.

Par conséquent, le pharmacien doit expliquer au patient les signes d'effets indésirables médicamenteux : les signes généraux comme la fièvre, les céphalées, l'asthénie, perte d'appétit ; les signes gastro-intestinaux comme les diarrhées, nausées, vomissements ; les signes cutanés comme une éruption, des ecchymoses, un prurit. Tous ces signes là peuvent aussi témoigner d'une anomalie du bilan sanguin, c'est pourquoi il est important de dire au patient d'amener son dernier bilan sanguin lors de son passage à l'officine afin d'en discuter avec le pharmacien.

Pour ces patients et leur entourage, reconnaître les signes d'une thrombose est important. Le pharmacien peut détailler ou donner une fiche récapitulant ces signes(124) :

- Signes d'une thrombose cérébrale (AVC) : maux de tête intenses avec ou sans vomissements, problèmes d'élocution, de coordination, d'équilibre, paralysie d'une partie du corps, vision trouble ou perturbée ; apparition brutale d'une confusion.
- Signes d'une embolie pulmonaire : essoufflement, douleur dans la poitrine, malaise.
- Signes d'une phlébite : douleur dans le mollet, inflammation locale avec gonflement, mollet dur à la palpation
- Signes d'une thrombose cardiaque (infarctus du myocarde) : douleur constrictive au milieu de la poitrine et d'aggravation progressive pouvant irradier dans le bras ou la mâchoire, oppression thoracique, essoufflement, nausées.
- Signes de thrombose d'un membre : douleur, pâleur, froideur, absence de pouls dans le membre.

En cas de suspicion de ces signes, il est important de consulter en urgence le médecin traitant ou aux urgences si celui-ci n'est pas disponible. Si le patient se présente à l'officine avec ses signes évocateurs, ce sera le pharmacien qui appellera le SAMU afin de garder le patient sous surveillance en attendant l'arrivée de celui-ci.

D.3. Les conseils hygiéno-diététiques, la phytothérapie et l'homéopathie

La maladie de Vaquez présente comme risque des évènements thrombotiques et donc cardio-vasculaires. Le pharmacien doit donc rappeler les facteurs de risques afin de limiter la survenue de ces évènements. Le patient doit avoir une alimentation adaptée : limiter les apports en sel, en sucre, en acides gras saturés donc tout ce qui est industriel, produits transformés et favoriser les fruits, les légumes, les fibres, le régime méditerranéen. Les besoins en boissons sont aussi importants donc rappeler de bien s'hydrater, au moins 1,5L par jour, plus si activité sportive ou pendant l'été, ne pas attendre la sensation de soif. Le tabac est un facteur de risque cardio-vasculaire donc si la personne fume il faut qu'elle puisse arrêter. En collaboration avec le médecin, on va pouvoir conseiller et délivrer des patches, des gommes à mâcher, des pastilles pour aider la personne à arrêter de fumer. Enfin, une activité physique régulière et adaptée permet de garder une bonne forme physique, à booster l'immunité et influe positivement sur la santé mentale de la personne.

Pour les femmes, les traitements substitutifs à base d'œstrogènes augmentent le risque de thrombose, il est donc conseillé de passer sur une pilule progestative uniquement. L'utilisation d'un stérilet est déconseillé lui aussi en raison du risque de saignements accru par les médicaments fluidifiants sanguin.

Il peut aussi conseiller de limiter les activités à risques de blessures étant donné que l'un des traitements de première ligne est l'aspirine, il y a un risque de saignement abondant. De même que pour les traitements cytoréducteurs, l'immunité étant diminuée, le pharmacien peut vérifier la vaccination du patient et lui faire les rappels si besoin.

Les patients atteints de PV peuvent aussi avoir besoin de bas de contention. En effet, s'ils voyagent en voiture, en avion ou ne bougent pas durant une période prolongée, il y a un risque de phlébite augmenté. Le médecin peut prescrire des paires de bas et le pharmacien va prendre les mesures du patient, lui conseiller sur les différents modèles et textures existants et lui faire essayer. En cas de taille non standard, il y a la possibilité de faire du sur-mesure pour le patient.

Comme détaillé dans la partie précédente, certains médicaments présentent une métabolisation par les cytochromes, il est donc important de conseiller au patient de ne pas prendre les aliments, les compléments alimentaires ou la phytothérapie pouvant interagir avec les médicaments, les cytochromes voir même ayant des effets similaires aux médicaments pouvant avoir un effet cumulatif et donc indésirable.

L'association française des soins oncologiques de support (l'AFSOS) a établi en 2019 un livret destiné aux patients présentant 20 plantes courantes car beaucoup prennent de la phytothérapie ou des compléments alimentaires sans savoir qu'ils interagissent avec leur traitement(125). Voici le tableau récapitulatif des cytochromes affectés par ces plantes (Figure 30) :

Inhibiteurs	Inducteurs	Substrats
<ul style="list-style-type: none"> • Aloe vera (CYP3A4, 2D6) • Baie de Goli (CYP2C9) • Chardon Marie (CYP2C9, 2C19, 2D6) • Curcuma (CYP3A4) • Desmodium (CYP2E) • Echinacée (CYP3A, 1A2 et PgP) • Graviola (inhibiteur PgP) • Gui (CYP3A4) • Pamplemousse (CYP3A4 et PgP) • Réglisse (CYP3A, CYP 2D6) • Sauge (CYP2D6) • Spiruline (CYP1A2) • Thé vert (CYP3A4) • Valériane (CYP3A4, 2C9, 2C19, 2D6) 	<ul style="list-style-type: none"> • Chardon Marie (CYP3A4) • Ginseng (CYP3A4) • Millepertuis (CYP3A4, 2C9 et PgP) • Soja (CYP3A4 et PgP) 	<ul style="list-style-type: none"> • Ail (CYP2C9, 2C19, 3A4, 3A5) • Guarana (CYP1A2)

Figure 30 : Tableau des cytochromes affectés par les 20 plantes présentées dans le livret de l'AFSOS.

La plupart de ces 20 plantes affectent donc la métabolisation du ruxolitinib (CYP 3A4 et 2C9) et l'échinacée, la spiruline et le guarana affectent la métabolisation de l'anagrélide (CYP 1A2).

Les huiles essentielles (HE) sont elles aussi contre-indiquées en cas de traitement, d'autant plus chez une personne ayant une polypathologie et une polymédication. En effet, chaque HE présente plus de 200 molécules différentes dans leur composition(126) et chacune présentant une proportion plus élevée de certaines molécules engendrant des effets différents : certaines vont être anti-inflammatoires, d'autres anesthésiantes, antalgiques, circulatoire, digestive, fluidifiante... mais elles seront toutes antiseptiques. On ne peut donc pas savoir les effets que cela aura sur l'organisme du patient.

Dans notre cas, les HE ayant dans leur chémotype, c'est-à-dire dans leur composition, des salicylés auront les mêmes propriétés que l'aspirine : à savoir anti-inflammatoire, antalgique mais aussi fluidifiante. On retrouve notamment comme HE : la gaulthérie, l'hélichryse, la camomille, la lavande et le lavandin ou encore l'ylang ylang.

L'homéopathie en revanche ne présente aucun risque pour le patient vis-à-vis des traitements, de la maladie et parfois permet l'amélioration de l'état général du patient. L'homéopathie est une méthode thérapeutique qui repose notamment sur le principe de similitude (du grec homoios « semblable » et pathos « maladie »), c'est-à-dire soigner par ce qui est semblable à la maladie. Elle consiste en effet, en l'administration à des doses très

faibles ou infinitésimales (ici en dilution au centième hahnemannienne (CH)), de substances susceptibles de provoquer, à des concentrations différentes, chez l'homme en bonne santé, des manifestations semblables aux symptômes présentés par le malade. Bien que les études ne démontrent pas l'efficacité du médicament homéopathique, la pratique courante montre une utilisation de l'homéopathie ayant pour effet l'amélioration des symptômes du patient. Nous allons proposer des souches homéopathiques en lien avec les signes généraux pouvant survenir durant la maladie et avec les médicaments(127).

- Asthénie, acouphènes : CHINA RUBRA 5 à 9 CH, 3 granules 2 fois/jour
- Splénomégalie : FERRUM MURIATICUM ou METALLICUM 5CH, 3 granules 2 fois/jour
- Thrombopénie avec hémorragie de type epistaxis, pétéchies, ecchymoses spontanées : VIPERA 5CH, 3 granules 3 fois/jour
- Prurit aquagénique : SILICEA COMPLEXE LEHNING N°11, 2 comprimés 2 à 3 fois/jour
- Douleurs : ARNICA MONTANA 5 à 9CH, CHAMOMILLA VULGARIS 5CH, HYPERICUM 9CH, 3 granules 3 fois/jour
- Inflammation, rougeurs : APIS MELLIFICA 5 à 15CH, 3 granules 3 fois/jour

IV. Partie expérimentale : Volémie isotopique en radiopharmacie

A. Matériel et méthode

A.1. Méthodologie de la masse sanguine avec le marquage au ^{99m}Tc

A.1.1. Indications

L'examen de marquage des hématies in vitro et mesure du volume globulaire total (« Masse Sanguine ») a pour indication le diagnostic des polyglobulies vraies (Maladie de Vaquez) ou fausses polyglobulies par hémococoncentrations, anémies vraies ou liées à une splénomégalie, hémodilution, hypotension orthostatique.

A.1.2. Caractéristiques patient

Contre-indication	Interactions médicamenteuses	Effets Secondaires	Autres et Précautions d'emploi
Aucune à ce jour Mise en garde : Femme enceinte et allaitante	Diminution du rendement de marquage : digitaliques, quinidine, bêtabloquants adrénergiques (propranolol), inhibiteurs calciques (vérapamil, nifédipine), dérivés nitrés (trinitrine), anthracyclines, antibiotiques	Allergies dans certains cas	<ul style="list-style-type: none"> • Prise de rendez-vous → Patient accueilli à 8h ou à 12h30 • Patient à jeun • Bilan sanguin récent : Hte, Hb < 7 jours idéalement • Dossier clinique documenté (taille, poids récents) → peser et mesurer systématiquement le patient ! • Remplir le questionnaire patient • Prélèvement : 15 mL de sang dans une seringue de 20 mL préalablement héparinée (si hémocrite > 60% dans 2 tubes <i>vacutainers</i> (vert) : héparine – lithium de 6 mL et suivre la procédure habituelle) <p>Prélever doucement pour éviter une hémolyse /!\ VERIFIER L'ABSENCE D'ALLERGIE A L'HEPARINE /!\</p>

A.1.3. Le médicament radiopharmaceutique (MRP) utilisé

Anciennement, le radionucléide utilisé pour le marquage était le ^{51}Cr mais depuis 2018, la radiopharmacie de l'hôpital Purpan utilise du $^{99\text{m}}\text{Tc}$.

Le $^{99\text{m}}\text{Tc}$ est élué à partir d'un générateur de $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$, l'éluion utilisée pour effectuer la seringue de marquage doit dater de moins de 2h. Le $^{99\text{m}}\text{Tc}$ émetteur gamma (raie principale = 141 keV) avec une période radioactive de 6 heures. L'activité nécessaire au marquage est de 6MBq dans 1 mL. On utilise comme trousse du Pyrophosphate de sodium – Technescan PYP : il s'agit d'une molécule qui se lie aux chaînes β de l'hémoglobine et fixera par réduction le $^{99\text{m}}\text{Tc}$ lors du marquage. Le MRP est stable 4 heures après reconstitution.

A.1.4. Mode opératoire avec manipulation sous la Hotte à flux laminaire (HFL)

Cette manipulation (Annexe 2) est réalisée sous HFL afin de permettre le respect des règles d'hygiène et d'éviter une contamination de l'échantillon à marquer. Le produit radiomarqué étant réinjecté au patient, il doit être techniqué dans une zone à atmosphère contrôlée (ZAC) de classe B, dans une HFL de classe A.

A.1.4.1. Préparations et prélèvement du patient

Avant d'accueillir le patient, il faut effectuer une dilution du Technescan PYP au 1/400^{ème}. On reconstitue le PYP par ajout de 10 mL de NaCl 0,9 % en faisant attention de ne pas introduire

d'air dans la solution car le PYP est très sensible à l'oxygène. On dilue ensuite 2 fois 0,5mL de la solution mère dans 9,5mL de NaCl 0,9 % pour obtenir notre dilution au 1/400^{ème}.

On prépare ensuite une seringue de 20mL LL (Luer Lock) que l'on rince avec de l'héparine pour éviter la coagulation lors du prélèvement. On prélèvera 15 mL de sang total au patient grâce à cette seringue.

Après avoir préparé le plateau de prélèvement avec le matériel nécessaire, on remplit le questionnaire (Annexe 3) avec le patient. On mesure et pèse systématiquement le patient puis on fait prélever par un manipulateur en électro-radiologie médicale (MERM) 15 mL de sang sans forcer l'aspiration pour ne pas hémolyser les globules rouges (GR). On agite la seringue doucement par retournement 5 à 6 fois. Le patient peut alors aller manger puis une fois revenu on l'installe en position allongée jusqu'à l'injection pour stabiliser le volume sanguin.

A.1.4.2. Marquage au PYP dans la HFL

De retour sous la HFL, on désinfecte à l'alcool isopropylique la seringue et on met des gants stériles. On jette le premier mL de sang et si un caillot sanguin est observé, on prévient le radiopharmacien et on refait le prélèvement dans la mesure du possible. Dans l'élumatic sur lequel on a inséré une prise d'air (toutes les manipulations se feront avec une prise d'air pour ne pas avoir de contact entre l'oxygène et le PYP), on dépose délicatement 9 mL de sang et on centrifuge afin d'isoler les globules rouges. On retire et jette le surnageant, on remplace à volume équivalent avec du NaCl 0,9 % et on homogénéise doucement par retournement.

On ajoute délicatement 1,5 mL de PYP dilué au 1/400^{ème}, on homogénéise doucement par retournement puis on met à agiter doucement pendant 5min. Cette trousse est composée de pyrophosphate de sodium et de chlorure stanneux. Cela permet la formation d'un complexe réducteur qui rentre dans les hématies et qui, dans un second temps, permettra la réduction du ^{99m}Tc.

A.1.4.3. Lavage des GR afin d'éliminer le PYP libre

On effectue une centrifugation, on prélève le surnageant et le remplace par 6 mL de NaCl 0,9 %. On homogénéise doucement par retournement puis on recentrifuge. On prélève et jette le surnageant. Cette opération permet de retirer le PYP qui ne s'est pas fixé aux GR afin d'éviter que le ^{99m}Tc vienne s'y fixer, et lors de la réinjection au patient de fausser la quantité de GR marqués pour les calculs.

A.1.4.4. Marquage des GR au ^{99m}Tc puis lavage afin d'éliminer le ^{99m}Tc libre

A partir d'une élution fraîche (< 2h), les préparateurs effectuent une seringue de ^{99m}Tc de 6MBq dans 1mL (la fenêtre d'activité étant de 3,7-7,4 MBq). On amène alors la seringue sous la HFL, on verse les 1mL goutte à goutte dans l'élumatic et on homogénéise doucement par retournement avant de mettre sous agitation douce pendant 5min. Le ^{99m}Tc traverse la membrane érythrocytaire, puis il est réduit par le pyrophosphate stanneux. Le ^{99m}Tc intracellulaire peut alors se fixer à la chaîne β de l'hémoglobine.

On effectue 3 fois l'ajout de NaCl 0,9 %, chaque ajout étant suivi d'une centrifugation pendant 5 min qui sépare le culot globulaire et le surnageant. Le surnageant est prélevé et jeté 3 fois. On obtient ainsi notre pool de GR. Un contrôle de l'activité du surnageant nous informe sur la bonne qualité du radiomarquage.

A.1.4.5. Injection et prélèvements au patient

On prépare 2 seringues : une de 4 mL du pool de GR qui servira à l'injection du patient, une autre de 3 mL qui servira pour la dilution. On mesure l'activité de chaque seringue que l'on imprime sur des étiquettes et on pèse les 2 seringues avant injection au patient

A l'aide du matériel nécessaire et d'un MERM, on injecte la seringue de 4 mL au patient et on note l'heure d'injection. On récupère la seringue vide, le cathéter et la valve anti-retour pour comptage au compteur gamma. On pèse dans le laboratoire de contrôle la seringue d'injection et celle de dilution une fois vides.

On fait prélever par un MERM 10 mL de sang à 20 et 30 minutes après l'injection à l'aide de seringues héparinées qui serviront à l'analyse dans le laboratoire de contrôle.

A.1.5. Dans le laboratoire de contrôle

On prépare la paillasse avec tous les éléments selon le protocole (Annexe 4) pour la mesure de l'hématocrite et le comptage de la radioactivité.

A.1.5.1. Manipulation de la seringue de prélèvement avant marquage

Sur la seringue du 1^{er} prélèvement (de l'étape 4.1), on verse le contenu restant (environ 5 mL) dans un Falcon de 15mL pour réaliser la mesure de l'Ht et le bruit de fond (BF). On mesure l'hématocrite à l'aide de 2 capillaires remplis du BF, après centrifugation durant 3 min. On prélève 1 mL de sang du BF pour le mettre dans le tube à hémolyse identifié BF.

A.1.5.2. Manipulation de la seringue de dilution

On verse le contenu de la seringue de dilution, préparée lors de l'étape 4.5, dans une fiole jaugée de 500 mL préalablement remplie d'eau. On complète avec de l'eau jusqu'au trait de jauge puis on homogénéise. On pèse la seringue de dilution vide et on note sa valeur. On prélève 1 mL de cette dilution que l'on met dans les tubes à hémolyses identifiés D1 à D3.

La solution-témoin nous permettra de connaître la radioactivité par gramme d'^{99m}Tc-hématies pour ensuite calculer la radioactivité théoriquement injectée au patient grâce à la différence de poids entre la seringue patient pleine et vide.

A.1.5.3. Manipulation des seringues de prélèvement après marquage

On homogénéise les seringues par retournement avant de verser le contenu dans les tubes Falcon correspondants. On mesure l'hématocrite comme précédemment et on note les valeurs. On prélève 1 mL de sang total que l'on met dans les tubes à hémolyses identifiés ST 20 et 30. On centrifuge ensuite les 2 Falcon T20 et T30 durant 10min. On prélève ensuite 1 mL de surnageant que l'on met dans les tubes à hémolyses identifiés SNG 20 et 30 ce qui permet de calculer l'évolution du ^{99m}Tc in vivo hors des hématies.

A.1.5.4. Comptage

On dépose l'ensemble des 14 tubes dans le compteur et on lance le comptage de la radioactivité avec un bruit de fond en premier. Les résultats des comptages sont ensuite utilisés pour calculer le volume sanguin total.

A.1.6. Formules de calcul

L'ICSH a préconisé en 1996 des normes de calculs pour les calculs théoriques du VGT et du VP qui ont été appliqués dès 2002 au CHU de Toulouse(128).

Les calculs théoriques du VGT et du VP sont définis par le poids et la taille du patient à partir d'une population normale standardisée :

Chez l'homme :

- Volume globulaire total (mL) = $1485 * S - 825$

- Volume plasmatique (mL) = $1578 * S$

Chez la femme :

- Volume globulaire total (mL) = $(1,06 * \text{âge}) + 822 * S$

- Volume plasmatique (mL) = $1395 * S$

Surface corporelle $S \text{ (m}^2\text{)} = \text{poids (kg)}^{0,425} * \text{taille (cm)}^{0,725} * 0,007184$

Calculs réalisés à partir des comptages et pesées de seringues après dilution isotopique :

Deux méthodes pour le VGT :

- $\text{VGT} = \text{CPM dose injectée} / (\text{moyenne des CPM ST corrigé par l'hématocrite corrigée})$

- $\text{VGT} = ((\text{cpm dilution} * \text{Vd} * S \text{ injectée}) * \text{hématocrite} * 0,98) / (\text{cpm échantillon} * S \text{ dilution})$

$S \text{ injectée}$ = masse réinjectée ; $S \text{ dilution}$ = masse diluée témoin ; Vd = volume de dilution ;
 cpm dilution = moyenne des comptages de la dilution ; cpm échantillon = moyenne des comptages des échantillons ; CPM ST : comptages des tubes de sang total à 20 et 30 min.

- $\text{VST} = \text{VGT} / ((\text{Ht}/100) * 0,98 * 0,925)$

0,98 : correction centrifugeuse hématocrite (il reste du liquide entre les cellules)

0,925 : l'hématocrite du sang prélevé au pli du coude n'est pas représentatif de l'hématocrite du corps entier car le calibre des veines du coude sont plus petites que le calibre des vaisseaux du corps entier, la distribution de l'hématocrite est ainsi différente.

A.2. Méthodologie de la masse sanguine avec le marquage au ^{51}Cr .

A.2.1. Le MRP utilisé

On utilise le ^{51}Cr sous forme de chromate ($^{51}\text{CrO}_4^-$) pour le marquage des hématies, il s'agit de flacons ayant été fractionnés en monodoses de 30 μCi (soit 1,11 MBq). Le Chrome-51 est un radionucléide avec une période radioactive de 27,7 jours. Pendant sa désintégration, il émet des électrons, des rayonnements X (avec une raie principale à 5 keV) et des rayonnements gamma (avec une raie principale à 320 keV).

A.2.2. Mode opératoire avec manipulation sous HFL

A.2.2.1. Prélèvement du patient

On remplit le questionnaire avec le patient puis on le pèse et le mesure. Au préalable, le plateau a été préparé avec le matériel nécessaire dont une seringue de 10 mL préalablement

héparinée et une seringue de 10 mL « sèche » avec 2 tubes vacutainer à prélèvement si l'hématocrite du patient est > à 60 %.

Un MERM va venir prélever 10 mL de sang dans la seringue héparinée (ou si l'Ht > 60%, dans la seringue « sèche » et transvaser rapidement mais très délicatement 5 mL de sang par tube vacutainer). On agite doucement par retournement 5 à 6 fois puis on retourne dans le laboratoire avec la seringue ou les tubes. Le patient peut alors aller manger puis une fois revenu, on le met en position allongée pour stabiliser le volume sanguin.

A.2.2.2. Marquage dans la HFL

De retour sous la HFL (Annexe 5), on désinfecte la seringue ou les tubes avec de l'alcool isopropylique ainsi que les flacons de ^{51}Cr et on met des gants stériles. Tout objet n'étant pas dans un conditionnement stérile et ne pouvant être déposé dans la HFL sans risque de contamination sera désinfecté au préalable par de l'alcool isopropylique.

On injecte doucement 5 mL de sang dans le flacon de ^{51}Cr contre la paroi et on retire la seringue sans réaspirer avant de jeter 0,5mL de sang dans la poubelle DASRI pour éviter de contaminer le sang restant de la seringue qui va servir à réaliser le BF du patient. On homogénéise doucement par retournement puis on place à l'étuve à 37°C pendant 30 min.

Pendant ce temps, on met les 5 mL de sang restant dans un tube à hémolyse et on mesure l'hématocrite à l'aide de capillaires que l'on centrifuge avant de lire sur une échelle de lecture. Un portoir est préparé avec 13 tubes à hémolyses identifiés : 3 tubes de transfert + 10 avec le nom du patient suivi de D1, D2, D3, MP, BF, 20', 20', 30', 30', KT et 1 porte tube vide blanc (réservé pour le site autobloquant). On prélève 1 mL du tube à hémolyse que l'on transfère dans le tube identifié BF.

A.2.2.3. Lavages dans la HFL

Après les 30 min passés à l'étuve servant au marquage des GR, on récupère le flacon de ^{51}Cr que l'on désinfecte, puis dessertit sous la HFL. On injecte doucement dans le flacon 5 mL de NaCl à 0,9 % le long de la paroi pour ne pas lyser les GR, on rebouche en protégeant avec du parafilm puis on met à centrifuger 10 min.

Après les 10 min, on récupère le flacon, on prélève le surnageant à l'aide d'une seringue que l'on bouchera et jettera dans la poubelle plombée spécifique au ^{51}Cr . On prélève 7 mL de NaCl à 0,9 % que l'on injecte délicatement dans le flacon. On homogénéise doucement par retournement et on vérifie l'absence de caillot ou de particule dans le flacon. On rebouche et on remet à centrifuger 7 min.

On effectue cette opération de lavage 2 fois.

Après la 3^{ème} centrifugation, on récupère le flacon, on prélève le surnageant en récupérant au maximum la phase supérieure (plasma, sérum, ⁵¹Cr non fixé) à l'aide d'une seringue que l'on bouche et jettera dans la poubelle plombée spécifique au ⁵¹Cr. On injecte 4 mL de NaCl 0,9 % puis on homogénéise doucement par retournement et on vérifie l'absence de caillot ou de particule dans le flacon.

On prélève 5 mL de sang du flacon dans une seringue de 5 mL LL (seringue QI = quantité injectée) que l'on ferme avec un bouchon rouge, elle sera injectée au patient. On prélève le reste de sang dans une seringue de 3 mL LL (seringue D = dilution) que l'on ferme avec un bouchon rouge. On prépare 2 seringues de 5 mL avec une aiguille jaune que l'on a préalablement rincé à l'héparine, elles serviront aux prélèvements à 20 et 30 min après injection. On identifie chaque seringue avec une étiquette patient.

Les seringues QI et D sont pesées avant (« pleines ») et après (« vides ») l'injection sur la balance de précision afin de déterminer le volume injecté et ainsi la quantité de radioactivité injectée.

A.2.2.4. Injection, prélèvements et comptage

On fait poser un cathéter muni d'un site autobloquant par un MERM puis on injecte doucement la seringue QI sans faire de retour sanguin pour assurer la précision de la pesée derrière. On rince le cathéter avec 5 mL de NaCl 0,9 % et on retire l'ensemble que l'on place dans leurs tubes à hémolyses respectifs. On note l'heure et la personne de l'injection.

On effectue un prélèvement 20 et 30 min après l'injection par un MERM, sur le bras opposé au site d'injection. On prélève 5 mL de sang dans une seringue héparinée à 20 et 30 min et on note l'heure avec précision. On retourne alors dans le laboratoire pour finir de préparer tous les tubes à hémolyse pour le comptage.

Dans une fiole jaugée de 250 mL remplie d'eau, on injecte le contenu de la seringue D, on complète avec de l'eau jusqu'au trait de jauge, on ferme la fiole avec du parafilm et on homogénéise par retournement. On vide la fiole dans un erlenmeyer et on prélève 1 mL de cette dilution avec une pipette de 1 mL et on remplit ainsi les tubes D1, D2, et D3 chacun avec 1 mL et on les bouche aussitôt.

On vide les seringues 20 et 30 min dans 2 tubes à hémolyse. On prélève 1 mL du prélèvement 20 min pour chacun des 2 tubes identifiés « 20' » que l'on bouche aussitôt. Même opération pour le prélèvement 30 min. On réalise 2 mesures d'hématocrite sur les tubes de 20 min pour comparer avec celle du 1^{er} prélèvement de l'étape 2.1.

Une fois tous les tubes à hémolyses prêts pour le comptage, on les mets dans le rack pour le compteur et on retrouve 11 tubes :

- D1 : 1 ml de la dilution
- D2 : 1 ml de la dilution
- D3 : 1 ml de la dilution
- MP : tube vide = mouvement propre de la machine
- BF : 1 ml de sang non marqué
- 20' : 1 ml de la seringue 20'
- 20' : 1 ml de la seringue 20'
- 30' : 1 ml de la seringue 30'
- 30' : 1 ml de la seringue 30'
- KT : cathéter rose
- porte tube : site auto-bloquant

On lance alors le comptage de la radioactivité avec le BF en premier. Les résultats des comptages sont ensuite utilisés pour calculer le VGT et le VST.

A.2.3. Les formules de calculs

Elles sont identiques à celles du ^{99m}Tc :

Chez l'homme :

- Volume globulaire total (mL) = $1485 * S - 825$

- Volume plasmatique (mL) = $1578 * S$

Chez la femme :

- Volume globulaire total (mL) = $(1,06 * \text{âge}) + 822 * S$

- Volume plasmatique (mL) = $1395 * S$

Surface corporelle $S \text{ (m}^2\text{)} = \text{poids (kg)}^{0,425} \times \text{taille (cm)}^{0,725} \times 0,007184$

Calculs réalisés à partir des comptages et pesées de seringues après dilution isotopique :

Deux méthodes pour le VGT :

- VGT = CPM dose injectée / (moyenne des CPM ST corrigé par l'hématocrite corrigée)

- VGT = ((cpm dilution x Vd x S injectée) x hématocrite x 0,98) / (cpm échantillon x S dilution)

- VST = VGT / ((Ht/100) x 0,98 x 0,925)

B. Base de données du CHU Purpan

B.1. Statistiques descriptives de la base de données au ^{99m}Tc entre 2019 et 2022.

B.1.1 Description de la population

Pour ces 4 années, on avait un total de 551 fichiers patients dont 540 ont pu être utilisés pour notre étude, les 11 restants présentant des données manquantes. Sur ces 540 patients, 440 sont des hommes, 100 des femmes.

La répartition d'examens de masse sanguine par année étant de :

- 2019 : 106 examens avec 83 hommes et 23 femmes
- 2020 : 118 examens avec 102 hommes et 16 femmes
- 2021 : 184 examens avec 149 hommes et 35 femmes
- 2022 : 132 examens avec 106 hommes et 26 femmes

Pour ces 540 patients, on observe comme caractéristiques (Figure 31) :

^{99m} Tc	540 patients	Écart-type
Âge moyen (ans)	58,68	16,02
IMC moyen (kg/m ²)	27,47	5,07
SC moyenne (m ²)	1,85	0,22
Ht moyenne (%)	49,98	3,33
VGT moyen (%)	17,3	17,61

Figure 31 : Tableau des caractéristiques de la population au ^{99m}Tc.

Les données de références pour la population théorique ont été établies par le conseil international de normalisation en hématologie (ICSH) en 1995 sur des cohortes entre 1956 et 1969 et effectuant une méthode d'examen avec du ^{51}Cr .

On retrouve 283 hommes et 171 femmes ayant pour caractéristiques (Figure 32) :

ICSH	454 patients	Écart-type
Âge moyen (ans)	33,25	10,61
IMC moyen (kg/m ²)	23,15	3,99
SC moyenne (m ²)	1,75	0,19
Ht moyenne (%)	42,83	4,18

Figure 32 : Tableau des caractéristiques de la population théorique de l'ICSH.

B.1.2. Analyse des prescriptions

Parmi les prescriptions, nous avons analysé les spécialités des prescripteurs que nous avons séparés en 7 catégories (Médecine générale, Hématologie, Oncologie, Médecine interne, Médecine polyvalente, Autres et indéterminé) et dont les résultats observés (Figure 33) sont :

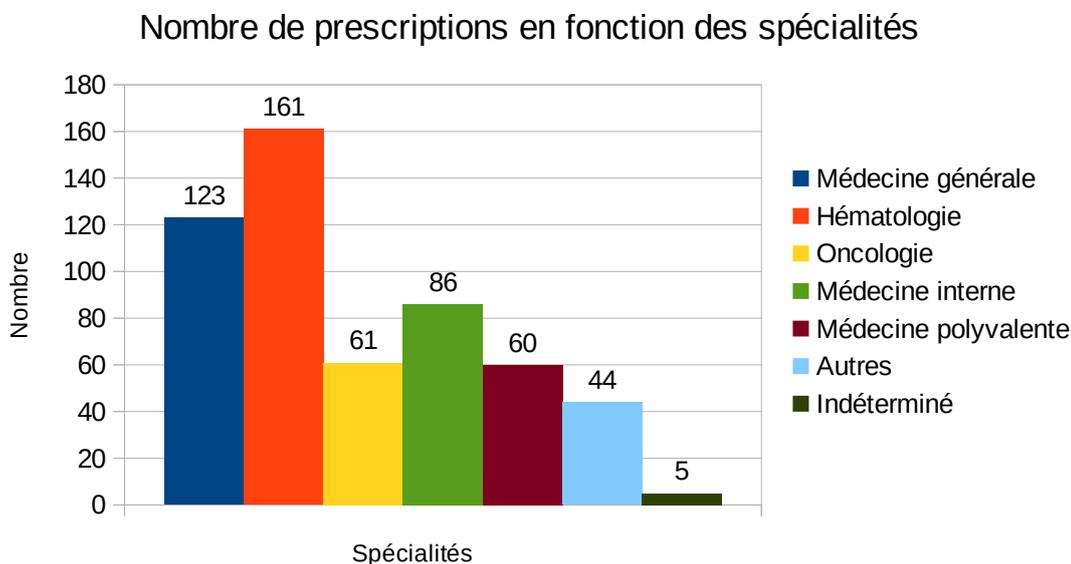


Figure 33 : le nombre de prescriptions en fonction des spécialités de prescripteurs pour l'examen de la masse sanguine au ^{99m}Tc .

On observe une prédominance de prescriptions par la Médecine générale et l’Hématologie, prenant respectivement 22,78 % et 29,81 % des prescriptions.

B.1.3. Conformité de l’hématocrite par rapport aux recommandations

Les recommandations de prescriptions par l’OMS de 2016 stipulent qu’une maladie de Vaquez sera suspectée lorsque l’hémoglobine est supérieure à 16,5 g/dL chez l’homme, 16,0 g/dL chez la femme ou lorsque l’hématocrite est supérieure à 49 % chez l’homme et 48 % chez la femme(32).

La prescription de l’examen de la masse sanguine devant se faire après observation d’une hématocrite élevée sur plusieurs bilans sanguins, nous nous sommes penchés sur cette valeur d’hématocrite sur les prescriptions afin de savoir si elle est conforme aux recommandations ou non (Figure 34).

Sur 440 hommes, on observe 277 prescriptions ayant une hématocrite > 49 %, soit 62,95 % et 163 prescriptions ayant une hématocrite < 49 %, soit 37,05 %.

Sur 100 femmes, on observe 47 prescriptions ayant une hématocrite > 48 %, soit 47,00 % et 53 prescriptions ayant une hématocrite < 48 %, soit 53,00 %.

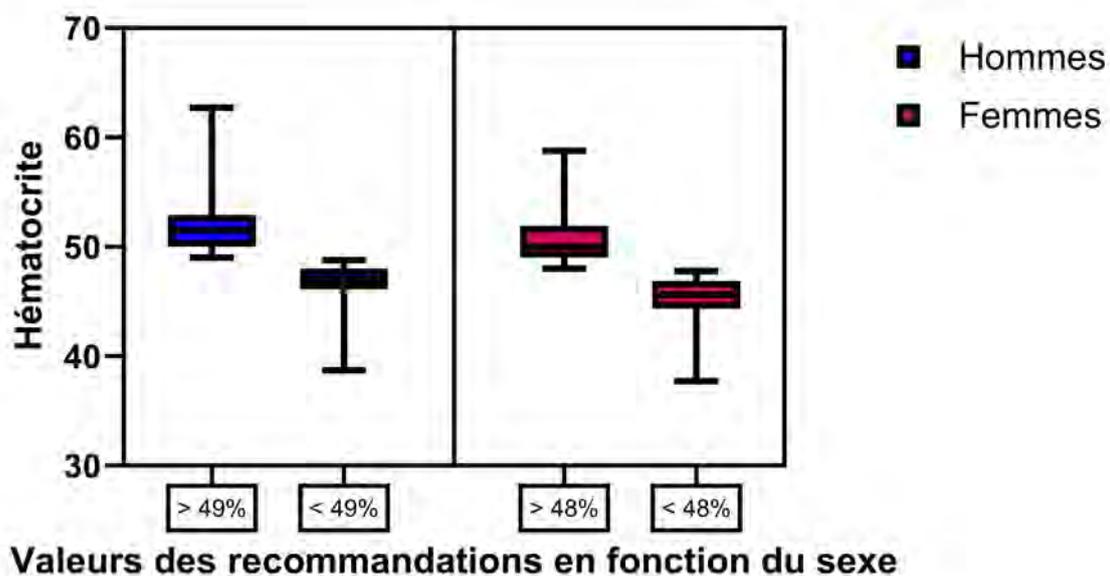


Figure 34 : Dispersion des valeurs d’hématocrite au ^{99m}Tc en fonction du sexe.

Nous nous sommes intéressés aux prescriptions hors recommandations en fonction des spécialités afin de savoir si une spécialité prescrivait plus d’examen (Figure 35) :

Spécialités	Prescriptions ayant une Ht < aux recommandations	% par spécialités sur les prescriptions totales
Médecine générale	55	44,72 %
Hématologie	70	43,48 %
Oncologie	20	32,79 %
Médecine interne	31	36,05 %
Médecine polyvalente	21	35,00 %
Autres	17	38,64 %
Indéterminé	2	40,00 %
Total	216	40,00 %

Figure 35 : Tableau des prescriptions hors recommandations dans la population au ^{99m}Tc.

Nous observons que la prescription hors recommandations est plus élevée dans les spécialités de Médecin générale et d'Hématologie par rapport aux autres avec 44,72 % et 43,48 %, soit près de la moitié des prescriptions totales.

B.1.4. Analyse du volume globulaire total et du nombre de malades

Enfin, un patient est considéré comme malade au-delà d'une augmentation de 125 % du VGT théorique. En dessous, il peut s'agir d'une polyglobulie secondaire ou d'une polyglobulie de Vaquez mais il faut la confirmation des autres critères diagnostics. On a donc divisé les résultats en 3 catégories : augmentation > 25 %, augmentation entre 15 et 25 % et augmentation < 15 %.

Parmi nos 540 patients, nous retrouvons (Figure 36) :

- 137 patients avec une augmentation du VGT théorique > 25 %, soit 25,37 % des patients
- 134 patients avec une augmentation du VGT théorique compris entre 15 et 25 %, soit 24,82 % des patients
- 269 patients avec une augmentation du VGT théorique < 15 %, soit 49,81 % des patients

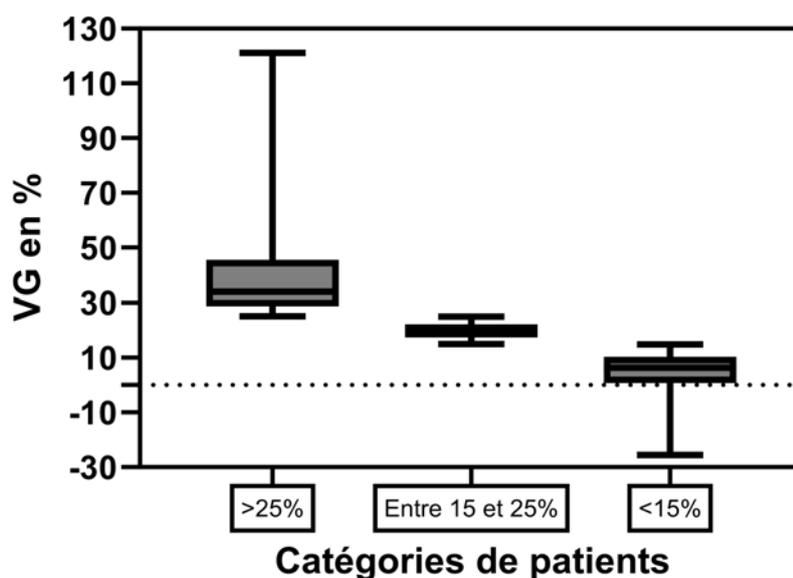


Figure 36 : Organisation des valeurs du VG de la population au ^{99m}Tc .

B.2. Données statistiques de la base de données au ^{51}Cr entre 2014 et 2017

B.2.1 Description de la population

Pour ces 4 années, nous avons 518 fichiers patients dont 445 hommes et 73 femmes. La répartition par année étant :

- 2014 : 159 patients dont 141 hommes et 18 femmes
- 2015 : 126 patients dont 109 hommes et 17 femmes
- 2016 : 139 patients dont 116 hommes et 23 femmes
- 2017 : 94 patients dont 79 hommes et 15 femmes

Pour ces 518 patients, on observe comme caractéristiques (Figure 37) :

^{51}Cr	518 patients	Écart-type
Âge moyen (ans)	58,21	14,95
IMC moyen (kg/m ²)	27,4	4,67
SC moyenne (m ²)	1,94	0,21
Ht moyenne (%)	52,32	4,35
VGT moyen (%)	10,52	19,54

Figure 37 : Tableau des caractéristiques de la population au ^{51}Cr .

B.2.2. Analyse des prescriptions

Parmi les prescriptions, nous avons analysé les spécialités des prescripteurs que nous avons séparés en 7 catégories (Médecine générale, Hématologie, Oncologie, Médecine interne, Médecine polyvalente, Autres et indéterminé) et dont les résultats observés (Figure 38) sont :

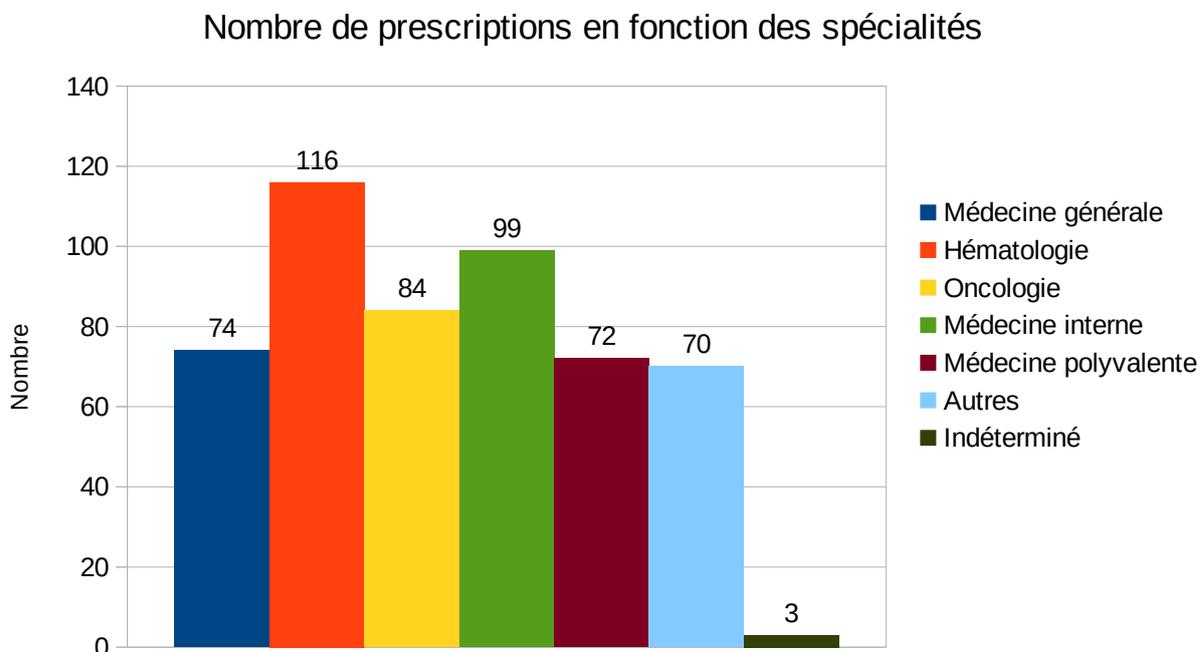


Figure 38 : Nombre de prescriptions en fonction des spécialités de prescripteurs pour l'examen de la masse sanguine au ⁵¹Cr.

On observe une prédominance de prescriptions pour l'Hématologie et la Médecine interne, prenant respectivement 22,39 % et 19,11 % des prescriptions. La médecine générale elle arrive 4^{ème} avec 14,29 % des prescriptions.

B.2.3. Conformité de l'hématocrite par rapport aux recommandations

Concernant les prescriptions, nous avons gardé comme critère d'analyse les patients ayant une hématocrite > 49 % chez les hommes et > 48 % chez les femmes, on observe alors dans cette cohorte de 518 patients (Figure 39) :

- Sur 445 hommes, on retrouve 380 hommes ayant une Ht > 49 %, soit 85,39 % et 65 hommes ayant une Ht < 49 %, soit 14,61 %.

- Sur 73 femmes, on retrouve 49 femmes ayant une Ht > 48 %, soit 67,12 % et 24 femmes ayant une Ht < 48 %, soit 32,88 %.

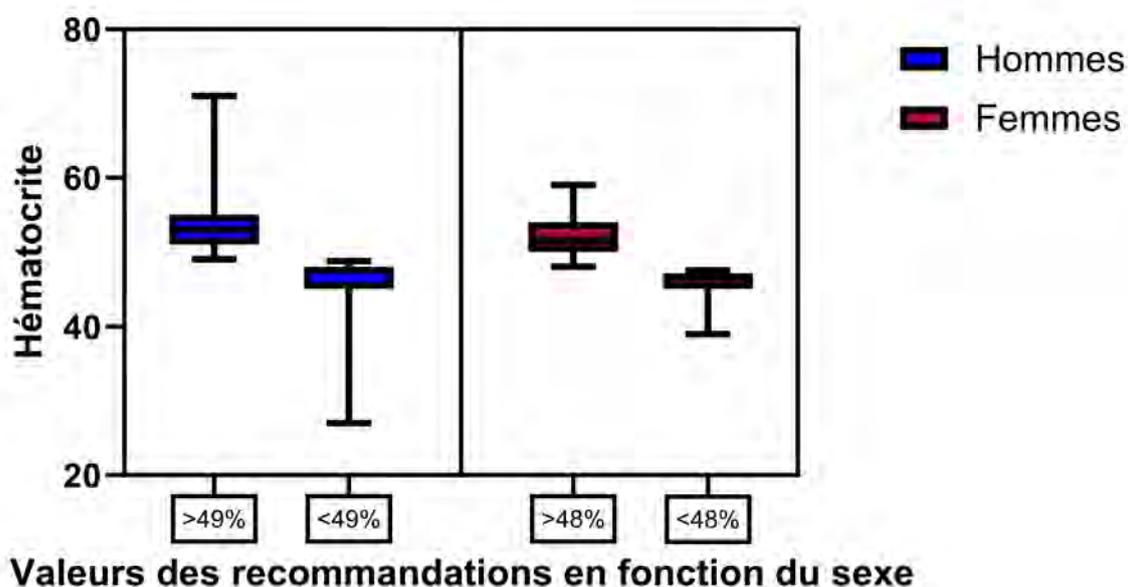


Figure 39 : Dispersion des valeurs d'hématocrite au ⁵¹Cr en fonction du sexe.

Dans cette population aussi, nous nous sommes intéressés aux prescriptions hors recommandations en fonction des spécialités afin de savoir si une spécialité prescrivait plus d'examen de masse sanguine (Figure 40) :

Spécialités	Prescriptions ayant une Ht < aux recommandations	% par spécialités sur les prescriptions totales
Médecine générale	14	18,92 %
Hématologie	11	9,48 %
Oncologie	15	17,86 %
Médecine interne	18	18,18 %
Médecine polyvalente	14	19,44 %
Autres	17	24,29 %
Total	89	17,18 %

Figure 40 : Tableau des prescriptions hors recommandations dans la population au ⁵¹Cr.

Nous observons que la prescription hors recommandations est plus faible dans la spécialité d'Hématologie par rapport aux autres avec 9,48 % contre le double dans les autres spécialités.

B.2.4. Analyse du volume globulaire total et du nombre de malades

Enfin, concernant l'étude du VGT théorique, nous avons gardé les mêmes catégories de résultats : augmentation > 25 % ; augmentation entre 15 et 25 % et augmentation < 15 %.

Sur nos 518 patients, on observe (Figure 41) :

- 84 patients présentant une augmentation du VGT théorique > 25 %, soit 16,22 % des patients
- 87 patients présentant une augmentation du VGT théorique comprise entre 15 et 25 %, soit 16,80 % des patients
- 347 patients présentant une augmentation du VGT théorique inférieure à 15 %, soit 69,98 % des patients

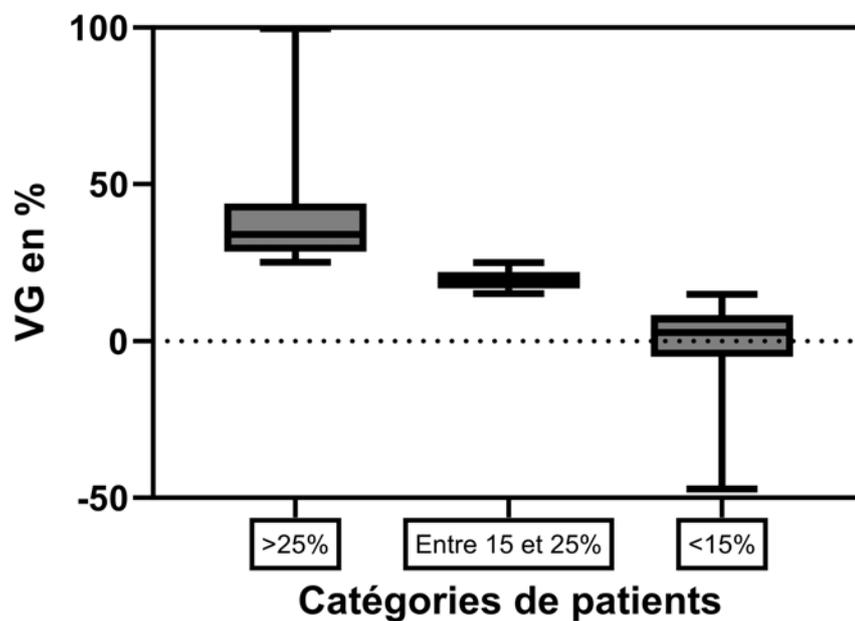


Figure 41 : Organisation des valeurs du VG de la population au ⁵¹Cr.

B.3. Comparaison des données

B.3.1. Données de l'ICSH et le CHU Purpan

B.3.1.1. Analyse des populations

Les données de l'ICSH faites par Pearson et al en 1995(129) ont pour référence 4 études : Huff & Feller de 1956(130) ; Wennesland et al de 1959(131) ; Brown et al de 1962(132) ; Retzlaff et al de 1969(133).

Nous avons comparé les caractéristiques des populations du CHU de Purpan et de la population théorique de l'ICSH (Figure 42) :

		ICSH		⁵¹ Cr		^{99m} Tc	
		283	171	445	73	440	110
		Hommes	Femmes	Hommes	Femmes	Hommes	Femmes
Âge (ans)	Moyen	31,79	34,72	57,76	61	58,39	58,98
	Écart-type	9,04	12,61	14,62	16,7	16,02	16,1
IMC (kg/m ²)	Moyen	23,88	22,43	27,71	25,49	27,92	27,02
	Écart-type	3,66	4,36	4,28	6,27	4,49	7,04
SC (m ²)	Moyenne	1,91	1,66	1,98	1,67	1,99	1,72
	Écart-type	0,15	0,14	0,18	0,2	0,19	0,23

Figure 42 : Tableau des caractéristiques de la population théorique de l'ICSH et des populations du CHU de Purpan.

Nous pouvons constater que la proportion d'hommes et de femmes est différente puisque la population de l'ICSH contient environ 20 % en plus de femmes que celles du CHU de Purpan.

On retrouve des différences au niveau de l'IMC moyen avec 4 kg/m² de plus dans nos populations, une SC moyenne plus grande d'environ 0,07 m² chez les hommes et 0,03 m² chez les femmes.

Enfin, on observe un âge moyen ayant presque 30 ans de différence entre la population théorique et nos populations, comme le démontre graphiquement (Figure 43) la répartition des patients : la densité représente la part de patients dans la tranche d'âge associée, en bleu l'ICSH, en rouge le ⁵¹Cr et en jaune le ^{99m}Tc.

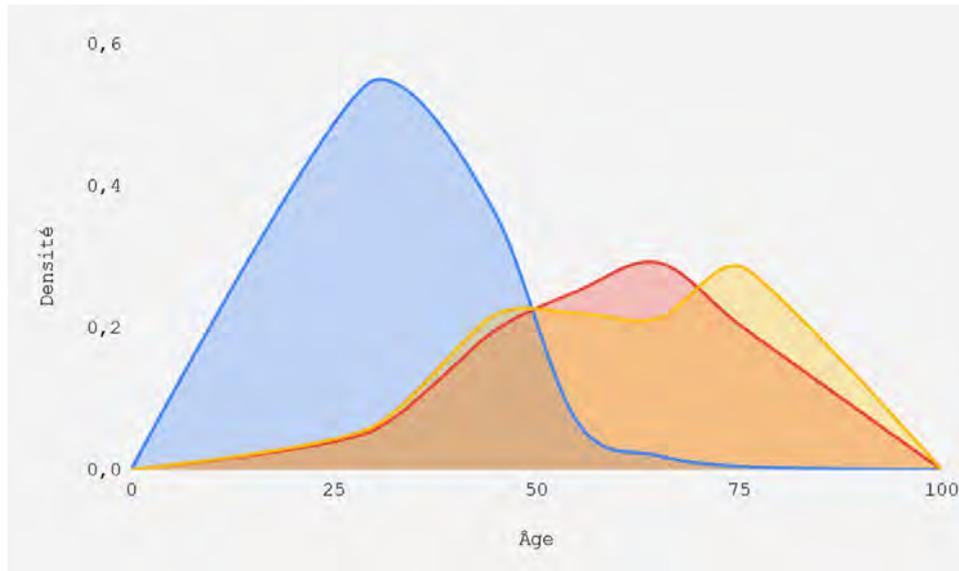


Figure 43 : Répartition des cohortes de patients en fonction de l'âge.

La population théorique ayant un âge médian de 30 ans et les populations du CHU de Purpan de 60,5 ans, la différence est visuellement significative. Alors que la majorité de la population théorique est âgée au maximum de 50 ans, les populations du CHU Purpan voient un équilibre entre 31 et 80 ans.

B.3.1.2. Comparaison des valeurs d'hématocrite

Nous avons pu aussi extraire les valeurs d'hématocrite chez les patients de la population de référence. On les a comparé à celles de nos populations (Figure 44) :

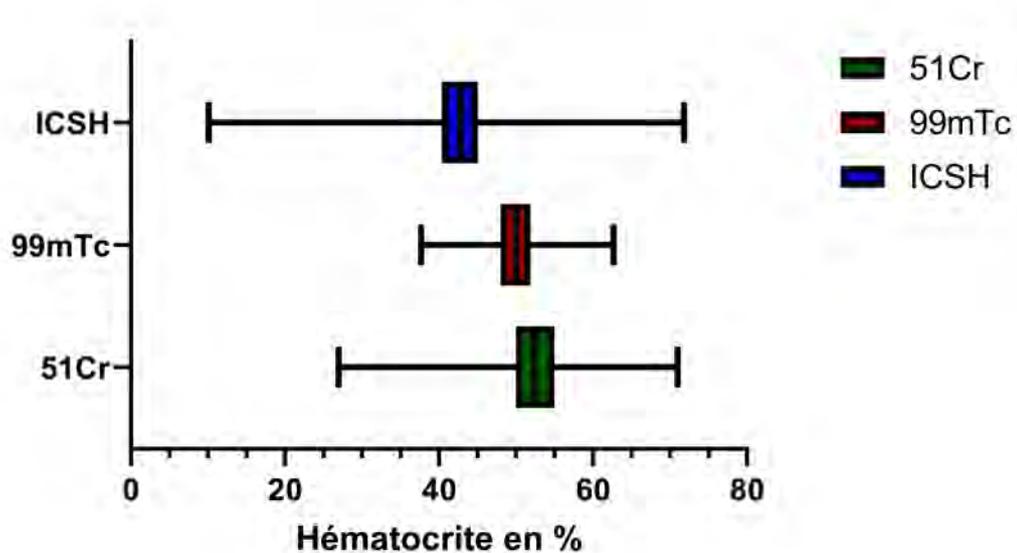


Figure 44 : Comparaison des valeurs d'hématocrite de l'ICSH au CHU Purpan.

Pour la population de l'ICSH, on observe : un minimum à 10,09, le 25 % percentile à 40,38, la médiane à 42,83, le 75 % percentile à 45,08 et enfin le maximum à 71,83. La valeur du coefficient de variation étant de 9,767 %.

Pour la population au ^{99m}Tc , on observe : un minimum à 37,70, le 25 % percentile à 48,00, la médiane à 50,00, le 75 % percentile à 51,90 et enfin le maximum à 62,70. La valeur du coefficient de variation étant de 6,657 %.

Pour la population au ^{51}Cr , on observe : un minimum à 27,00, le 25 % percentile à 50,00, la médiane à 52,50, le 75 % percentile à 55,00 et enfin le maximum à 71,00. La valeur du coefficient de variation étant de 8,321 %.

La population de l'ICSH est une population jeune et en bonne santé, c'est pourquoi ses valeurs d'hématocrite diffèrent autant de nos populations puisqu'elles sont dans les normes. Les caractéristiques morphologiques et d'âge de la population de référence sont très différentes de celles des malades.

B.3.2 Comparaison de données entre le ^{51}Cr et le ^{99m}Tc

B.3.2.1. Comparaison des valeurs du VGT

Dans nos populations, nous avons respectivement 540 patients pour l'examen au ^{99m}Tc et 518 patients pour l'examen au ^{51}Cr .

Dans la partie précédente, nous avons comparé les valeurs d'hématocrite entre les 3 populations. On observe sur la figure 45 une boîte à moustache légèrement inférieure pour le ^{99m}Tc vis-à-vis du ^{51}Cr et une différence de 2,50 % entre les valeurs médianes.

Ensuite, on a comparé les valeurs du VGT calculé (Figure 45) entre ces populations :

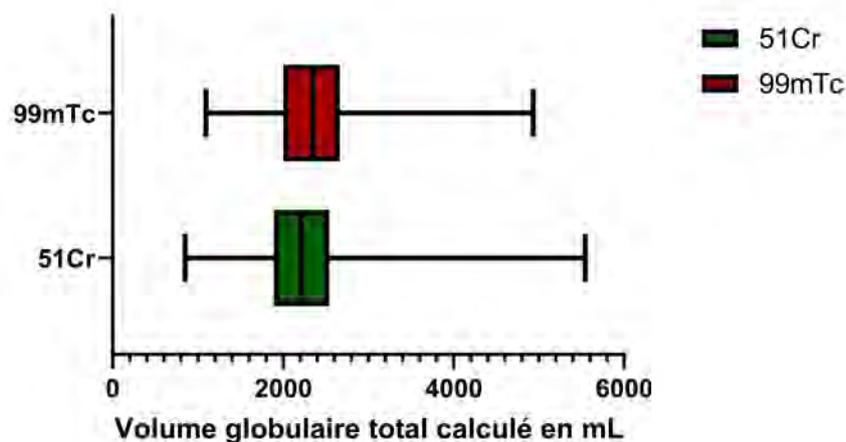


Figure 45 : Comparaison des valeurs de VGT calculé en mL en fonction des populations.

Pour la population au ^{99m}Tc , on observe : un minimum à 1095, le 25 % percentile à 2001, la médiane à 2350, le 75 % percentile à 2667 et enfin le maximum à 4934. La valeur du coefficient de variation étant de 22,94 %.

Pour la population au ^{51}Cr , on observe : un minimum à 852, le 25 % percentile à 1892, la médiane à 2212, le 75 % percentile à 2541 et enfin le maximum à 5544. La valeur du coefficient de variation étant de 24,56 %.

B.3.2.2. Comparaison des prescriptions hors recommandations

Dans les parties précédentes, nous nous sommes penchés sur le nombre de prescriptions ayant une hématoците inférieure aux recommandations dans chaque population que nous avons regroupé dans ce tableau (Figure 46) :

Spécialités	Prescriptions ayant une Ht < aux recommandations		% par spécialités sur les prescriptions totales	
	^{99m}Tc	^{51}Cr	^{99m}Tc	^{51}Cr
Médecine générale	55	14	44,72 %	18,92 %
Hématologie	70	11	43,48 %	9,48 %
Oncologie	20	15	32,79 %	17,86 %
Médecine interne	31	18	36,05 %	18,18 %
Médecine polyvalente	21	14	35,00 %	19,44 %
Autres	17	17	38,64 %	24,29 %
Indéterminé	2	0	40,00 %	0,00 %
Total	216	89	40,00 %	17,18 %

Figure 46 : Comparaison par spécialités des prescriptions hors recommandations d'hématoците dans les populations au ^{51}Cr et ^{99m}Tc .

La spécialité prescrivant le moins hors recommandations dans la population au ^{99m}Tc est l'Oncologie avec 32,79 % et celles prescrivant le plus sont la Médecine générale et

l'Hématologie avec 44,72 % et 43,48 %. La prescription totale hors recommandations de l'examen de la masse sanguine sur la population au ^{99m}Tc s'élève à 40 %.

La spécialité prescrivant le moins hors recommandations dans la population au ^{51}Cr est l'Hématologie avec 9,48 % tandis que les autres spécialités sont plus ou moins équivalentes à 18 %. La prescription totale hors recommandations de l'examen de la masse sanguine sur la population au ^{51}Cr s'élève à 17,18 %.

On observe donc une différence de 22,82 % de prescription hors recommandations entre les deux populations.

B.3.2.3. Comparaison du nombre de malades en fonction des prescriptions

A l'inverse, nous avons fait la comparaison des personnes malades ($\text{VG} > 25\%$) entre les 2 populations par rapport aux prescripteurs afin de savoir si une spécialité se démarque ou si l'on observe une différence entre les populations (Figure 47).

Spécialités	^{99m}Tc	% par spécialité sur le nombre total de malades	^{51}Cr	% par spécialité sur le nombre total de malades
Médecine générale	29	21,17 %	6	7,14 %
Hématologie	41	29,93 %	22	26,19 %
Oncologie	20	14,60 %	13	15,48 %
Médecine interne	14	10,22 %	16	19,05 %
Médecine polyvalente	18	13,14 %	14	16,67 %
Autres	12	8,76 %	12	14,29 %
Indéterminé	3	2,19 %	1	1,19 %
Total	137	100,00 %	84	100,00 %

Figure 47 : Tableau récapitulatif du nombre de malades ($\text{VG} > 25\%$) en fonction des prescripteurs.

On observe 29 prescriptions de médecine générale, soit 21,17 % dans la population au ^{99m}Tc contre 6 prescriptions, soit 7,14 % dans la population au ^{51}Cr .

On observe 41 prescriptions d'hématologie soit 29,93 % dans la population au ^{99m}Tc contre 22 prescriptions soit 26,19 % dans la population au ^{51}Cr .

L'hématologie et l'Oncologie font parties des spécialités pour l'examen de la masse sanguine, c'est pourquoi on les regroupe pour comparer à la médecine générale :

- ^{99m}Tc : 29 de médecine générale (21,17%) et 61 de spécialités (44,53%)

- ^{51}Cr : 6 de médecine générale (7,14%) et 35 de spécialités (41,67%)

La proportion de prescriptions de spécialistes parmi les malades n'a évolué que de 2,86 % alors que celle des prescriptions de médecine générale a évolué de 14,03 %.

B.3.2.4. Utilisation des tests statistiques pour comparer les populations et les méthodes au ^{51}Cr et ^{99m}Tc

Nous allons maintenant effectuer des tests statistiques sur nos 2 populations afin de savoir s'il y a une différence entre les populations (Figure 48) par rapport à l'Ht, puis sur le VGT avec un test de Student afin de déterminer si les méthodes de diagnostic présentent une différence ou non et enfin savoir s'il existe une corrélation entre les valeurs d'Ht et de VGT.

	540 patients - ^{99m}Tc		518 patients - ^{51}Cr	
	Valeurs	Écart-type	Valeurs	Écart-type
Âge moyen (ans)	58,68	16,02	58,21	14,95
Ht moyenne (%)	49,98	3,33	52,32	4,35
VGT moyen (%)	17,3	17,61	10,52	19,54

Figure 48 : Tableau récapitulatif des populations étudiées.

Afin de voir si nos populations sont homogènes, nous avons effectué un test F de Fisher pour déterminer l'homogénéité des variances et pouvoir ensuite effectuer un test de Student. L'hypothèse nulle (H0) du test stipule que les variances sont identiques, tandis que l'hypothèse alternative (H1) stipule que les variances sont différentes. Le test F génère une p value qui représente la probabilité de rejeter à tort une hypothèse qui est vraie. Si la p value

est inférieure au risque α (0,05), on rejette H_0 , les groupes sont donc statistiquement différents.

Nous avons effectué ce test d'abord sur l'hématocrite car cela ne dépend que des patients. On observe un test F ayant une valeur $p = 7,92612 \times 10^{-10}$, donc très inférieure au risque α de 0,05, on rejette l'hypothèse nulle et on observe une différence significative des variances entre les 2 populations. Étant donné que les variances ne sont pas homogènes, nous ne pouvons pas effectuer de test de Student afin de comparer les méthodes.

Suite à ce résultat, nous avons réduit nos effectifs dans nos populations dans un échantillon de 358 patients de chaque afin que celles-ci soient appariées (Figure 49).

	358 patients - ^{99m}Tc	358 patients - ^{51}Cr
	Valeurs	Valeurs
Ht moyenne (%)	50,5	50,5
VGT moyen (%)	20,7	8,08

Figure 49 : Tableau récapitulatif de l'échantillon de 358 patients des populations étudiées.

A la suite, nous avons effectué un test de Student (ou t-test) sur les valeurs du VGT, nous permettant de comparer les méthodes de diagnostic étant donné que les résultats du VGT dépendent des patients mais aussi de la méthode. Nous avons apparié nos populations sur le critère hématocrite afin de comparer les méthodes. Le test de Student est une méthode statistique utilisée pour comparer les moyennes de deux échantillons indépendants afin de déterminer s'il existe une différence significative entre elles. L'hypothèse nulle (H_0) stipule qu'il n'y a pas de différence significative entre les moyennes des deux échantillons tandis que l'hypothèse alternative (H_1) stipule qu'il y a une différence significative entre les moyennes des deux échantillons. Le test génère une p value, si la p value obtenue est inférieure au risque α (0,05), on rejette H_0 , les moyennes des deux échantillons sont donc statistiquement différentes.

Nous avons effectué le t-test et nous avons obtenu une valeur de $p < 0,0001$ qui est donc inférieure au risque α de 0,05. Nous rejetons l'hypothèse nulle et nous constatons une différence statistiquement significative entre les valeurs de VGT et donc des méthodes de diagnostic. La comparaison du VGT entre les examens ^{99m}Tc et ^{51}Cr a montré une différence de 12,6 % avec une valeur plus importante pour l'examen utilisant le ^{99m}Tc .

Enfin, afin d'examiner la relation entre l'hématocrite et le VGT calculé de chaque population, nous avons effectué une corrélation de Spearman sur l'ensemble de nos populations de 540 et 518 patients. La corrélation de Spearman est une mesure statistique utilisée pour évaluer la relation entre deux variables en utilisant le rang des données pour mesurer la monotonie entre les variables.

Le coefficient de Spearman (ρ) peut prendre une valeur comprise entre +1 et -1 :

- Une valeur ρ de +1 signifie une association parfaite de rang
- Une valeur ρ de 0 signifie qu'il n'y a pas d'association de rang
- Une valeur ρ de -1 signifie une association négative parfaite entre les rangs.

Plus la valeur ρ se rapproche de 0, plus l'association entre les deux rangs s'affaiblit.

Nous avons obtenus comme résultats :

$$- {}^{99m}\text{Tc} = 0,486$$

$$- {}^{51}\text{Cr} = 0,530$$

Étant donné que la valeur est supérieure à 0,1, on observe une corrélation entre l'Ht et le VGT. Pour le ${}^{99m}\text{Tc}$, il s'agira d'une corrélation de force moyenne (compris entre 0,3 et 0,5) et pour le ${}^{51}\text{Cr}$, il s'agira d'une corrélation de force élevée (compris entre 0,5 et 0,7).

Discussions

En 2018, on constatait l'apparition de 1163 nouveaux cas de polyglobulie de Vaquez chaque année en France . Il s'agit d'une maladie faisant partie des néoplasies myéloprolifératives, dont la fréquence et le nombre de cas ne sont pas à négliger. Durant les 30 dernières années, plusieurs examens de diagnostic sont apparus et se sont perfectionnés afin d'établir des recommandations, de les améliorer avec notamment l'étude des polyglobulies masquées, et de permettre une prise en charge optimale pour le patient. Bien que de nouveaux traitements soient apparus, permettant une prise en charge de plus en plus structurée et de soulager le patient dans ces symptômes, ceux-ci ne permettent qu'un allongement de l'espérance de vie, avec parfois des effets indésirables importants. Le pharmacien a un rôle important dans cette prise en charge, étant le professionnel de santé le plus accessible pour le patient, il a un rôle de conseils, d'explications et de relais auprès des autres professionnels de santé. De plus, au niveau hospitalier, c'est le pharmacien qui va avoir un rôle dans l'examen de la masse sanguine, notamment au CHU de Toulouse où c'est l'examen diagnostic de première intention. En effet, il effectue et supervise tout l'examen et recueille ensuite les données afin de les interpréter, en relation avec le médecin nucléaire, et d'établir le diagnostic de polyglobulie ou non.

Dans cette thèse, nous présentons les données pour les patients ayant effectué l'examen au ^{51}Cr entre 2014 et 2017 ainsi que ceux ayant effectué l'examen au $^{99\text{m}}\text{Tc}$ entre 2019 et 2022.

Nous observons que les populations étudiées au CHU de Toulouse Purpan entre 2014-2017 et 2017-2022 sont différentes de la population théorique de référence de l'ICSH. Les populations sont différentes au niveau de l'âge, de l'IMC, de la surface corporelle et des valeurs d'hématocrite. Nous pouvons donc penser que cette différence pourra se retrouver dans les autres centres en France faisant l'examen de la masse sanguine. Les calculs des valeurs théoriques du volume globulaire, du volume plasmatique et du volume sanguin total sont basés sur la population théorique de l'ICSH et nous permettent de déterminer le pourcentage d'augmentation du volume globulaire. Or, nos observations montrent que nos populations sont différentes de celle de référence. Nous pouvons nous questionner si cela n'engendre-t-il pas un biais de mesure concernant les valeurs calculées lors de l'examen, notamment l'augmentation du volume globulaire et donc du diagnostic de polyglobulie de Vaquez. Des travaux sont actuellement en cours sur cette thématique sur le Centre Jean Perrin de Clermont-Ferrand dont nous avons eu une présentation (Mailys Ragot.et al) pour le 12^{ème} rendez-vous de la société française de radiopharmacie(134).

Entre 2014 et 2017, correspondant à la population ayant reçu l'examen au ^{51}Cr , nous retrouvons un pourcentage de prescriptions hors recommandations allant de 9,48 à 24,29 % en fonction des spécialités, pour un total de 17,18 % de prescriptions hors recommandations sur l'ensemble de la population. Entre 2019 et 2022, correspondant à la population ayant reçu l'examen au $^{99\text{m}}\text{Tc}$, nous retrouvons un pourcentage de prescriptions hors

recommandations allant de 32,79 à 44,72 % en fonction des spécialités, pour un total de 40 % de prescriptions hors recommandations sur l'ensemble de la population. Nous constatons ainsi une différence de 22,82 % du nombre de prescriptions hors recommandations entre les populations au ^{51}Cr et au $^{99\text{m}}\text{Tc}$.

Nous pouvons nous interroger sur une possible dérive temporelle des prescripteurs qui seraient moins enclins à respecter les recommandations de l'OMS mais aussi sur la modification de ces recommandations en 2016 suite aux études sur les polyglobulies masquées ayant entraîné un abaissement du seuil d'hémoglobine de 2 g/dL et l'instauration du critère d'hématocrite. En effet, une partie de nos prescriptions entre 2014 et 2017 suivaient donc les recommandations de l'OMS de 2008. Cela pourrait expliquer le nombre de prescriptions plus faible ainsi que des valeurs d'hématocrite plus élevées que l'on a constaté dans cette population.

Autre facteur, entre les deux populations le nombre de prescriptions de Médecine générale a augmenté de 8,49 %. Les médecins généralistes peuvent ne pas avoir été formés aux recommandations de prescription de l'examen de la masse sanguine contrairement aux spécialistes. Cela n'explique cependant pas la hausse de 34 %, entre les 2 populations, de prescriptions hors recommandations de la part des hématologues qui connaissent les recommandations. Cela peut provenir d'un changement de génération de prescripteurs ou encore de prescripteurs ne souhaitant pas passer à côté d'une polyglobulie, comme l'a relevé l'étude de 2014 sur les polyglobulies masquées, entraînant un changement des recommandations de l'OMS en 2016.

Il serait intéressant de savoir si pour les 6 patients de chaque population ayant des valeurs d'Ht très basses (< 40%), l'indication de la prescription était une recherche de polyglobulie ou une recherche de pseudo anémie liée à une expansion du volume plasmatique, ce qui expliquerait cette baisse importante.

Nous observons une augmentation du nombre et du taux de cas positifs entre la période 2014-2017 et 2017-2022 malgré la baisse de la conformité des prescriptions avec des hématocrites moyennes plus basse que celle mentionnées dans les recommandations de l'OMS.

Nous avons constaté également une différence de 12,4 % pour la comparaison du VGT entre les examens au ^{51}Cr et $^{99\text{m}}\text{Tc}$ avec une valeur plus importante pour l'examen utilisant le $^{99\text{m}}\text{Tc}$.

Concernant les modes opératoires des 2 méthodes, nous avons pu remarquer que celui au ^{51}Cr est moins technique que celui au $^{99\text{m}}\text{Tc}$. En effet, en raison de la demi-vie de l'isotope utilisé (6 heures pour le $^{99\text{m}}\text{Tc}$ et 27,7 jours pour le ^{51}Cr) ainsi que de la différence de fixation sur les hématies (fixation directe et forte aux chaînes β de l'hémoglobine pour le ^{51}Cr alors qu'il faut saturer les hématies avec du PYP avant d'introduire le $^{99\text{m}}\text{Tc}$ pour qu'il soit réduit et se fixe aux chaînes de l'hémoglobine à seulement 20 %, les 80 % restant au niveau du cytoplasme et de la membrane plasmique de l'hématie), l'examen au ^{51}Cr présente une meilleure stabilité, moins de manipulation et pas de risque d'élution du MRP par rapport à

l'examen au ^{99m}Tc . La constatation de l'augmentation de patients ayant un VGT > 25 % avec le ^{99m}Tc alors que les prescriptions conformes sont inférieures laisserait penser à une surestimation de la méthode. On retrouve cette observation dans d'autres études(135) (136).

Il serait intéressant également de regarder parmi nos populations quels patients ont effectué un test JAK2 avant de venir faire l'examen de la masse sanguine. En effet, l'évolution des critères de l'OMS pour le diagnostic de la PV ainsi que les guidelines des différentes sociétés d'hématologies mondiales ont fait passer au premier rang comme critère majeur la mutation JAK2 V617F. Au CHU de Toulouse, l'examen effectué en première intention est celui de la masse sanguine, les patients arrivant généralement sans avoir fait de dosage d'EPO ni de recherche de mutation JAK2. Dans d'autres centres, l'examen de la masse sanguine ne sera effectué qu'après une recherche de mutation JAK2. Aujourd'hui, on a la possibilité de faire un examen de la masse sanguine pour un coût d'environ 80€ et celui-ci est pris en charge par la sécurité sociale et les mutuelles. Le coût d'un dosage JAK2 est d'environ une centaine d'euros (entre 100 et 300€) en fonction des centres et laboratoires mais celui-ci n'est pas pris en charge par la sécurité sociale en France. Il est en revanche inscrit sur la liste complémentaire du référentiel des actes innovants hors nomenclatures(137) (138), ce qui signifie qu'afin de ne pas pénaliser le patient dans la réalisation de l'examen et ne pas générer de perte de chance, l'examen est pris en charge de manière transitoire s'il est prescrit par un établissement de santé en attendant la validation ou non par la haute autorité de santé d'une prise en charge ultérieure de droit commun par la collectivité. Cette prise en charge a pour valorisation maximale 116,10€. Devant la présence d'une mutation de JAK2 dans 95 % des cas de PV mais aussi dans d'autres NMP, on peut se questionner sur la pertinence du dosage et de sa prise en charge par la sécurité sociale. Le séquençage de nouvelle génération permet de découvrir chaque jour de nouveaux mécanismes pour des maladies et l'utilisation courante de celui-ci ainsi que son perfectionnement permet de faire diminuer les coûts des différents tests.

Conclusion

Cette thèse fait un état des lieux de la prise en charge de la polyglobulie de Vaquez, notamment de la prise en charge à l'officine et le rôle du pharmacien. Elle contient également une étude sur le critère diagnostique de volémie isotopique et une comparaison de populations du CHU de Toulouse entre la technique au ^{51}Cr et la technique au $^{99\text{m}}\text{Tc}$.

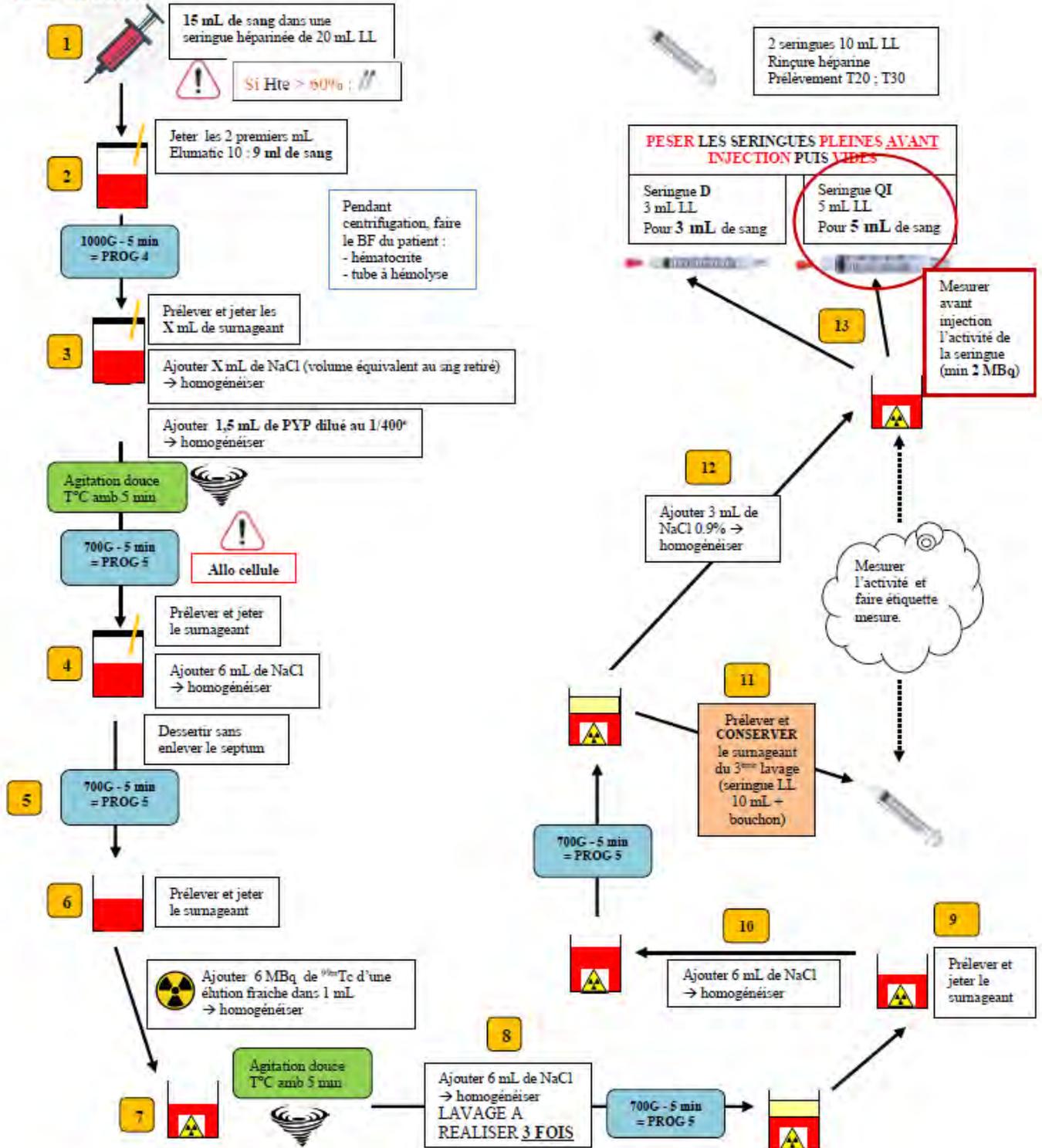
Annexes

- Annexe 1 : Tableau récapitulatif de l'évolution des critères de diagnostic de la PV.

	Critères du PVSG modifiés par Pearson en 1996	Critères de l'OMS en 2001	Critères de l'OMS en 2008	Critères de l'OMS en 2016
Critères majeurs	<p>1- Ht > 60% chez l'homme, Ht > 56% chez la femme ou VGT > 25% de la valeur théorique</p> <p>2- Pas de cause de polyglobulie secondaire</p> <p>3- Splénomégalie clinique</p> <p>4- Marqueur de clonalité</p>	<p>1- Hb > 18,5 g/dL chez l'homme, Ht > 16,5 g/dL chez la femme ou VGT > 25% de la valeur théorique</p> <p>2- Pas de cause de polyglobulie secondaire</p> <p>3- Splénomégalie clinique</p> <p>4- Anomalie cytogénétique clonale (sauf chromosome Phi)</p> <p>5- Pousse spontanée de colonies érythroblastiques en culture</p>	<p>1- Hb > 18,5 g/dL chez les hommes/Hb > 16,5 g/dL chez les femmes ou VGT > 25% de la valeur théorique</p> <p>2- Présence de JAK2 V617F ou d'une autre mutation fonctionnellement similaire telle que la mutation JAK2 exon 12</p>	<p>1- Hb > 16,5 g/dL chez les hommes/Hb > 16,0 g/dL chez les femmes, ou Hct > 49 % chez les hommes/Hct > 48 % chez les femmes, ou VGT > 25% de la valeur théorique</p> <p>2- Biopsie de BM montrant une hypercellularité en fonction de l'âge avec une croissance des trois lignées (panmyélose), y compris une prolifération érythroïde, granulocytaire et mégacaryocytaire proéminente avec des mégacaryocytes pléomorphes, matures (différences de taille) ;</p> <p>3- Présence de mutation JAK2 V617F ou JAK2 exon 12</p>
Critères mineurs	<p>1- Thrombocytose > 400 G/L</p> <p>2- Hyperleucocytose à PNN > 10 G/L</p> <p>3- Splénomégalie radiologique</p> <p>4- Pousse spontanée de colonies érythroblastiques en culture ou EPO sérique basse</p>	<p>1- Thrombocytose > 400 G/L</p> <p>2- Hyperleucocytose > 12 G/L</p> <p>3- Panmyélose avec prolifération érythroïde et mégacaryocytaire à la biopsie médullaire</p> <p>4- EPO sérique basse</p>	<p>1- Biopsie de la moelle osseuse montrant une hypercellularité en fonction de l'âge avec une croissance des trois lignées (panmyélose) et une prolifération érythroïde, granulocytaire et mégacaryocytaire importante</p> <p>2- Taux sérique d'EPO inférieur à la normale</p> <p>3- Formation de colonies érythroïdes endogènes in vitro</p>	<p>- Taux sérique d'EPO inférieur à la normale</p>
Critères requis pour le diagnostic	<p>- 3 critères majeurs</p> <p>- 2 critères majeurs et 2 mineurs</p>	<p>- 3 critères majeurs</p> <p>- 2 critères majeurs et 2 mineurs</p>	<p>- 2 critères majeurs et 1 mineur</p> <p>- Le 1^{er} critère majeur et 2 mineurs</p>	<p>- Les 3 critères majeurs</p> <p>- 2 critères majeurs et le mineur</p>

- Annexe 2 : Logigramme d'illustration de la manipulation de marquage au ^{99m}Tc.

V - LOGIGRAMME



- Annexe 3 : Questionnaire patient à remplir lors de l'examen de la masse sanguine.



Formulaire	Page n°1 sur 3
Fiche d'interrogatoire patient lors du marquage des érythrocytes dans le cadre de la mesure du volume globulaire total ("masse sanguine")	Version : 1 Date d'application : 13/02/2023 Indexation : PHAR-FO-089

Date de l'examen :

Nom :

Prénom :

Date de naissance :



1) Avant l'examen (24-48h avant)

- Si patient externe :
 - prise de contact téléphonique réussie OUI NON
 - Rappel date et heure du rendez-vous OUI NON
 - Rappel au patient d'être à jeun OUI NON
 - Fumez-vous (NE PAS FUMER 1 heure AVANT) OUI NON
 - Saignée ou don de sang (> 10 j) OUI NON
 - Allergie à l'héparine OUI NON
 - Bilan biologique réalisé OUI NON
 - Valeurs biologiques communiquées (si OUI remplir encadré Valeurs biologiques) OUI NON
- Si patient hospitalisé : consultation du bilan sur le SRI
 - Bilan disponible (si OUI remplir encadré Valeurs biologiques) OUI NON

Valeurs biologiques du / /
- Hb (g/dL) :
- Hte (%) :
- TDK ? :

- Difficultés rencontrées lors de prélèvements sanguins OUI NON
- Explication du déroulement de l'examen OUI NON

Initiales :

Date :

Formulaire	Page n°2 sur 3
Fiche d'interrogatoire patient lors du marquage des érythrocytes dans le cadre de la mesure du volume globulaire total ("masse sanguine")	Version : 1 Date d'application : 13/02/2023 Indexation : PHAR-FO-089

QUESTIONNAIRE le jour de l'examen

1) Taille : _____ Poids : _____

2) Facultatif : Etes-vous enceinte ou allaitez-vous ? oui non

3) Etes-vous à jeun ? oui non

4) Avez-vous un bilan sanguin récent ?
 Hématocrite : _____ Hémoglobine : _____
 EPO : _____ Mutation JAK 2 : oui non
 Saignée ? (min 10 jours) : _____ Don de sang : _____
 Signes cliniques ? (prurit à l'eau, acouphènes, érythrose faciale, ..)

5) Quelle profession exercez-vous ?
 Etes-vous exposé à des produits toxiques ? oui non

6) Fumez-vous ? (NE PAS FUMER 1h AVANT) oui non

7) Passez vous fréquemment des séjours en haute altitude (>2500 m) ? oui non

8) Etes-vous allergique à un médicament ? oui non
 Si oui lesquels ? (attention Héparine®)

9) Suivez-vous un traitement ? oui non
 Attention Diurétiques et Laxatifs (risque d'Hémoconcentration)

Médicament	Posologie	Début et fin traitement	Médicament	Posologie	Début et fin traitement

10) Avez-vous des questions supplémentaires ou voulez-vous qu'on vous réexplique?
 Interrogatoire réalisé par : _____ signature : _____

MARQUAGE CELLULAIRE

Préparation des seringues :

Héparine : Lot _____
 Périemption _____

PYP® : Lot _____
 Périemption _____

Prélèvement 1 : Valeur de l'hématocrite : _____

Injection : Heure : _____
 Site : _____

	Poids seringue pleine	Poids seringue vide
Seringue 5ml		
Seringue 3 ml		

Prélèvement 20 min après injection : Heure : _____ Valeur de l'hématocrite : _____ En direct : O / N

- Annexe 4 : Matériel nécessaire à la mesure de l'hématocrite et comptage de la radioactivité dans le laboratoire de contrôle

5) Dans le laboratoire de contrôle

a. Préparation de la paillasse

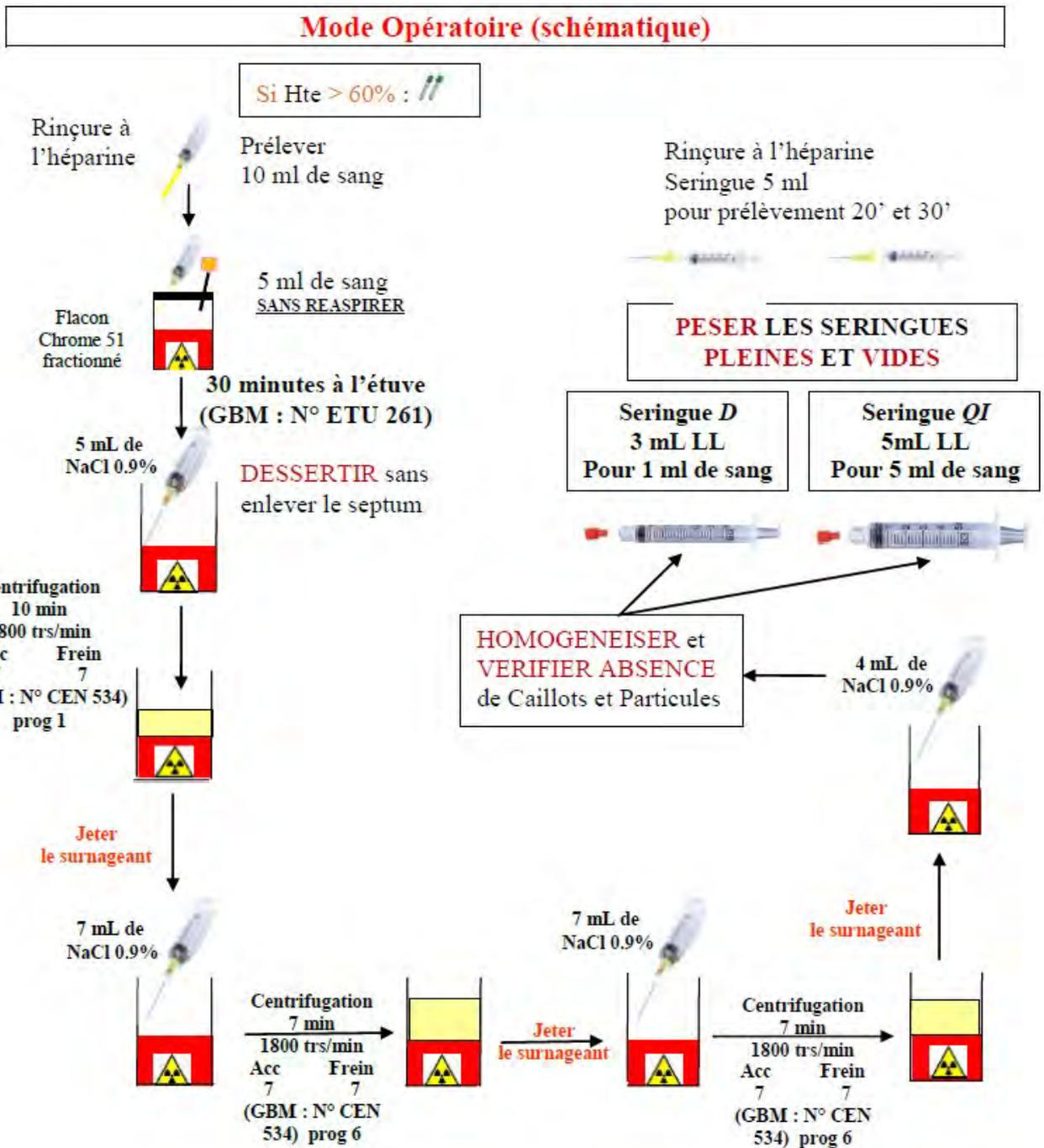
- Préparer un portoir avec 14 tubes à hémolyse + 1 porte-tube blanc vide identifiés avec le nom du patient :
 - D1 à D3 : 1 mL de la dilution
 - MP = mouvement propre de la machine : tube vide
 - BF = bruit de fond : 1 mL de sang avant marquage
 - ST 20' x2 : 1 mL de sang total de la seringue T20
 - ST 30' x2 : 1 mL de sang total de la seringue T30
 - SNG 20' x2 : 1 mL de surnageant de la seringue T20
 - SNG 30' x2 : 1 mL de surnageant de la seringue T30



Mode Opérateur	Page n°7 sur 9
Marquage des hématies in vitro et mesure du volume globulaire total ("Masse Sanguine")	Version : 1 Date d'application : 06/03/2023 Indexation : PHAR-MO-201

- KT : cathéter rose ayant servi à l'injection
- Porte tube blanc vide : valve anti-retour ayant servi à l'injection
- Installer sur la paillasse 3 Falcon® de 15 mL identifiés BF, T20, T30 sur un portoir, 1 fiole jaugée de 500 mL + un bécher de 500 mL, des compresses non stériles, 6 capillaires avec pâte à scellement pour réaliser les hématocrites (2 pour le BF, 2 pour T20 et 2 pour T30).

- Annexe 5 : Schéma du mode opératoire du marquage au ^{51}Cr .



Bibliographie

1. Thèse sur la dynamique des CSH de Mr PARMENTIER Romuald.pdf.
2. Édition professionnelle du Manuel MSD [Internet]. [cité 14 nov 2023]. Production des globules rouges - Hématologie et oncologie. Disponible sur: <https://www.msdmanuals.com/fr/professional/h%C3%A9matologie-et-oncologie/prise-en-charge-du-patient-an%C3%A9mique/production-des-globules-rouges>
3. Passegué E, Jamieson CHM, Ailles LE, Weissman IL. Normal and leukemic hematopoiesis: are leukemias a stem cell disorder or a reacquisition of stem cell characteristics? Proc Natl Acad Sci U S A. 30 sept 2003;100 Suppl 1(Suppl 1):11842-9.
4. hématopoïèse, vitamines B12, folates, B9, les facteurs de croissance [Internet]. [cité 3 sept 2023]. Disponible sur: <https://www.toutsurlatransfusion.com/transfusion-sanguine/medecine-transfusionnelle/notions-d-hematologie.php>
5. Carde P. [Inhibitors of hematopoiesis: from physiology to therapy]. Bull Acad Natl Med. mai 1994;178(5):793-803; discussion 804-806.
6. Mayani H, Little MT, Dragowska W, Thornbury G, Lansdorp PM. Differential effects of the hematopoietic inhibitors MIP-1 alpha, TGF-beta, and TNF-alpha on cytokine-induced proliferation of subpopulations of CD34+ cells purified from cord blood and fetal liver. Exp Hematol. mai 1995;23(5):422-7.
7. Ah-Son N. Rôle du facteur de transcription BP1 dans la régulation des gènes du locus humain de β -globine.
8. Anémie-définition-classification, Pr. De Mas V..pdf.
9. LAB2U. LES GLOBULES ROUGES [Internet]. LAB2U. 2019 [cité 4 sept 2023]. Disponible sur: <https://www.lab2u.fr/les-globules-rouges/>
10. Édition professionnelle du Manuel MSD [Internet]. [cité 4 sept 2023]. Production des globules rouges - Hématologie et oncologie. Disponible sur: <https://www.msdmanuals.com/fr/professional/h%C3%A9matologie-et-oncologie/prise-en-charge-du-patient-an%C3%A9mique/production-des-globules-rouges>
11. Erythroïèse | HEMATOCELL [Internet]. [cité 12 sept 2023]. Disponible sur: <https://hematocell.fr/globules-rouges-et-leur-pathologie/erythroipoiese>
12. Guyader ML, Garçon L. Les vitamines B9 et B12 : rôle métabolique, étiologies et conséquences des carences, méthodes d'exploration et recommandations nutritionnelles. Rev Francoph Lab. 1 juill 2019;2019(514):55-64.
13. Masson E. EM-Consulte. [cité 7 sept 2023]. Érythropoïétine. Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/976371/erythropoietine>
14. Fouquet G. Régulation de l'érythroïèse : rôle des récepteurs à la transferrine et d'un phytoestrogène [Internet] [phdthesis]. Université Paris Saclay (COMUE); 2019 [cité 12 sept 2023]. Disponible sur: <https://theses.hal.science/tel-02527171>
15. Zhang Z, Zhang R, Joachimiak A, Schlessinger J, Kong XP. Crystal structure of human stem cell factor: Implication for stem cell factor receptor dimerization and activation. Proc Natl Acad Sci U S A. 5 juill 2000;97(14):7732-7.
16. Roskoski R. Signaling by Kit protein-tyrosine kinase--the stem cell factor receptor. Biochem Biophys Res Commun. 11 nov 2005;337(1):1-13.
17. Tsiftoglou AS, Vizirianakis IS, Strouboulis J. Erythropoiesis: Model systems, molecular regulators, and developmental programs. IUBMB Life. 2009;61(8):800-30.

18. Robert J. Les inhibiteurs de tyrosine kinase. *Bull Cancer (Paris)*. 1 nov 2011;98(11):1321-34.
19. Coulon S. Rôle des Immunoglobulines A1 dans la régulation positive de l'érythropoïèse. In 2009 [cité 15 sept 2023]. Disponible sur: <https://www.semanticscholar.org/paper/R%C3%B4le-des-Immunoglobulines-A1-dans-la-r%C3%A9gulation-de-Coulon/de6d2b2b6f309f16f88fa0a51694f0d70dfd5d86>
20. Lin FK, Suggs S, Lin CH, Browne JK, Smalling R, Egrie JC, et al. Cloning and expression of the human erythropoietin gene. *Proc Natl Acad Sci U S A*. nov 1985;82(22):7580-4.
21. Jacobs K, Shoemaker C, Rudersdorf R, Neill SD, Kaufman RJ, Mufson A, et al. Isolation and characterization of genomic and cDNA clones of human erythropoietin. *Nature*. 28 mars 1985;313(6005):806-10.
22. Goldwasser E, Kung CK, Eliason J. On the mechanism of erythropoietin-induced differentiation. 13. The role of sialic acid in erythropoietin action. *J Biol Chem*. 10 juill 1974;249(13):4202-6.
23. Bunn HF. Erythropoietin. *Cold Spring Harb Perspect Med*. mars 2013;3(3):a011619.
24. Souma T, Suzuki N, Yamamoto M. Renal erythropoietin-producing cells in health and disease. *Front Physiol*. 3 juin 2015;6:167.
25. Tan CC, Eckardt KU, Ratcliffe PJ. Organ distribution of erythropoietin messenger RNA in normal and uremic rats. *Kidney Int*. juill 1991;40(1):69-76.
26. Dine G, Fumagalli G, Van Lierde F, Genty V. Érythropoïèse et métabolisme du fer: interactions et applications biomédicales. *Bio Trib Mag*. 1 mars 2010;34(1):22-32.
27. Chambellan A, Coulon S, Cavailles A, Hermine O, Similowski T. BPCO et érythropoïèse : interactions et conséquences. *Rev Mal Respir*. 1 févr 2012;29(2):213-31.
28. Haase VH. Regulation of erythropoiesis by hypoxia-inducible factors. *Blood Rev*. janv 2013;27(1):41-53.
29. Qu H, Yu Q, Jia B, Zhou W, Zhang Y, Mu L. HIF-3 α affects preeclampsia development by regulating EVT growth via activation of the Flt-1/JAK/STAT signaling pathway in hypoxia. *Mol Med Rep*. janv 2021;23(1):68.
30. Tsiftoglou AS. Erythropoietin (EPO) as a Key Regulator of Erythropoiesis, Bone Remodeling and Endothelial Transdifferentiation of Multipotent Mesenchymal Stem Cells (MSCs): Implications in Regenerative Medicine. *Cells*. 20 août 2021;10(8):2140.
31. ResearchGate [Internet]. [cité 14 nov 2023]. Figure 4. Liaison de l'EPO à son récepteur, changement de conformation... Disponible sur: https://www.researchgate.net/figure/Liaison-de-lEPO-a-son-recepteur-changement-de-conformation-et-phosphorylation-des_fig3_340477944
32. Barbui T, Thiele J, Gisslinger H, Kvasnicka HM, Vannucchi AM, Guglielmelli P, et al. The 2016 WHO classification and diagnostic criteria for myeloproliferative neoplasms: document summary and in-depth discussion. *Blood Cancer J*. 9 févr 2018;8(2):15.
33. Globules rouges • Taux d'hémoglobine (Hb) • Hématocrite (Ht) Ht - ppt video online télécharger [Internet]. [cité 21 sept 2023]. Disponible sur: <https://slideplayer.fr/slide/506055/>
34. Moulard O, Mehta J, Fryzek J, Olivares R, Iqbal U, Mesa RA. Epidemiology of myelofibrosis, essential thrombocythemia, and polycythemia vera in the European Union. *Eur J Haematol*. 2014;92(4):289-97.
35. Elsevier. Elsevier Connect. [cité 1 oct 2023]. Hématologie pour réussir le concours de l'internat en pharmacie. Disponible sur:

- <https://www.elsevier.com/fr-fr/connect/etudes-de-medecine/hematologie-pour-reussir-le-concours-de-linternat-en-pharmacie>
36. Survie des personnes atteintes de cancer en France métropolitaine 1989 2018 POLYGLOBULIE DE VAQUEZ-1.pdf.
 37. InfoCancer - ARCAGY - GINECO - Les localisations - Hémopathies malignes (cancers du sang) - Syndromes myéloïdes - Les syndromes myéloprolifératifs - La maladie (polyglobulie) de Vaquez [Internet]. [cité 21 sept 2023]. Disponible sur: <http://www.arcagy.org/infocancer/localisations/hemopathies-malignes-cancers-du-sang/syndromes-my-lo-des/les-syndromes-myeloproliferatifs/la-maladie-de-vaquez.html/>
 38. Berk PD, Goldberg JD, Donovan PB, Fruchtman SM, Berlin NI, Wasserman LR. Therapeutic recommendations in polycythemia vera based on Polycythemia Vera Study Group protocols. *Semin Hematol.* avr 1986;23(2):132-43.
 39. Levine RL, Pardanani A, Tefferi A, Gilliland DG. Role of JAK2 in the pathogenesis and therapy of myeloproliferative disorders. *Nat Rev Cancer.* sept 2007;7(9):673-83.
 40. James C, Ugo V, Le Couédic JP, Staerk J, Delhommeau F, Lacout C, et al. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera. *Nature.* avr 2005;434(7037):1144-8.
 41. Pardanani A, Lasho TL, Finke C, Hanson CA, Tefferi A. Prevalence and clinicopathologic correlates of JAK2 exon 12 mutations in JAK2V617F-negative polycythemia vera. *Leukemia.* sept 2007;21(9):1960-3.
 42. Passamonti F, Elena C, Schnittger S, Skoda RC, Green AR, Girodon F, et al. Molecular and clinical features of the myeloproliferative neoplasm associated with JAK2 exon 12 mutations. *Blood.* 10 mars 2011;117(10):2813-6.
 43. Regimbeau M, Mary R, Hermetet F, Girodon F. Genetic Background of Polycythemia Vera. *Genes.* 2 avr 2022;13(4):637.
 44. Staerk J, Constantinescu SN. The JAK-STAT pathway and hematopoietic stem cells from the JAK2 V617F perspective. *JAK-STAT.* 1 juill 2012;1(3):184-90.
 45. Gold LI, Eggleton P, Sweetwyne MT, Van Duyn LB, Greives MR, Naylor SM, et al. Calreticulin: non-endoplasmic reticulum functions in physiology and disease. *FASEB J.* mars 2010;24(3):665-83.
 46. Broséus J, Park JH, Carillo S, Hermouet S, Girodon F. Presence of calreticulin mutations in JAK2-negative polycythemia vera. *Blood.* 18 déc 2014;124(26):3964-6.
 47. Pardanani AD, Levine RL, Lasho T, Pikman Y, Mesa RA, Wadleigh M, et al. MPL515 mutations in myeloproliferative and other myeloid disorders: a study of 1182 patients. *Blood.* 15 nov 2006;108(10):3472-6.
 48. Tong W, Zhang J, Lodish HF. Lnk inhibits erythropoiesis and Epo-dependent JAK2 activation and downstream signaling pathways. *Blood.* 15 juin 2005;105(12):4604-12.
 49. McMullin MF, Cario H. LNK mutations and myeloproliferative disorders. *Am J Hematol.* févr 2016;91(2):248-51.
 50. Tefferi A, Lasho TL, Guglielmelli P, Finke CM, Rotunno G, Elala Y, et al. Targeted deep sequencing in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Blood Adv.* 29 nov 2016;1(1):21-30.
 51. Wang H, Tang C, Dang Z, Yong A, Liu L, Wang S, et al. Clinicopathological characteristics of high-altitude polycythemia-related kidney disease in Tibetan inhabitants. *Kidney Int.* 1 juill 2022;102(1):196-206.

52. Charache S, Weatherall DJ, Clegg JB. Polycythemia associated with a hemoglobinopathy. *J Clin Invest.* juin 1966;45(6):813-22.
53. Mallik N, Das R, Malhotra P, Sharma P. Congenital erythrocytosis. *Eur J Haematol.* 2021;107(1):29-37.
54. Nguyen E, Harnois M, Busque L, Sirhan S, Assouline S, Chamaki I, et al. Phenotypical differences and thrombosis rates in secondary erythrocytosis versus polycythemia vera. *Blood Cancer J.* 15 avr 2021;11(4):75.
55. Fox S, Griffin L, Harris DR. Polycythemia Vera: Rapid Evidence Review. *Am Fam Physician.* 1 juin 2021;103(11):680-7.
56. McMullin MF, Harrison CN, Ali S, Cargo C, Chen F, Ewing J, et al. A guideline for the diagnosis and management of polycythaemia vera. A British Society for Haematology Guideline. *Br J Haematol.* 2019;184(2):176-91.
57. Langabeer SE. Absence of Polycythemia Vera in Postrenal Transplant Erythrocytosis. *Exp Clin Transplant.* oct 2020;18(5):657-8.
58. Thomas N, Yohannan B, Sridhar A, Rios A. MPN-166 Myeloproliferative Neoplasm (MPN) Post-Renal Transplant (RT)-A Single-Center Review. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* oct 2022;22 Suppl 2:S328.
59. Édition professionnelle du Manuel MSD [Internet]. [cité 29 sept 2023]. Polyglobulie essentielle - Hématologie et oncologie. Disponible sur: <https://www.msdmanuals.com/fr/professional/h%C3%A9matologie-et-oncologie/syndromes-my%C3%A9loprolif%C3%A9ratifs/polyglobulie-essentielle>
60. JAK2.pdf [Internet]. [cité 29 sept 2023]. Disponible sur: <https://www.eurofins-biomnis.com/referentiel/liendoc/precis/JAK2.pdf>
61. Gardie B, Maaziz N, Girodon F. Diagnostic clinique et moléculaire des érythrocytoses héréditaires et idiopathiques. *Hématologie.* 1 janv 2022;28(1):72-89.
62. Barbui T, Thiele J, Vannucchi AM, Tefferi A. Rethinking the diagnostic criteria of polycythemia vera. *Leukemia.* juin 2014;28(6):1191-5.
63. Tefferi A, Vardiman JW. Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasms: The 2008 World Health Organization criteria and point-of-care diagnostic algorithms. *Leukemia.* janv 2008;22(1):14-22.
64. Barbui T, Thiele J, Carobbio A, Gisslinger H, Finazzi G, Rumi E, et al. Masked polycythemia vera diagnosed according to WHO and BCSH classification. *Am J Hematol.* 1 févr 2014;89(2):199-202.
65. Iurlo A, Cattaneo D, Bucelli C, Baldini L. New Perspectives on Polycythemia Vera: From Diagnosis to Therapy. *Int J Mol Sci.* 13 août 2020;21(16):5805.
66. Hultcrantz M, Björkholm M, Dickman PW, Landgren O, Derolf ÅR, Kristinsson SY, et al. Risk of Arterial and Venous Thrombosis in Patients with Myeloproliferative Neoplasms: A population-based cohort study. *Ann Intern Med.* 6 mars 2018;168(5):317-25.
67. Grunwald MR, Stein BL, Boccia RV, Oh ST, Paranagama D, Parasuraman S, et al. Clinical and Disease Characteristics From REVEAL at Time of Enrollment (Baseline): Prospective Observational Study of Patients With Polycythemia Vera in the United States. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* déc 2018;18(12):788-795.e2.
68. Kaifie A, Kirschner M, Wolf D, Maintz C, Hänel M, Gattermann N, et al. Bleeding, thrombosis, and anticoagulation in myeloproliferative neoplasms (MPN): analysis from the German SAL-MPN-registry. *J Hematol Oncol J Hematol Oncol.* 5 mars 2016;9:18.

69. Vannucchi AM. Insights into the pathogenesis and management of thrombosis in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Intern Emerg Med.* juin 2010;5(3):177-84.
70. Tefferi A, Rumi E, Finazzi G, Gisslinger H, Vannucchi AM, Rodeghiero F, et al. Survival and prognosis among 1545 patients with contemporary polycythemia vera: an international study. *Leukemia.* sept 2013;27(9):1874-81.
71. Passamonti F, Rumi E, Caramella M, Elena C, Arcaini L, Boveri E, et al. A dynamic prognostic model to predict survival in post-polycythemia vera myelofibrosis. *Blood.* 1 avr 2008;111(7):3383-7.
72. Bai J, Ai L, Zhang L, Yang FC, Zhou Y, Xue Y. Incidence and risk factors for myelofibrotic transformation among 272 Chinese patients with JAK2-mutated polycythemia vera. *Am J Hematol.* 2015;90(12):1116-21.
73. Liu L, Dudheker N, Sumarriva Lezama LM, Shah S, Nwaokoro M, Ranpura V. Transformation of Polycythemia Vera to Pure Erythroid Leukemia. *Cureus.* 13(7):e16168.
74. Li WW, Sui XF, Fan S, Xu H, Wang CL, Wang FY, et al. Transformation from polycythemia vera to acute promyelocytic leukemia: Case report and literature review. *Medicine (Baltimore).* 12 août 2022;101(32):e30064.
75. RESERVES IUTD. Orphanet: Leucémie aiguë promyélocytaire [Internet]. [cité 4 oct 2023]. Disponible sur: https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=FR&Expert=520
76. RESERVES IUTD. Orphanet: Leucémie érythroblastique [Internet]. [cité 4 oct 2023]. Disponible sur: https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Expert=318&lng=FR
77. Tefferi A, Vannucchi AM, Barbui T. Polycythemia vera: historical oversights, diagnostic details, and therapeutic views. *Leukemia.* 2021;35(12):3339-51.
78. Brissot P. La saignée en médecine : entre illusion et vertu thérapeutiques. *Bull Académie Natl Médecine.* avr 2017;201(4-6):919-28.
79. [article_saignee.pdf](https://patrimoine-medical.univ-amu.fr/articles/article_saignee.pdf) [Internet]. [cité 11 oct 2023]. Disponible sur: https://patrimoine-medical.univ-amu.fr/articles/article_saignee.pdf
80. Triade de Virchow - Embolie pulmonaire — Wikimédecine [Internet]. [cité 11 oct 2023]. Disponible sur: https://wikimédecine.org/wiki/Embolie_pulmonaire#/media/Fichier:Triade_de_Virchow.png
81. Spivak JL. How I treat polycythemia vera. *Blood.* 25 juill 2019;134(4):341-52.
82. Marchioli R, Finazzi G, Specchia G, Cacciola R, Cavazzina R, Cilloni D, et al. Cardiovascular events and intensity of treatment in polycythemia vera. *N Engl J Med.* 3 janv 2013;368(1):22-33.
83. Société Tunisienne d'Hématologie.
84. Tefferi A, Barbui T. Polycythemia vera: 2024 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol.* 2023;98(9):1465-87.
85. Atallah A, Lecarpentier E, Goffinet F, Gaucherand P, Doret-Dion M, Tsatsaris V. Aspirine et prééclampsie. *Presse Médicale.* 1 janv 2019;48(1, Part 1):34-45.
86. Patrono C, Rocca B, De Stefano V. Platelet activation and inhibition in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Blood.* 7 mars 2013;121(10):1701-11.
87. Barosi G, Tefferi A, Besses C, Birgegard G, Cervantes F, Finazzi G, et al. Clinical end points for drug treatment trials in BCR-ABL1-negative classic myeloproliferative neoplasms: consensus statements from European LeukemiaNET (ELN) and International

- Working Group-Myeloproliferative Neoplasms Research and Treatment (IWG-MRT). *Leukemia*. janv 2015;29(1):20-6.
88. Berk PD, Goldberg JD, Silverstein MN, Weinfeld A, Donovan PB, Ellis JT, et al. Increased incidence of acute leukemia in polycythemia vera associated with chlorambucil therapy. *N Engl J Med*. 19 févr 1981;304(8):441-7.
 89. Berk PD, Goldberg JD, Donovan PB, Fruchtman SM, Berlin NI, Wasserman LR. Therapeutic recommendations in polycythemia vera based on Polycythemia Vera Study Group protocols. *Semin Hematol*. avr 1986;23(2):132-43.
 90. Kiladjian JJ, Chevret S, Dosquet C, Chomienne C, Rain JD. Treatment of polycythemia vera with hydroxyurea and pipobroman: final results of a randomized trial initiated in 1980. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 10 oct 2011;29(29):3907-13.
 91. Barbui T, Vannucchi AM, Finazzi G, Finazzi MC, Masciulli A, Carobbio A, et al. A reappraisal of the benefit-risk profile of hydroxyurea in polycythemia vera: A propensity-matched study. *Am J Hematol*. nov 2017;92(11):1131-6.
 92. Gangat N, Wolanskyj AP, McClure RF, Li CY, Schwager S, Wu W, et al. Risk stratification for survival and leukemic transformation in essential thrombocythemia: a single institutional study of 605 patients. *Leukemia*. févr 2007;21(2):270-6.
 93. Finazzi G, Caruso V, Marchioli R, Capnist G, Chisesi T, Finelli C, et al. Acute leukemia in polycythemia vera: an analysis of 1638 patients enrolled in a prospective observational study. *Blood*. 1 avr 2005;105(7):2664-70.
 94. HYDREA - VIDAL [Internet]. [cité 16 oct 2023]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/gammes/hydra-4747.html>
 95. ResearchGate [Internet]. [cité 18 nov 2023]. Figure 1. Mechanism of action of hydroxyurea. Disponible sur: https://www.researchgate.net/figure/Mechanism-of-action-of-hydroxyurea_fig1_341849701
 96. Demuyneck T, Verhoef G, Delforge M, Vandenberghe P, Devos T. Polycythemia vera and hydroxyurea resistance/intolerance: a monocentric retrospective analysis. *Ann Hematol*. 1 juin 2019;98(6):1421-6.
 97. Alvarez-Larrán A, Díaz-González A, Such E, Mora E, Andrade-Campos M, García-Hernández C, et al. Genomic characterization of patients with polycythemia vera developing resistance to hydroxyurea. *Leukemia*. févr 2021;35(2):623-7.
 98. VIDAL [Internet]. [cité 17 oct 2023]. MYLERAN 2 mg cp pellic. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/myleran-2-mg-cp-pellic-11404.html>
 99. Alvarez-Larrán A, Martínez-Avilés L, Hernández-Boluda JC, Ferrer-Marín F, Antelo ML, Burgaleta C, et al. Busulfan in patients with polycythemia vera or essential thrombocythemia refractory or intolerant to hydroxyurea. *Ann Hematol*. déc 2014;93(12):2037-43.
 100. Douglas G, Harrison C, Forsyth C, Bennett M, Stevenson W, Hounsell J, et al. Busulfan is effective second-line therapy for older patients with Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms intolerant of or unresponsive to hydroxyurea. *Leuk Lymphoma*. janv 2017;58(1):89-95.
 101. Chang AN, Cantor AB, Fujiwara Y, Lodish MB, Droho S, Crispino JD, et al. GATA-factor dependence of the multitype zinc-finger protein FOG-1 for its essential role in megakaryopoiesis. *Proc Natl Acad Sci*. 9 juill 2002;99(14):9237-42.
 102. VIDAL [Internet]. [cité 19 oct 2023]. Anagrelide : substance active à effet thérapeutique. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/anagrelide-21770.html>

103. VIDAL [Internet]. [cité 22 oct 2023]. ROFERON-A. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/gammes/roferon-a-23505.html>
104. Pol S, Zylberberg H. Interférons : des mécanismes d'action aux applications cliniques en hépatologie. *Médecine Thérapeutique*. 30 juin 1998;4(4):323-31.
105. Hasselbalch HC, Holmström MO. Perspectives on interferon-alpha in the treatment of polycythemia vera and related myeloproliferative neoplasms: minimal residual disease and cure? *Semin Immunopathol*. 2019;41(1):5-19.
106. Lengfelder E, Berger U, Hehlmann R. Interferon alpha in the treatment of polycythemia vera. *Ann Hematol*. mars 2000;79(3):103-9.
107. McMullin MF, Bareford D, Campbell P, Green AR, Harrison C, Hunt B, et al. Guidelines for the diagnosis, investigation and management of polycythaemia/erythrocytosis. *Br J Haematol*. juill 2005;130(2):174-95.
108. Silver RT. Recombinant interferon-alpha for treatment of polycythaemia vera. *Lancet Lond Engl*. 13 août 1988;2(8607):403.
109. Dictionnaire médical de l'Académie de Médecine [Internet]. [cité 22 oct 2023]. Disponible sur: <https://www.academie-medecine.fr/le-dictionnaire/index.php?q=p%C3%A9gylation>
110. Compare the Difference Between Similar Terms [Internet]. 2018 [cité 22 oct 2023]. Difference Between Interferon Alpha 2A and 2B. Disponible sur: <https://www.differencebetween.com/difference-between-interferon-alpha-2a-and-2b/>
111. Hasselbalch H, Skov V, Kjær L, Larsen MK, Knudsen TA, Lucijanić M, et al. Recombinant Interferon- β in the Treatment of Polycythemia Vera and Related Neoplasms: Rationales and Perspectives. *Cancers*. 9 nov 2022;14(22):5495.
112. [besremi-epar-product-information_fr.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/besremi-epar-product-information_fr.pdf) [Internet]. [cité 22 oct 2023]. Disponible sur: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/besremi-epar-product-information_fr.pdf
113. Sun Y, Cai Y, Cen J, Zhu M, Pan J, Wang Q, et al. Pegylated Interferon Alpha-2b in Patients With Polycythemia Vera and Essential Thrombocythemia in the Real World. *Front Oncol*. 21 déc 2021;11:797825.
114. Gisslinger H, Zagrijtschuk O, Buxhofer-Ausch V, Thaler J, Schloegl E, Gastl GA, et al. Ropeginterferon alfa-2b, a novel IFN α -2b, induces high response rates with low toxicity in patients with polycythemia vera. *Blood*. 8 oct 2015;126(15):1762-9.
115. Gisslinger H, Klade C, Georgiev P, Krochmalczyk D, Gercheva-Kyuchukova L, Egyed M, et al. Ropeginterferon alfa-2b versus standard therapy for polycythaemia vera (PROUD-PV and CONTINUATION-PV): a randomised, non-inferiority, phase 3 trial and its extension study. *Lancet Haematol*. mars 2020;7(3):e196-208.
116. Knudsen TA, Skov V, Stevenson K, Werner L, Duke W, Laureo C, et al. Genomic profiling of a randomized trial of interferon- α vs hydroxyurea in MPN reveals mutation-specific responses. *Blood Adv*. 30 mars 2022;6(7):2107-19.
117. [jakavi-epar-product-information_fr.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/jakavi-epar-product-information_fr.pdf) [Internet]. [cité 22 oct 2023]. Disponible sur: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/jakavi-epar-product-information_fr.pdf
118. Verstovsek S, Vannucchi AM, Griesshammer M, Masszi T, Durrant S, Passamonti F, et al. Ruxolitinib versus best available therapy in patients with polycythemia vera: 80-week follow-up from the RESPONSE trial. *Haematologica*. juill 2016;101(7):821-9.

119. Passamonti F, Palandri F, Saydam G, Callum J, Devos T, Guglielmelli P, et al. Ruxolitinib versus best available therapy in inadequately controlled polycythaemia vera without splenomegaly (RESPONSE-2): 5-year follow up of a randomised, phase 3b study. *Lancet Haematol.* juill 2022;9(7):e480-92.
120. Harrison CN, Nangalia J, Boucher R, Jackson A, Yap C, O'Sullivan J, et al. Ruxolitinib Versus Best Available Therapy for Polycythemia Vera Intolerant or Resistant to Hydroxycarbamide in a Randomized Trial. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 1 juill 2023;41(19):3534-44.
121. Verstovsek S, Gotlib J, Mesa RA, Vannucchi AM, Kiladjian JJ, Cervantes F, et al. Long-term survival in patients treated with ruxolitinib for myelofibrosis: COMFORT-I and -II pooled analyses. *J Hematol Oncol J Hematol Oncol.* 29 sept 2017;10:156.
122. VIDAL [Internet]. [cité 22 oct 2023]. PEGASYS. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/gammes/pegasys-22281.html>
123. VIDAL [Internet]. [cité 20 nov 2023]. JAKAVI 10 mg cp. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/jakavi-10-mg-cp-148821.html>
124. Guide-Paroles-SMP-Ph-.pdf [Internet]. [cité 23 oct 2023]. Disponible sur: <https://syndromes-myeloproliferatifs-phneg.fr/wp-content/uploads/2021/08/Guide-Paroles-SMP-Ph-.pdf>
125. Livret-ok_compressed.pdf [Internet]. [cité 21 nov 2023]. Disponible sur: https://www.afsos.org/wp-content/uploads/2019/10/Livret-ok_compressed.pdf?fbclid=IwAR1Nu9olAi7yzlO1DBPSoydD_cZl32lw9texZv6Y61kkoojitiJKa6ye8sw
126. Aromathérapie C Bourry 2023.pdf.
127. Damesin O. La prise en charge homéopathique des effets indésirables induits par les inhibiteurs de tyrosines kinases: création de fiches conseil à destination des professionnels de santé.
128. Najean Y. Réévaluation de la méthode de calcul du volume globulaire et du volume plasmatique normal. *Med Nucleaire-Imag Fonct Metab* [Internet]. 1996 [cité 22 nov 2023]; Disponible sur: <https://www.semanticscholar.org/paper/R%C3%A9valuation-de-la-m%C3%A9thode-de-calcul-du-volume-et-Najean/b485d5e3e5f46a16289aea3e877760174053614d#related-papers>
129. Pearson TC, Guthrie DL, Simpson J, Chinn S, Barosi G, Ferrant A, et al. Interpretation of measured red cell mass and plasma volume in adults: Expert Panel on Radionuclides of the International Council for Standardization in Haematology. *Br J Haematol.* avr 1995;89(4):748-56.
130. Huff RL, Feller DD. RELATION OF CIRCULATING RED CELL VOLUME TO BODY DENSITY AND OBESITY [Internet]. *American Society for Clinical Investigation*; 1956 [cité 22 nov 2023]. Disponible sur: <https://www.jci.org/articles/view/103242/pdf>
131. Wennesland R, Brown E, Hopper J, Hodges JL, Guttentag OE, Scott KG, et al. RED CELL, PLASMA AND BLOOD VOLUME IN HEALTHY MEN MEASURED BY RADIOCHROMIUM (Cr51) CELL TAGGING AND HEMATOCRIT: INFLUENCE OF AGE, SOMATOTYPE AND HABITS OF PHYSICAL ACTIVITY ON THE VARIANCE AFTER REGRESSION OF VOLUMES TO HEIGHT AND WEIGHT COMBINED*. *J Clin Invest.* 1 juill 1959;38(7):1065-77.
132. Brown E, Hopper J, Hodges JL, Bradley B, Wennesland R. RED CELL, PLASMA, AND BLOOD VOLUME IN HEALTHY WOMEN MEASURED BY RADIOCHROMIUM CFL- LABELING AND HEMATOCRIT.
133. Retzlaff JA, Tauxe WN, Kiely JM, Stroebel CF. Erythrocyte Volume, Plasma Volume, and Lean Body Mass in Adult Men and Women. *Blood.* 1 mai 1969;33(5):649-67.

134. SOFRA2023_Volémies par Maïlys Ragot.
135. Beutler E, West C. Measurement of the viability of stored red cells by the single-isotope technique using ^{51}Cr . Analysis of validity. *Transfusion (Paris)*. 1984;24(2):100-4.
136. Gallet M, Drouet C, Girodon F, Nicolas A, Riedinger JM. Effect of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ elution *in vivo* from red cells on red cell volumes measured using autologous $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labeled red cells: comparison with ^{51}Cr method. *Ann Biol Clin (Paris)*. 1 mai 2020;78(3):319-22.
137. Manuel de Prélèvement Fiche Analyse [Internet]. [cité 25 nov 2023]. Disponible sur: <https://chu-toulouse.manuelprelevement.fr/DetailNew.aspx?id=A1244>
138. DGOS. Ministère de la Santé et de la Prévention. 2023 [cité 25 nov 2023]. Le référentiel des actes innovants hors nomenclature de biologie et d'anatomopathologie (RIHN). Disponible sur: <https://sante.gouv.fr/systeme-de-sante/innovation-et-recherche/rihn>

SERMENT DE GALIEN

En présence des Maîtres de la Faculté, je fais le serment :

- *D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle aux principes qui m'ont été enseignés et d'actualiser mes connaissances*
- *D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de Déontologie, de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;*
- *De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers la personne humaine et sa dignité*
- *En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.*
- *De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession*
- *De faire preuve de loyauté et de solidarité envers mes collègues pharmaciens*
- *De coopérer avec les autres professionnels de santé*

*Que les Hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.
Que je sois couvert(e) d'opprobre et méprisé(e) de mes confrères si j'y manque.*

Date : _____

Signatures de :

L'étudiant

et

du Président du jury

RÉSUMÉ

La polyglobulie de Vaquez est une maladie hématologique faisant partie des néoplasies myéloprolifératives. De nombreuses recherches ont permis de mettre en évidence des composantes génétiques dont une majeure, la mutation JAK2 V617F, présente chez 95 % des patients atteints. Son diagnostic repose sur cette mutation génétique mais aussi sur des anomalies de l'hématocrite et de l'hémoglobine constatées lors d'une numération de la formule sanguine et analysées lors de l'examen de la volémie isotopique ou « masse sanguine ». La prise en charge médicamenteuse repose sur des traitements permettant de diminuer le risque thrombotique en agissant sur l'activation plaquettaire et sur un contrôle de la prolifération anormale des cellules sanguines. Malgré l'apparition de nouveaux traitements, la prise en charge reste symptomatique avec des effets indésirables. Le diagnostic précoce est indispensable afin d'augmenter le temps de survie des patients. Le pharmacien a un rôle important dans cette prise en charge, étant le professionnel de santé le plus accessible pour le patient. Il a un rôle de conseils, d'explications sur la maladie envers le patient et de relais auprès des autres professionnels de santé. L'examen de la volémie isotopique arrive en première intention au CHU de Toulouse dans le diagnostic de la maladie, cet examen nécessite le radiomarquage des hématies avec un isotope radioactif qui peut être du ^{51}Cr ou le $^{99\text{m}}\text{Tc}$. Dans cette thèse, nous nous sommes intéressés aux prescripteurs de l'examen, à la conformité des prescriptions avec les recommandations de l'OMS et montré que cet examen était de plus en plus prescrit hors recommandation. Enfin, nous avons comparé les résultats d'examens des patients avec les deux radioisotopes sur une population dont les hématocrites étaient homogènes et avons constaté des différences identiques à celles retrouvées dans la littérature.

MOTS-CLÉS : Médecine nucléaire, maladie de Vaquez, polyglobulie, volémie isotopique, conseil officinal, masse sanguine

POLYCYTHEMIA VERA: STATUS AND DIAGNOSIS BY ISOTOPIC VOLUME AT TOULOUSE UNIVERSITY HOSPITAL

Polycythemia vera is a hematological disease that is part of the myeloproliferative neoplasms. Numerous studies have revealed genetic components, including a major one, the JAK2 V617F mutation, present in 95% of patients affected. The diagnosis is based on this genetic mutation but also on abnormalities in hematocrit and hemoglobin seen on a complete blood count and analyzed on examination of isotopic volume or "blood mass." Drug management includes treatments to reduce the risk of thrombosis by acting on platelet activation and control of abnormal blood cell proliferation. Despite the development of new treatments, management remains symptomatic with adverse effects. Early diagnosis is essential to increase the survival time of patients. The pharmacist has an important role in this care, being the most accessible healthcare professional for the patient. It provides advice, explaining the illness to the patient, and communicating with other health care practitioners. Examination of isotopic volume comes first at the Toulouse University Hospital in the diagnosis of the disease, this examination requires radiolabeling of red blood cells with a radioactive isotope which can be ^{51}Cr or $^{99\text{m}}\text{Tc}$. In this thesis, we focused on prescribers of the review, compliance of prescriptions with WHO recommendations and showed that this review was increasingly prescribed without recommendations. Finally, we compared the results of patient examinations with both radioisotopes in a population with homogeneous haematocrit and found similar differences to those found in the literature.

Keywords : Nuclear medicine, polycythemia vera, isotopic volume depletion, compendial counseling, blood mass

DISCIPLINE administrative : PHARMACIE

INTITULE ET ADRESSE DE L'UFR :

Université Paul Sabatier – Faculté de santé
Département des Sciences Pharmaceutiques de Toulouse
35 chemin des Maraîchers
31062 Toulouse Cedex 04

Directeur de thèse : Madame SALABERT Anne-Sophie