

**UNIVERSITÉ DE TOULOUSE**  
**FACULTÉ DE SANTÉ**

---

ANNÉE 2025

2025 TOU3 1531

**THÈSE**

**POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE**

**SPÉCIALITÉ BIOLOGIE MÉDICALE**

Présentée et soutenue publiquement

par

**DINH THUAN LE**

Le vendredi 25 avril 2025

**Architecture de l'hématopoïèse  
des  
syndromes myéloprolifératifs**

Directeur de thèse : Docteur François VERGEZ

**JURY**

Madame la Professeure Jill CORRE

Président

Madame la Professeure Véronique DE MAS

1<sup>ère</sup> Assesseur

Monsieur le Docteur François VERGEZ

2<sup>ème</sup> Assesseur

Madame la Docteur Inès VERGNOLLE

Suppléant

**UNIVERSITÉ DE TOULOUSE**  
**Faculté de santé**

**FACULTÉ DE SANTÉ**
  
**Département de Médecine, Maïeutique et Paramédical**
  
**Doyen - Directeur: Pr Thomas GEERAERTS**

**Tableau du personnel Hospitalo-Universitaire de médecine**
  
**2023-2024**

**Professeurs Honoraires**

Doyen Honoraire	M. CHAP Hugues	Professeur Honoraire	M. GERAUD Gilles
Doyen Honoraire	M. GUIRAUD-CHAUMEIL Bernard	Professeur Honoraire	M. GHISOLFI Jacques
Doyen Honoraire	M. PUEL Pierre	Professeur Honoraire	M. GLOCK Yves
Doyen Honoraire	M. ROUGE Daniel	Professeur Honoraire	M. GOUZI Jean-Louis
Doyen Honoraire	M. SERRANO Elie	Professeur Honoraire	M. GRAND Alain
Doyen Honoraire	M. VINEL Jean-Pierre	Professeur Honoraire	M. HOFF Jean
Professeur Honoraire	M. ABBAL Michel	Professeur Honoraire	M. JOFFRE Francis
Professeur Honoraire	M. ADER Jean-Louis	Professeur Honoraire	M. LAGARRIGUE Jacques
Professeur Honoraire	M. ADOUE Daniel	Professeur Honoraire	M. LANG Thierry
Professeur Honoraire	M. ARBUS Louis	Professeur Honoraire	Mme LARENG Marie-Blanche
Professeur Honoraire	M. ARLET Philippe	Professeur Honoraire	M. LAROCHE Michel
Professeur Honoraire	M. ARLET-SUAU Elisabeth	Professeur Honoraire	M. LAUQUE Dominique
Professeur Honoraire	M. ARNE Jean-Louis	Professeur Honoraire	M. LAURENT Guy
Professeur Honoraire	M. ATTAL Michel	Professeur Honoraire	M. LAZORTHES Franck
Professeur Honoraire	M. BARRET André	Professeur Honoraire	M. LEOPHONTE Paul
Professeur Honoraire	M. BARTHE Philippe	Professeur Honoraire	M. MAGNAVAL Jean-François
Professeur Honoraire	M. BAYARD Francis	Professeur Honoraire	M. MALECAZE François
Professeur Honoraire	M. BLANCHER Antoine	Professeur Honoraire	M. MANELFE Claude
Professeur Honoraire	M. BOCCALON Henri	Professeur Honoraire	M. MANSAT Michel
Professeur Honoraire	M. BONAFÉ Jean-Louis	Professeur Honoraire	M. MARCHOU Bruno
Professeur Honoraire	M. BONEU Bernard	Professeur Honoraire	M. MASSIP Patrice
Professeur Honoraire	M. BONNEVILLE Paul	Professeur Honoraire	Mme MARTY Nicole
Professeur Honoraire	M. BOSSAVY Jean-Pierre	Professeur Honoraire	M. MAZIERES Bernard
Professeur Honoraire	M. BOUNHOURE Jean-Paul	Professeur Honoraire	M. MONROZIES Xavier
Professeur Honoraire	M. BOUTAULT Frank	Professeur Honoraire	M. MONTASTRUC Jean-Louis
Professeur Honoraire Associé	M. BROS Bernard	Professeur Honoraire	M. MOSCOVICI Jacques
Professeur Honoraire	M. BUGAT Roland	Professeur Honoraire	M. MURAT
Professeur Honoraire	M. BUJAN Louis	Professeur Honoraire associé	M. NICODEME Robert
Professeur Honoraire	M. CAHLZAC Jean-Philippe	Professeur Honoraire	M. OLIVES Jean-Pierre
Professeur Honoraire	M. CALVAS Patrick	Professeur Honoraire	M. PARINAUD Jean
Professeur Honoraire	M. CARATERO Claude	Professeur Honoraire	M. PASCAL Jean-Pierre
Professeur Honoraire	M. CARLES Pierre	Professeur Honoraire	M. PERRET Bertrand
Professeur Honoraire	M. CARON Philippe	Professeur Honoraire	M. PESSEY Jean-Jacques
Professeur Honoraire	M. CARRIERE Jean-Paul	Professeur Honoraire	M. PLANTE Pierre
Professeur Honoraire	M. CARTON Michel	Professeur Honoraire	M. PONTONNIER Georges
Professeur Honoraire	M. CATHALA Bernard	Professeur Honoraire	M. POURRAT Jacques
Professeur Honoraire	M. CHABANON Gérard	Professeur Honoraire	M. PRADERE Bernard
Professeur Honoraire	M. CHAMONTIN Bernard	Professeur Honoraire	M. PRIS Jacques
Professeur Honoraire	M. CHAVOIN Jean-Pierre	Professeur Honoraire	Mme PUEL Jacqueline
Professeur Honoraire	M. CHIRON Philippe	Professeur Honoraire	M. PUJOL Michel
Professeur Honoraire	M. CLANET Michel	Professeur Honoraire	M. QUERLEU Denis
Professeur Honoraire	M. CONTE Jean	Professeur Honoraire	M. RAILHAC Jean-Jacques
Professeur Honoraire	M. COSTAGLIOLA Michel	Professeur Honoraire	M. REGNIER Claude
Professeur Honoraire	M. COTONAT Jean	Professeur Honoraire	M. REME Jean-Michel
Professeur Honoraire	M. DABERNAT Henri	Professeur Honoraire	M. RISCHMANN Pascal
Professeur Honoraire	M. DAHAN Marcol	Professeur Honoraire	M. RIVIERE Daniel
Professeur Honoraire	M. DALOUS Antoine	Professeur Honoraire	M. ROCHE Henri
Professeur Honoraire	M. DALY-SCHWEITZER Nicolas	Professeur Honoraire	M. ROCHICCIOLI Pierre
Professeur Honoraire	M. DAVID Jean-Frédéric	Professeur Honoraire	M. ROLLAND Michel
Professeur Honoraire	Mme DELISLE Marie-Bernadette	Professeur Honoraire	M. ROQUES-LATRILLE Christian
Professeur Honoraire	M. DELSOL Georges	Professeur Honoraire	M. ROUGE Daniel
Professeur Honoraire	Mme DIDIER Jacqueline	Professeur Honoraire	M. RUMEAU Jean-Louis
Professeur Honoraire	M. DUCOS Jean	Professeur Honoraire	M. SALVADOR Michel
Professeur Honoraire	M. DUFFAUT Michel	Professeur Honoraire	M. SALVAYRE Robert
Professeur Honoraire	M. DUPRE M.	Professeur Honoraire	M. SARRAMON Jean-Pierre
Professeur Honoraire	M. DURAND Dominique	Professeur Honoraire	M. SCHMITT Laurent
Professeur Honoraire associé	M. DUTAU Guy	Professeur Honoraire	M. SERRE Guy
Professeur Honoraire	M. ESCOURROU Jean	Professeur Honoraire	M. SIZUN Jacques
Professeur Honoraire	M. ESQUERRE Jean-Paul	Professeur Honoraire	M. SIMON Jacques
Professeur Honoraire	M. FABIÉ Michel	Professeur Honoraire	M. SUC Jean-Michel
Professeur Honoraire	M. FABRE Jean	Professeur Honoraire	M. THOUVENOT Jean-Paul
Professeur Honoraire	M. FOURNIAL Gérard	Professeur Honoraire	M. TREMOULET Michel
Professeur Honoraire	M. FOURNIE Bernard	Professeur Honoraire	M. VALDIGUIE Pierre
Professeur Honoraire	M. FORTANIER Gilles	Professeur Honoraire	M. VAYSSE Philippe
Professeur Honoraire	M. FRAYSSE Bernard	Professeur Honoraire	M. VIRENQUE Christian
Professeur Honoraire	M. FREXINOS Jacques	Professeur Honoraire	M. VOIGT Jean-Jacques
Professeur Honoraire	Mme GENESTAL Michèle		

**Professeurs Émérites**

Professeur BUJAN Louis	Professeur LAROCHE Michel	Professeur MONTASTRUC Jean-Louis	Professeur SIZUN Jacques
Professeur CARON Philippe	Professeur LAUQUE Dominique	Professeur PARINI Angelo	Professeur VIRENQUE Christian
Professeur CHAP Hugues	Professeur MAGNAVAL Jean-François	Professeur PERRET Bertrand	Professeur VINEL Jean-Pierre
Professeur FRAYSSE Bernard	Professeur MARCHOU Bruno	Professeur ROQUES LATRILLE Christian	
Professeur LANG Thierry	Professeur MESTHE Pierre	Professeur SERRE Guy	

Mise à jour le 14/05/2024

**FACULTÉ DE SANTÉ**  
**Département de Médecine, Maïeutique et Paramédical**

**P.U. - P.H.**  
**Classe Exceptionnelle et 1ère classe**

M. ACAR Philippe	Pédiatrie	Mme LAPRIE Anne	Radiothérapie
M. ACCADBLE Franck (C.E)	Chirurgie Infantile	M. LARRUE Vincent	Neurologie
M. ALRIC Laurent (C.E)	Médecine Interne	M. LAUQUE Dominique (C.E)	Médecine d'Urgence
M. AMAR Jacques (C.E)	Thérapeutique	Mme LAURENT Camille	Anatomie Pathologique
Mme ANDRIEU Sandrine	Epidémiologie, Santé publique	M. LAUWERS Frédéric	Chirurgie maxillo-faciale
M. ARBUS Christophe	Psychiatrie	M. LE CAIGNEC Cédric	Génétique
M. ARNAL Jean-François (C.E)	Physiologie	M. LEVADE Thierry (C.E)	Biochimie
M. AUSSEIL Jérôme	Biochimie et biologie moléculaire	M. LIBLAU Roland (C.E)	Immunologie
M. AVET-LOISEAU Hervé (C.E)	Hématologie, transfusion	M. MALAVAUD Bernard (C.E)	Urologie
M. BERRY Antoine (C.E.)	Parasitologie	M. MANSAT Pierre (C.E)	Chirurgie Orthopédique
Mme BERRY Isabelle (C.E)	Biophysique	M. MARCHEIX Bertrand	Chirurgie thoracique cardiovascul
M. BIRMES Philippe	Psychiatrie	M. MARQUE Philippe (C.E)	Médecine Physique et Réadaptation
M. BONNEVILLE Nicolas	Chirurgie orthopédique et traumatologique	M. MARTIN-BLONDEL Guillaume	Maladies Infectieuses, maladies tropicales
M. BONNEVILLE Fabrice	Radiologie	M. MAS Emmanuel	Pédiatrie
M. BROUCHET Laurent	Chirurgie thoracique et cardio-vascul	M. MAURY Jean-Philippe (C.E)	Cardiologie
M. BROUSSET Pierre (C.E)	Anatomie pathologique	Mme MAZEREEUW Juliette	Dermatologie
Mme BURA-RIVIERE Alessandra (C.E)	Médecine Vasculaire	M. MAZIERES Julien (C.E)	Pneumologie
M. BUREAU Christophe (C.E.)	Hépatogastro-entérologie	M. MINVILLE Vincent (C.E.)	Anesthésiologie Réanimation
M. BUSCAIL Louis (C.E)	Hépatogastro-entérologie	M. MOLINIER Laurent (C.E)	Epidémiologie, Santé Publique
M. CANTAGREL Alain (C.E)	Rhumatologie	Mme MOYAL Elisabeth (C.E)	Cancérologie
M. CARRERE Nicolas	Chirurgie Générale	M. MUSCARI Fabrice	Chirurgie Digestive
M. CARRIE Didier (C.E)	Cardiologie	Mme NOURHACHEMI Fatemeh (C.E)	Gériatrie
M. CHAIX Yves	Pédiatrie	M. OLIVOT Jean-Marc	Neurologie
Mme CHANTALAT Elodie	Anatomie	M. OSWALD Eric (C.E)	Bactériologie-Virologie
M. CHAPUT Benoit	Chirurgie plastique	M. PAGES Jean-Christophe	Biologie cellulaire
Mme CHARPENTIER Sandrine (C.E)	Médecine d'urgence	M. PARIENTE Jérémie	Neurologie
M. CHAUFOR Xavier (C.E.)	Chirurgie Vasculaire	M. PAUL Carle (C.E)	Dermatologie
M. CHAUVEAU Dominique	Néphrologie	M. PAYOUX Pierre (C.E)	Biophysique
M. CHAYNES Patrick	Anatomie	M. PAYRASTRE Bernard (C.E)	Hématologie
M. CHOLLET François (C.E)	Neurologie	M. PERON Jean-Marie (C.E)	Hépatogastro-entérologie
M. CONSTANTIN Arnaud	Rhumatologie	Mme PERROT Aurore	Physiologie
M. COURBON Frédéric (C.E)	Biophysique	M. RASCOL Olivier (C.E)	Pharmacologie
Mme COURTADE SAIDI Monique (C.E)	Histologie Embryologie	Mme RAUZY Odile (C.E.)	Médecine Interne
M. DAMBRIN Camille	Chir. Thoracique et Cardiovasculaire	M. RAYNAUD Jean-Philippe (C.E)	Psychiatrie Infantile
M. DE BOISSEZON Xavier	Médecine Physique et Réadapt Fonct.	M. RECHER Christian(C.E)	Hématologie
M. DEGUINE Olivier (C.E)	Oto-rhino-laryngologie	M. RITZ Patrick (C.E)	Nutrition
M. DELABESSE Eric	Hématologie	M. ROLLAND Yves (C.E)	Gériatrie
M. DELOBEL Pierre	Maladies Infectieuses	M. RONCALLI Jérôme	Cardiologie
M. DELORD Jean-Pierre (C.E)	Cancérologie	M. ROUSSEAU Hervé (C.E)	Radiologie
M. DIDIER Alain (C.E)	Pneumologie	M. ROUX Franck-Emmanuel (C.E.)	Neurochirurgie
M. DUCOMMUN Bernard	Cancérologie	M. SAILLER Laurent (C.E)	Médecine Interne
Mme DULY-BOUHANICK Béatrice (C.E)	Thérapeutique	M. SALES DE GAUZY Jérôme (C.E)	Chirurgie Infantile
M. ELBAZ Meyer	Cardiologie	M. SALLES Jean-Pierre (C.E)	Pédiatrie
Mme EVRARD Solène	Histologie, embryologie et cytologie	M. SANS Nicolas	Radiologie
M. FERRIERES Jean (C.E)	Epidémiologie, Santé Publique	Mme SAVAGNER Frédérique	Biochimie et biologie moléculaire
M. FOURCADE Olivier (C.E)	Anesthésiologie	Mme SELVES Janick (C.E)	Anatomie et cytologie pathologiques
M. FOURNIÉ Pierre	Ophthalmologie	M. SENARD Jean-Michel (C.E)	Pharmacologie
M. GALINIER Michel (C.E)	Cardiologie	M. SERRANO Elie (C.E)	Oto-rhino-laryngologie
M. GAME Xavier (C.E)	Urologie	M. SOL Jean-Christophe	Neurochirurgie
Mme GARDETTE Virginie	Epidémiologie, Santé publique	M. SOLER Vincent	Ophthalmologie
Mme GASCOIN Géraldine	Pédiatrie	Mme SOMMET Agnès	Pharmacologie
M. GEERAERTS Thomas	Anesthésiologie et réanimation	Mme SOTO-MARTIN Maria-Eugénia	Gériatrie et biologie du vieillissement
Mme GOMEZ-BROUCHET Anne-Muriel (C.E)	Anatomie Pathologique	M. SOULAT Jean-Marc (C.E)	Médecine du Travail
M. GOURDY Pierre (C.E)	Endocrinologie	M. SOULIE Michel (C.E)	Urologie
M. GROLEAU RAOUX Jean-Louis (C.E)	Chirurgie plastique	M. SUC Bertrand	Chirurgie Digestive
Mme GUIMBAUD Rosine	Cancérologie	Mme TAUBER Marie-Thérèse (C.E)	Pédiatrie
Mme HANAIRE Hélène (C.E)	Endocrinologie	M. TELMON Norbert (C.E)	Médecine Légale
M. HUYGHE Eric	Urologie	Mme TREMOLLIERES Florence (C.E.)	Biologie du développement
M. IZOPET Jacques (C.E)	Bactériologie-Virologie	Mme URO-COSTE Emmanuelle (C.E)	Anatomie Pathologique
M. KAMAR Nassim (C.E)	Néphrologie	M. VAYSSIERE Christophe (C.E)	Gynécologie Obstétrique
Mme LAMANT Laurence (C.E)	Anatomie Pathologique	M. VELLAS Bruno (C.E)	Gériatrie
M. LANGIN Dominique (C.E)	Nutrition	M. VERGEZ Sébastien	Oto-rhino-laryngologie

**P.U. Médecine générale**  
Mme DUPOUY Julie  
M. OUSTRIC Stéphane (C.E)  
Mme ROUGE-BUGAT Marie-Eve

**FACULTÉ DE SANTÉ**  
**Département de Médecine, Maïeutique et Paramédical**

P.U. - P.H. 2ème classe	Professeurs Associés
M. ABBO Olivier	<b>Professeurs Associés de Médecine Générale</b> M. ABITTEBOUL Yves M. BIREBENT Jordan M. BOYER Pierre Mme FREYENS Anne Mme IRI-DELAHAYE Motoko Mme LATROUS Lella M. POUTRAIN Jean-Christophe M. STILLMUNKES André  <b>Professeurs Associés Honoraires</b> Mme MALAUAUD Sandra Mme PAVY LE TRACON Anne M. SIBAUD Vincent Mme WOISARD Virginie
Mme BONGARD Vanina	
M. BOUNES Vincent	
Mme BOURNET Barbara	
Mme CASPER Charlotte	
M. CAVIGNAC Etienne	
M. COGNARD Christophe	
Mme CORRE Jill	
Mme DALENC Florence	
M. DE BONNECAZE Guillaume	
M. DECRAMER Stéphane	
Mme DUPRET-BORIES Agnès	
M. EDOUARD Thomas	
M. FAGUER Stanislas	
Mme FARUCH BILFELD Marie	
M. FRANCHITTO Nicolas	
M. GARRIDO-STÓWHAS Ignacio	
M. GUERBY Paul	
M. GUBERT Nicolas	
M. GUILLEMINAULT Laurent	
M. HOUZE-CERFON	
M. HERIN Fabrice	
M. LAIREZ Olivier	
M. LEANDRI Roger	
M. LHERMUSIER Thibaut	
M. LOPEZ Raphael	
Mme MARTINEZ Alejandra	
M. MARX Mathieu	
M. MEYER Nicolas	
Mme MOKRANE Fatima	
Mme MONTASTIER Emilie	
Mme PASQUET Marlène	
M. PIAU Antoine	
M. PORTIER Guillaume	
M. PUGNET Gregory	
M. REINA Nicolas	
M. RENAUDINEAU Yves	
M. REVET Alexis	
M. ROUMIGUIE Mathieu	
Mme RUYSSSEN-WITRAND Adeline	
M. SAVALL Frédéric	
M. SILVA SIFONTES Stein	
M. TACK Ivan	
Mme VAYASSE Charlotte	
Mme VEZZOSI Delphine	
M. YRONDI Antoine	
M. YSEBAERT Lolo	

**FACULTÉ DE SANTÉ**  
**Département de Médecine, Maïeutique et Paramédical**

**MCU - PH**

Mme ABRAVANEL Florence	Bactériologie Virologie Hygiène	M. GASQ David	Physiologie
M. APOIL Poi Andre	Immunologie	M. GATIMEL Nicolas	Médecine de la reproduction
Mme ARNAUD Catherine	Epidémiologie	Mme GENNERO Isabelle	Biochimie
Mme AUSSÉIL-TRUDEL Stéphanie	Biochimie	Mme GENOUX Amélie	Biochimie et biologie moléculaire
Mme BASSET Céline	Cytologie et histologie	Mme GRARE Marion	Bactériologie Virologie Hygiène
Mme BELLIERES-FABRE Julie	Néphrologie	Mme GUILBEAU-FRUGIER Céline	Médecine légale et droit de la santé
Mme BENEVENT Justine	Pharmacologie fondamentale	Mme GUYONNET Sophie	Nutrition
Mme BERTOLI Sarah	Hématologie, transfusion	M. HAMDJ Safouane	Biochimie
M. BIETH Eric	Génétiq	Mme HITZEL Anne	Biophysique
Mme BOST Chloé	Immunologie	M. HOSTALRICH Aurélien	Chirurgie vasculaire
Mme BOUNES Fanny	Anesthésie-Réanimation	M. IRIART Xavier	Parasitologie et mycologie
Mme BREHIN Camille	Pneumologie	Mme JONCA Nathalie	Biologie cellulaire
M. BUSCAL Etienne	Chirurgie viscérale et digestive	M. KARSENTY Clément	Cardiologie
Mme CAMARE Caroline	Biochimie et biologie moléculaire	M. LAPEBIE François-Xavier	Médecine vasculaire
Mme CANTERO Anne-Valérie	Biochimie	Mme LAPEYRE-MESTRE Maryse	Pharmacologie
Mme CARFAGNA Luana	Pédiatrie	M. LEPAGE Benoit	Biostatistiques et Informatique médicale
Mme CASPAR BAUGUIL Sylvie	Nutrition	M. LHOMME Sébastien	Bactériologie-virologie
Mme CASSAGNE Myriam	Ophthalmologie	Mme MASSIP Clémence	Bactériologie-virologie
Mme CASSAING Sophie	Parasitologie	Mme MAULAT Charlotte	Chirurgie digestive
Mme CASSOL Emmanuelle	Biophysique	Mme MAUPAS SCHWALM Françoise	Biochimie
M. CHASSAING Nicolas	Génétiq	M. MONTASTRUC François	Pharmacologie
M. CLAVEL Cyril	Biologie Cellulaire	Mme MOREAU Jessika	Biologie du dev. Et de la reproduction
Mme COLOMBAT Magali	Anatomie et cytologie pathologiques	Mme MOREAU Marion	Physiologie
M. COMONT Thibaut	Médecine interne	M. MOULIS Guillaume	Médecine interne
M. CONGY Nicolas	Immunologie	Mme NOGUEIRA Maria Léonor	Biologie Cellulaire
Mme COURBON Christine	Pharmacologie	Mme PERICART Sarah	Anatomie et cytologie pathologiques
M. CUROT Jonathan	Neurologie	M. PILLARD Fabien	Physiologie
Mme DAMASE Christine	Pharmacologie	Mme PLAISANCIE Julie	Génétiq
Mme DE GLISEZINSKY Isabelle	Physiologie	Mme PUISSANT Bénédicte	Immunologie
M. DEDOUIT Fabrice	Médecine Légale	Mme QUELVEN Isabelle	Biophysique et médecine nucléaire
M. DEGBOE Yannick	Rhumatologie	Mme RAYMOND Stéphanie	Bactériologie Virologie Hygiène
M. DELMAS Clément	Cardiologie	Mme RIBES-MAUREL Agnès	Hématologie
M. DELPLA Pierre-André	Médecine Légale	Mme SABOURDY Frédérique	Biochimie
M. DESPAS Fabien	Pharmacologie	Mme SALLES Juliette	Psychiatrie adultes/Addictologie
M. DUBOIS Damien	Bactériologie Virologie Hygiène	Mme SAUNE Karine	Bactériologie Virologie
Mme ESQUIROL Yolande	Médecine du travail	Mme SIEGFRIED Aurore	Anatomie et cytologie pathologiques
Mme FABBRI Margherita	Neurologie	Mme TRAMUNT Blandine	Endocrinologie, diabète
Mme FILLAUX Judith	Parasitologie	M. TREINER Emmanuel	Immunologie
Mme FLOCH Pauline	Bactériologie-Virologie	Mme VALLET Marion	Physiologie
Mme GALINIER Anne	Nutrition	M. VERGEZ François	Hématologie
M. GANTET Pierre	Biophysique	Mme VUA Lavinia	Biophysique et médecine nucléaire

**M.C.U. Médecine générale**

M. BRILLAC Thierry  
M. CHICOULAA Bruno  
M. ESCOURROU Emile  
Mme GIMENEZ Laetitia

**Maîtres de Conférence Associés**

**M.C.A. Médecine Générale**

Mme BOURGEOIS Odile  
Mme BOUSSIER Nathalie  
Mme DURRIEU Florence  
Mme FRANZIN Emile  
M. GACHIES Hervé  
M. PEREZ Denis  
M. PIPONNIER David  
Mme PUECH Marielle  
M. SAVIGNAC Florian

## Remerciements

**A Madame le Professeur Jill Corre**, d'avoir accepté d'être la présidente de mon jury de thèse. Merci également de m'avoir guidé et soutenu(e) durant mes stages d'hématologie. J'admire votre compassion pour cette spécialité, votre pédagogie, votre travail remarquable et votre bienveillance envers nous, les internes. C'est un immense honneur pour moi de vous voir présider mon jury de thèse.

**A Monsieur le Docteur François Vergez**, pour m'avoir accompagné et encadré tout au long de ce travail. Merci pour ta chaleur humaine, ton soutien, ton humour et ta pédagogie. J'admire profondément le temps, l'énergie et la passion que tu consacres au laboratoire d'hématologie, ainsi qu'à notre apprentissage.

**A Madame le Professeur Véronique De Mas**, pour avoir accepté ce sujet de thèse. Merci pour tout ce que vous m'avez transmis lors de mes stages d'hématologie de niveau 1 et 2. Je vous suis sincèrement reconnaissant pour votre bienveillance, votre pédagogie, et l'attention que vous portez à chacun de vos internes.

**Aux docteurs Frédérique Dubois, Jean-Baptiste Rieu, Mathilde Marlas, Lucie Rigolot, Inès Vergnolle, Laetitia LARGEAUD**, un grand merci à vous pour votre accompagnement, votre compassion, et votre pédagogie envers nous. J'admire l'ampleur et la qualité de votre travail pour le laboratoire, qui sont immenses, précieux et très admirables.

**A ma famille**, ma mère, mon frère et ma sœur, que je garde toujours dans mon cœur et que j'aimerai pour toujours.

**A Hugo**, mon co-externe et meilleur ami de la faculté. Merci d'avoir toujours été là, à mes côtés, dans tous les moments joyeux et les moments difficiles.

**À tous mes co-internes et mes copains**, avec qui j'ai partagé les plus beaux moments de convivialité et de bonheur : **Mélanie, Léa, Morgane, Emma, Anouk, Hajar, Ramia, Angelo, Vincent, Carla, Candice, Rania et Ophélie, Servino, Tom**. Merci de m'avoir accompagnée et soutenue tout au long de l'internat. Votre soutien et votre compassion à mon égard sont uniques et incomparables. Je vous aime tous très fort.

## Le serment d'Hippocrate

“Au moment d’être admis(e) à exercer la médecine, je promets et je jure d’être fidèle aux lois de l’honneur et de la probité.

Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux. Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J’interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l’humanité.

J’informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n’exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences.

Je donnerai mes soins à l’indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis(e) dans l’intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçu(e) à l’intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l’indépendance nécessaire à l’accomplissement de ma mission. Je n’entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J’apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu’à leurs familles dans l’adversité.

Que les hommes et mes confrères m’accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonoré(e) et méprisé(e) si j’y manque “

## TABLE DES MATIERES

<b>TABLE DES MATIERES</b>	8
Liste de figure	11
List des tableaux	18
List de l'abréviation	19
<b>I. Résumé</b>	21
<b>II. Introduction</b>	22
<b>III. Hématopoïèse et cellules souches hématopoïétiques</b>	23
<b>III.1 Hématopoïèse</b>	23
Figure 1 : Hématopoïèse embryonnaire (Vincenzo et al., <i>Blood</i> , 2023)	23
<b>III.2 Généralités concernant les CSH</b>	25
<b>III.2.1 Les CSH sont des cellules multipotentes</b>	25
<b>III.2.2 Immunophénotype des CSH humaines de l'hématopoïèse physiologique</b>	26
<b>III.3 Des différents modèles de l'hématopoïèse</b>	29
<b>III.3.1 Le modèle séquentiel classique</b>	29
<b>III.3.2. Des modèles alternatifs de l'hématopoïèse classique</b>	30
<b>III.3.2.1 L'hématopoïèse selon Katsura (2002)</b>	30
<b>III.3.2.2 Modèle de Lai et Kondo (2006)</b>	30
<b>III.3.2.3 Modèle de Doulatov (2010)</b>	31
<b>III.3.2.4 Modèle d'hématopoïèse de Görgens (2013)</b>	32
<b>III.3.2.5 Modèle d'hématopoïèse avec by-pass érythro-mégacaryocytaire</b>	32
<b>III.3.2.6 Modèle « continuum » de l'hématopoïèse de Velten</b>	35
<b>III.3.2.7. Le modèle "continuum ponctué"</b>	36
<b>III.4 Origine de l'hétérogénéité des CSPH et de l'hématopoïèse</b>	37
<b>III.4.1 Le microenvironnement médullaire</b>	37
<b>III.4.2 Le vieillissement des CSPH participe à leur hétérogénéité fonctionnelle</b>	39
<b>III.4.3 La ségrégation asymétrique des CSPH</b>	42
<b>III.4.4 Les CSPH présentent des profils d'expression spécifiques de lignage</b>	45
<b>IV. Généralités sur les syndromes myéloprolifératifs</b>	46
<b>IV.1 Définition</b>	46
<b>IV.2 Description statistique de l'ensemble des SMP</b>	46
<b>IV.3 Tableau clinique et critères diagnostiques des SMP</b>	48
<b>IV.3.1 La thrombose vasculaire des SMP : incidence et mortalité</b>	48
<b>IV.3.2 Le caractère thrombophilique des SMP est de nature multifactorielle</b>	49
<b>IV.3.3 Stratification du risque thrombotique des SMP</b>	49
<b>IV.4 Diagnostic bioclinique des SMP et classification OMS 2022</b>	50
<b>IV.4.1 Polyglobulie de Vaquez</b>	50
<b>IV.4.2 Thrombocytémie essentielle</b>	51
<b>IV.4.3 Myélofibrose primitive</b>	52
<b>IV.5 Evolution naturelle des SMP : La transformation leucémique et la myélofibrose secondaire</b>	54
<b>IV.5.1 La MFP a le risque de transformation leucémique le plus élevé</b>	55
<b>IV.5.2 Le pronostic des patients atteints de SMP en phase blastique</b>	58

<b>V. Physiopathologie biomoléculaires des SMP</b>	60
<b>V.1 Les mutations motrices des SMP Phi - touchent JAK-2, MPL et CALR</b>	60
<b>V.2 Des mutations additionnelles, récurrentes impliquées dans les SMP phi-</b>	64
<b>V.2.1 On peut classer ces mutations additionnelles dans 5 groupes</b>	64
<b>V.2.2 Les mutations somatiques additionnelles sont aussi très fréquentes dans les SMP</b>	65
<b>V.2.3 Le profil d'un SMP peut varier en fonction du nombre et du type de mutations</b>	66
<b>V.3 Facteurs de prédisposition génétique</b>	67
<b>VI. Hématopoïèse des SMP : initiation et développement</b>	68
<b>VI.1 SMP et hématopoïèse clonale</b>	68
<b>VI.2 Apparition clonale et initiation de la maladie (SMP)</b>	69
<b>VI.3 Hématopoïèse clonale des SMP, âge et facteurs de risques</b>	70
<b>VI.4 La charge allélique est corrélée avec le statut SMP</b>	71
<b>VI.5 Optimisation de seuil du VAF des mutations motrices et l'âge de dépistage</b>	72
<b>VI.6 L'architecture clonale des CSH des SMP est complexe et hétérogène</b>	73
<b>VI.6.1 L'ordre des mutations joue un rôle important sur le phénotype des clones</b>	73
<b>VI.6.2 Evolution clonales et la transformation de la maladie</b>	74
<b>VI.6.3 Application de <i>Single-cell</i> et hématopoïèse et CSH et SMP</b>	74
<b>VI.6.4 La phylogénie et le <i>single-cell</i> pour identifier la 1ère mutation</b>	75
<b>VI.7 Hétérogénéité de l'hématopoïèse des SMP</b>	76
<b>VI.7.1 Hétérogénéité des CSH et initiation des SMP</b>	76
<b>VI.7.2 By-pass mégacaryocytaire dans l'architecture de l'hématopoïèse de la TE et MFP</b>	77
<b>VI.7.2.1 Architecture de l'hématopoïèse de la TE</b>	77
<b>VI.7.2.2 Architecture de l'hématopoïèse de la myélofibrose</b>	78
<b>VI.7.3 Caractérisation phénotypique et clonale de l'hématopoïèse des SMP</b>	80
<b>VI.8 <i>Single-cell</i> et mécanisme thérapeutique des SMP phi-</b>	82
<b>VI.9 Le microenvironnement pro-inflammatoire et l'hématopoïèse de SMP</b>	84
<b>VI.9.1 Le microenvironnement médullaire et les CSH de SMP</b>	84
<b>VI.9.2 La condition inflammatoire et l'hématopoïèse de SMP</b>	84
<b>VI.10 Conclusion du chapitre V</b>	89
<b>VII. La place de la CMF dans les SMP phi-</b>	90
<b>VIII. ETUDE</b>	91
<b>VIII.1 Objectifs de la thèse</b>	91
<b>VIII.2 Patients</b>	91
<b>VIII.3 Méthodes</b>	93
<b>VIII.3.1 Cytométrie en flux multiparamétrique et immunophénotypage</b>	93
<b>VIII.3.2 Logiciels Kaluza</b>	94
<b>VIII.4 Résultats</b>	96
<b>VIII.4.1 Les cellules souches hématopoïétiques et les progéniteurs des néoplasies myéloproliférative (NMP)</b>	96
<b>VIII.4.2 Hétérogénéité des sous populations des CSPH</b>	97
<b>VIII.4.3 L'architecture de l'hématopoïèse des MPN (autres que LMC)</b>	98
<b>VIII.4.3.1 Thrombocytémie essentielle et la polyglobulie de Vaquez</b>	99

VIII.4.3.2 La myélofibrose avec les mutations CALR et JAK2V617F	100
VIII.4.4 Complications vasculaires et splénomégalie des patients SMP phi-	101
VIII.4.5 Mutation somatique des patients SMP phi- du cohorte	102
VIII.4.5.1 Mutations motrices de SMP phi-	102
VIII.4.5.2 Mutations somatiques additionnelles des patients SMP phi-	103
VIII.4.5.3 Mutations somatiques des groupes de syndrome myéloproliférative/ myélodysplasique (SMP/SMD)	104
VIII.5. Discussion	105
VIII.5.1 Les CSPH CD34+	105
VIII.5.2 Biais de lignage mégacaryocytaire dans l'hématopoïèse de myélofibrose	106
VIII.5.3 L'amplification de la mégacaryopoïèse dans la TE et la PV	107
VIII.5.4 Conditions inflammatoires des SMP phi- et thrombose vasculaire	108
VIII.5.5 Résultats secondaires	109
VIII.5.5.1 Numération et formule sanguine des patients NMP	109
VIII.5.5.2 L'index de l'anisocytose érythrocytaire (IDR)	110
VIII.5.5.3 BOM et myélogramme des NMP	111
VIII.5.6 Limitation et perspectives	112
IX. Conclusion	113
X. Ressources bibliographique	115
XI. ANNEXES	134

## Liste des figures

Figure 1 : Hématopoïèse embryonnaire (Vincenzo et al., *Blood*, 2023)

Figure 2 : Hématopoïèse et localisation des CSH au cours de l'embryogenèse (Vincenzo et al., *Blood*, 2023)

Figure 3 : Principaux sites de l'hématopoïèse au cours de la vie intra-utérine (Garçon et al., *Hématologie*, 2024)

Figure 4 : Reconstitution de l'hématopoïèse des CSH humains (Boyer et al., *Stem Cell*, 2019)

Figure 5 : Les marqueurs de surface des CSH humaines les plus utilisés en clinique et en recherche chez l'être humain (Anjos-Afonso et al., *Blood*, 2023)

Figure 6 : Capacité de repopulation des CSH CD34<sup>+</sup> et CD34<sup>-</sup> (Sumide et al., *Nat. Comm.*, 2018)

Figure 7 : Les CSH CD34<sup>+</sup> se fixent sur les sélectines de l'endothélium (AbuSamra et al., *Blood Adv*, 2017)

Figure 8 : Capacité de renouvellement *in vivo* des CSH de sang de cordon (Afonso et al., *Nature*, 2013)

Figure 9 : Continuum de l'expression de CD34<sup>+</sup>, de CLEC9A et du potentiel des CSH (Belluschi et al., *Nature*, 2018)

Figure 10 : L'expression de GPRC5C et la quiescence des CSH (Zhang et al., *Nature*, 2022)

Figure 11 : L'auto-renouvellement des CSH selon l'expression de CD201/CD90 (Anjos-Afonso et al., *Nat. Comm.*, 2022)

Figure 12 : Modèle classique d'hématopoïèse humaine (Liggett et al., *Cell*, 2020)

Figure 13 : Modèle d'hématopoïèse avec des progéniteurs mixtes (Katsura et al., *Nat Rev Immunol*, 2002)

Figure 14 : Modèle d'hématopoïèse de Lai et Kondo (Ceredig et al., *Nat. Rev. Immunol.*, 2009)

Figure 15 : Modèle d'hématopoïèse selon Doulatov (Doulatov et al., *Cell Stem Cell*, 2012)

Figure 16 : Hématopoïèse humaine (Göttgens et al., *Cell Rep*, 2013)

Figure 17 : Hématopoïèse murine et le *bypass* mégacaryocytaire (Haas et al., *Cell Stem Cell*, 2015)

Figure 18 : Hématopoïèse humaine avec *bypass* mégacaryocytaire (Sumide et al., *Nat. Comm.*, 2018)

Figure 19 : Potentiel et signature phénotypique méga-érythrocytaire des CSH CD34<sup>-</sup> versus

CD34<sup>+</sup> (Sumide et al., *Nat. Commun.*, 2018)

Figure 20 : Expression phénotypique mégacaryocytaire (CD41<sup>+</sup>) du pool CSPH (Miyawaki et al., *Blood*, 2017)

Figure 21 : Les CMP avec expression transcriptionnelle mégacaryocytaire

Figure 22 : Reconstruction de l'hématopoïèse par l'étude *single-cell* (Velten et al., *Nat. Cell Biol.*, 2017)

Figure 23 : Chaque CSPH est un arc-en-ciel (Karen et al., *Cell*, 2017)

Figure 24 : Modèle du « continuum ponctué » (Liggett et al., *Cell*, 2020)

Figure 25 : Hématopoïèse en continuum, avec les états de transition et les voies interconnectées (Laurenti et al., *Nat. Immunol.*, 2018)

Figure 26 : Microenvironnement médullaire et les CSH (Boulais et al., *Blood*, 2015)

Figure 27 : Les CSH et le rôle instructif des cytokines (Geoffrey Brown et al., *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2021)

Figure 28 : Métabolisme des CSH (Papa et al., *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2020)

Figure 29 : Hématopoïèse d'urgence (Zhao et al., *Blood*, 2023)

Figure 30 : Potentiel souche et pool de CSH murin selon l'âge (Haan et al., *Blood*, 2018)

Figure 31 : Caractéristiques des CSH murines selon l'âge (Dykstra et Haan, *J. Exp. Med.*, 2011)

Figure 32 : CSH murines et vieillissement (Bernitz et al., *Cell*, 2016)

Figure 33 : CSPH et vieillissement A (Pang et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2011) et B (Amoah et al., *Haematologica*, 2022)

Figure 34 : Étude fonctionnelle et potentiel myéloïde/lymphoïde selon l'âge (Pang et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2011)

Figure 35 : Comparaison des progéniteurs chez les patients jeunes et âgés (Amoah et al., *Haematologica*, 2022)

Figure 36 : Cycle cellulaire des CSH chez les sujets jeunes versus les sujets âgés (Pang et al., *PNAS*, 2011)

Figure 37 : Cycle cellulaire des CSH selon l'âge (Amoah et al., *Haematologica*, 2022)

Figure 38 : Stochasticité (Hass et al., *Cell Stem Cell*, 2018)

Figure 39 : Ségrégation asymétrique des marqueurs membranaires des CSPH CD34<sup>+</sup> (Beckmann et al., *Blood*, 2007)

Figure 40 : DCA de la myosine et de CD133<sup>+</sup> (Nunes et al., *Front. Hematol*, 2024)

Figure 41 : Expression de la myosine IIB selon la hiérarchie de l'hématopoïèse (Shin et al., *Cell*

*Stem Cell*, 2014)

Figure 42 : DCA des marqueurs CD133 et CD45RA des progéniteurs MPP (Goergens et al., *Stem Cell Rep.*, 2014)

Figure 43 : DCA lysosomale et mitochondriale et des marqueurs (CD49c, CD34, CD71) (Loeffler et al, *Blood*, 2022)

Figure 44 : Engagement et lignages des CSH dans un modèle d'hématopoïèse en continuum (Haas, *Cell Stem Cell*, 2018)

Figure 45 : Survie nette standardisée selon l'âge des patients atteints de SMP phi- (Mounier et al., *Santé publique France*, 2021)

Figure 46 : Physiopathologie de la thrombose dans les SMP (Reeves et al., *Curr. Hematol. Malig. Rep.*, 2021).

Figure 47 : Score ARTS prédictif de la thrombose artérielle (Pasquer et al., *Leukemia*, 2024)

Figure 48 : Moelle osseuse de PV (Ng et al., *Int. J. Lab. Hematol.*, 2023)

Figure 49 : Moelle osseuse de la TE (Ng et al., *Int. J. Lab. Hematol.*, 2023)

Figure 50 : SNS et mortalité des patients atteints de MFP selon l'âge (Cornet et al., *Santé public France* ,2021)

Figure 51 : MO de MFP (Ng et al., *Int. J. Lab. Hematol.*, 2023)

Figure 52 : Pronostic de la myélofibrose selon le risque moléculaire (Vannucchi et al., *Leukemia*, 2013)

Figure 53 : Courbes de survie des patients atteints de MFP en fonction des mutations motrices et du score IPSS

(Rumi et al., *Blood*, 2014)

Figure 54 : Stratification du risque de survie selon le score MTSS (Gagelmann et al., *Blood*, 2019)

Figure 55 : Survie post-allogreffe des patients atteints de SMP transformés en MF versus en LAM (Lussana et al., *Haematologica*, 2014)

Figure 56 : Survie des patients SMP-PB (Tefferi et al., *Leukemia*, 2018)

Figure 57 : Courbes de survie post-allogreffe des patients atteints de SMP acutisés en LAM (Patel et al., *Blood Advances*, 2024)

Figure 58 : Implication des mutations drivers dans la PV, la TE et la MFP (Plo et al., *Horizons Hémato*, 2017)

Figure 59 : Mécanisme moléculaire commun aux PV, TE et MFP (Szybinski, *Hematol. Oncol. Clin. North Am.*, 2021)

Figure 60 : La pousse spontanée et indépendante de l'EPO avec l'hypersensibilité des CSPH mutées JAK2 V617F à l'EPO (Dupont et al, *Blood*, 2007)

Figure 61 : Activation constitutive de la voie JAK-STAT5 (James et al, *Nature*, 2005)

Figure 62 : La mutation MPL (Pikman et al., *PLoS Med*, 2006)

Figure 63 : Mutation de CALR (Vainchenker et al., *Blood*, 2017)

Figure 64 : Fréquence des mutations de CALR dans la TE et la PV (Pietra et al., *Leukemia*, 2016)

Figure 65 : Mécanisme paracrine des cellules mutées CALR (Pecquet et al., *Blood*, 2023)

Figure 66 : Thrombose et transformation fibrotique selon la mutation motrice dans la TE (Pietra et al, *Leukemia*, 2016)

Figures 67: Mutations somatiques (motrices et additionnelles) impliqués dans les SMP (Maslah et al., *Leukemia*, 2023)

Figure 68 : Implication des mutations additionnelles dans la SMP (Grinfeld et al., *NEJM*, 2018)

Figure 69 : Répartition des mutations additionnelles des SMP (Lundberg et al., *NEJM*, 2014)

Figure 70 : Distribution des cinq groupes de mutations additionnelles dans les phases chronique et blastique des SMP (Walter et al., *Leukemia*, 2024)

Figure 71 : Phénotype prolifératif et/ou myélodysplasique selon les mutations (Vainchenker et al., *Blood*, 2017)

Figure 72 : La fréquence allélique est inversement corrélée à la pénétrance (Luque Paz et al., *Blood*, 2023)

Figure 73 : Évolution clonale des SMP (Luque Paz et al., *Blood*, 2023)

Figure 74 : Hématopoïèse clonale des SMP (Luque Paz et al., *Blood*, 2023)

Figure 75 : Intervalle entre le don de sang et la découverte d'un SMP (McKerrell et al., *Blood Advances*, 2017)

Figure 76 : L'hémopathie clonale augmente avec l'âge (McKerrell et al., *Cell*, 2015)

Figure 77 : Les mutations à l'échelle de la population danoise (Cordua et al., *Blood*, 2019)

Figure 78 : Risque hématologique en fonction du statut mutationnel et de la VAF (Jaiswal et al., *NEJM*, 2014)

Figure 79 : VAF JAK2 des patient SMP et non SMP (Nielsen et al, *Haematologica*, 2014)

Figure 80 : Optimisation du dépistage en fonction du VAF et de l'âge (Hermange G, *Proc. Natl.*

*Acad. Sci.*, 2022)

Figure 81 : Architecture clonale du SMP (Maslah et al., *Leukemia*, 2023)

Figure 82 : Effet de l'ordre des mutations motrices et additionnelles et phénotype des SMP (Ortmann et al., *NEJM*, 2015)

Figure 83 : Modèle de l'évolution clonale de la phase chronique à la phase blastique des SMP (Walter et al., *Nature*, 2024)

Figure 84 : Application de *single-cell* dans l'hématopoïèse (Safina et al., *Blood*, 2024)

Figure 85 : Etude de *single-cell* phylogénique permettant d'établir l'architecture clonale du SMP (Van Egeren et al., *Cell Stem Cell*, 2021)

Figure 86 : Estimation du temps d'acquisition des mutations motrices (Hermange et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2022)

Figure 87 : Hétérogénéité des CSH dans l'initiation des SMP (Mead et al., *Blood*, 2017)

Figure 88 : Expression phénotypique et moléculaire mégacaryocytaire des CSPH dans la TE (Tong et al., *Cell Stem Cell*, 2021)

Figure 89 : Hématopoïèse de la TE (Miyawaki et al., *Blood*, 2017)

Figure 90 : Architecture de l'hématopoïèse de la TE (Miyawaki et al., *Blood*, 2017)

Figure 91 : Étude *single-cell* de l'hématopoïèse concernant la MFP (Psaila et al., *Molecular Cell*, 2020)

Figure 92 : Comparaison de la répartition des CSPH chez les patients atteints de MFP et les sujets sains (Psaila et al., *Molecular Cell*, 2020)

Figure 93 : Culture clonogénique des différentes CSPH CD41<sup>-</sup> (Psaila et al., *Molecular Cell*, 2020)

Figure 94 : Architecture de l'hématopoïèse analysée en *single-cell* transcriptomique des CSPH chez les patients atteints de MFP (Psaila et al., *Molecular Cell*, 2020)

Figure 95 : Expression phénotypique et transcriptionnelle de G6B des CSPH CD34<sup>+</sup> CD41<sup>+</sup> et CD41<sup>-</sup> dans la MFP (Psaila et al., *Molecular Cell*, 2020)

Figure 96 : Effet clonal de JAK2 V617F au cours de la différenciation des CSPH (Dupont et al., *Blood*, 2007)

Figure 97 : Effet clonal des mutations CALR sur l'hématopoïèse des SMP (El-Khoury et al., *Oncogene*, 2020)

Figure 98 : Effet de la clonalité des 2 types de mutation CALR (El-Khoury et al., *Oncogene*, 2020)

Figure 99 : Caractérisation moléculaire au cours de la myélopoïèse des SMP (Angona et al., *Leukemia*, 2016)

Figure 100 : Application de l'analyse *single-cell* dans la réponse thérapeutique des SMP (O'Sullivan., *Blood*, 2023)

Figure 101 : Réponse à l'IFN dans la TE mutée JAK2 V617F (Tong et al, *Cell Stem Cell* 2021)

Figure 102 : Réponse à l'IFN, apoptose et cycle cellulaire chez les patients TE traités (Tong et al, *Cell Stem Cell* 2021)

Figure 103 : Réponse à l'IFN en fonction des mutations motrices et de la zygotie (Mosca et al., *Blood*, 2021)

Figure 104 : Répartition des CSPH dans la moelle osseuse dans la TE et la PV (Grockowiak et al., *Nature*, 2023)

Figure 105 : Le potentiel des CSH murines est réduit avec l'inflammation (Bogeska et al., *Cell Stem Cell*, 2022)

Figure 106 : Rôle de l'IL-1 et expansion clonale des CSH murines dans les SMP (Rai et al., *Blood*, 2019)

Figure 107 : Les CSH mutées sécrètent de l'IL-1, induisant la destruction neuronale et l'apoptose des cellules souches stromales (Arranz et al., *Nature*, 2014)

Figure 108 : Moelle osseuse de patients atteints de SMP montrant une réduction significative des cellules souches stromales (Arranz et al., *Nature*, 2014)

Figure 109 : Corrélation entre le TNF et la VAF de JAK2 et la résistance des CSPH CD34+ mutées à la suppression par le TNF (Fleischman et al., *Blood*, 2011)

Figure 110 : Hypersensibilité au TNF et avantage clonal des CSPH dans les SMP (Fleischman et al., *Blood*, 2011)

Figure 111 : Hypersensibilité aux IFN ( $\alpha$  et  $\gamma$ ) des CSPH primées mégacaryocytaires (Tong et al., *Cell Stem Cell*, 2021)

Figure 112 : L'implication des mécanismes de l'inflammation dans le SMP

A (Zhao et al., *Blood*, 2023). B (Jacquelin et al., *Blood*, 2018).

Figure 113 : Facteurs cyto-génétiques participant au développement et à l'hétérogénéité phénotypique des SMP phi- A (Masselli et al., *Cells*, 2020) B (Mead et al., *Blood*, 2017)

Figure 114 : Composition des groupes et des sous-groupes de l'étude

Figure 115 : Fenêtrage de population des leucocytes CD34+ en CMF

Figure 116 : Exemple de stratégie de fenêtrage (gating) des CSPH chez une patiente de 76 ans

de la cohorte atteinte de myélofibrose primitive

Figure 117 : Comparaison de la répartition des CSPH CD34+ entre les trois groupes de patients (LMC, NMP non LMC et les témoins)

Figure 118 : Hétérogénéité des CSPH CD34+ dans les 3 groupes (la LMC, NPM non LMC et les sujets témoins)

Figure 119 : Répartition des CSPH CD34+ dans l'hématopoïèse des groupes de la LMC, NPM non LMC et les sujets normaux

Figure 120 : Comparaison du taux des progéniteurs CD34+CD38 fort, les MEP et GMP entre les groupes (la TE, la PV et les témoins)

Figure 121 : Répartition des 3 sous-populations des CD34+ concernant les groupes MF CALR et MF JAK2V617F

Figure 122 : Comparaison des proportions de CSPH entre les groupes (MF et témoins)

Figure 123 : La splénomégalie et les complications vasculaires des SMP phi-

Figure 124 : Répartition des mutations motrices des patients SMP phi- des patients de la cohorte

Figure 125 : Les mutations additionnelles des patient SMP phi-

Figure 126 : Répartition des mutations somatiques des patients SMP/SMD de la cohorte

Figure 127 : Les résultat observé chez les patient MF de notre cohorte et dans l'étude de Psaila et al (2020)

Figure 128 : Les progéniteurs MEP dans la TE de l'étude de Miyawaki et al., et de notre étude

Figure 129 : Risque relatif de thromboses vasculaires selon le NLR et l'hyperleucocytose  
A (Gerd et al., *Blood*, 2024). B (Barbui et al., *Nature*, 2024)

Figure 130 : Étude de la relation entre le ratio NLR et le SMP (Larsen et al., *Blood Cancer J.*, 2024)

Figure 131 : Les valeurs moyens de NFS des patients NMP

## Liste des tableaux

Tableau 1 : Immunphénotype des progéniteurs CD34+

Tableau 2 : La synthèse épidémiologique des SMP en France

Tableau 3 : Critères diagnostiques de la PV selon la classification de l'OMS 2022

Tableau 4 : Critères diagnostiques de la TE selon la classification de l'OMS 2022

Tableau 5 : La présentation clinique et biologique de la myélofibrose

Tableau 6 : Les critères diagnostiques de la myélofibrose selon OMS et ICC 2022

Tableau 7 : Risque de transformation hématologique des SMP phi- selon différentes études

Tableau 8 : Synthèse des mutations motrice dans le syndrome myéloprolifératives

Tableau 9 : Les études de cytémétrie en flux et leur rôle dans les SMP et SMP/SMD

Tableau 10 : Caractérisation générale des groupes et sous-groupes de patients

Tableau 11 : Les anticorps ainsi que les fluorochromes utilisés dans le panel HSPC

Tableau 12 : Complications vasculaires, de la splénomégalie des patients SMP phi-

Tableau 13 : Synthèse des mutations motrice des SMP Phi- des patients

Tableau 14 : Mutations additionnelles des patients SMP Phi -

Tableau 15 : Anomalies biomoléculaires de la SMP/SMD (Tous SMP/SMD, LMMC, SMD-i, SMP/SMD T-RS)

Tableau 16 : Valeur de IDR (Index de l'anisocytose érythrocytaire) des patients SMP/SMD

Tableau 17 : Valeur moyen des grades de la BOM et du myélogramme des patients ayant la myélofibrose

## Liste des abréviations

AGM : Aorte-gonades-mésonephros	EDTA : Acide éthylène diamine tétra-
AVC/AIT : Accident vasculaire	acétique
cérébral/Accident ischémique transitoire	ELP : Early lymphoid progenitor
BFU-E : Burst forming unit-erythroid	EMP : Progéniteur érythromyéloïde
BOM : Biopsie ostéomédullaire	EPO : Erythropoïétine
CALR : Calréticuline	FACS : Fluorescence Activated Cell Sorting
CD : Cluster of differentiation	GR : Globule rouge
CFU-E : Colony-forming unit erythroid	G-CSF : Granulocyte-colony stimulating
CFU-G : Colony-forming unit granulocyte	factor
CFU-GEMM : Colony-forming unit	GM-CSF : Granulocyte-macrophage-colony
granulocyte-erythroid-megakaryocyte-	stimulating factor
monocyte	GMP : Progéniteur granulocytaire-
CFU-GM : colony-forming unit	monocytaire
granulocyte-monocyte	Hb : Hémoglobine
CFU-M : colony-forming unit monocyte	HC: Hématopoïèse clonale
CFU-MK : Colony-Forming Unit	HSC: Haematopoietic stem cell
Megakaryocytes	HSPC: Hematopoietic stem and progenitor
CGR : Concentré de globules rouges	cells
CHIP : Hématopoïèse clonale de	Ht : Hématocrite
signification indéterminée	ICC : International Consensus Classification
CLP : Common lymphoid progenitor	IFN : Interféron
CMP : Common myeloid progenitor	IL : Interleukine
CMF : Cytométrie en flux	ITK : Inhibiteur de tyrosine kinase
CRP : Protéine C réactive	JAK2: Janus kinase 2
CSH : Cellule souche hématopoïétique	IAHCS: Intra-aortic hematopoietic clusters.
CSPH : Cellule souche et les progéniteur	LA : leucémie aiguë
multipotentes hématopoïétique	LAM : leucémie aiguë myéloïde
DAMP : Damage associated molecular	LDH : Lactate déshydrogénase
pattern	LMC : leucémie myéloïde chronique
DCA : Division cellulaire asymétrique	LMMC : Leucémie myélomonocytaire

chronique

LMPP : lymphoid-primed multipotent progenitor

MO : Moelle osseuse

MFP : Myéloblastose primitive

MF : Myéloblastose

MGUS : Gammopathies monoclonales de signification indéterminée

MEP : Progéniteurs mégacaryocytaire/érythrocytaire

MLP : Progéniteur multilymphoïde commun

MBP : Myeloid–B-cell progenitor

MEP : Myeloid–erythroid progenitor

MPP : Multipotent progenitor

MPL : Myeloproliferative Leukaemia Gene

MTP : Myeloid–T-cell progenitor

NA : Non applicable

NMP : Néoplasie myéloblastique

NFS : Numération et formule sanguine

OMS : Organisation mondiale de la santé

PAMP : Pathogen-associated molecular pattern

PLQ : Plaquette

PNN : Polynucléaires neutrophiles

PNE : Polynucléaire éosinophile

PNB : Polynucléaire augmenté

PV : Polyglobulie de Vaquez

SCF : Stem cell factor

SDF1: Stromal cell-derived factor-1

SMP : Syndromes myéloblastiques

SMD : Syndromes myéloblastiques

SNS : Survie nette standardisé

TE : Thrombocytémie essentielle

TNF: Tumor necrosis factor

TPO: Thrombopoïétine

VGM : Volume globulaire moyen

TVP : Thrombose veineuse profonde

## I. Résumé

Aujourd'hui, l'application des techniques de cytométrie en flux (CMF) joue un rôle essentiel dans la prise en charge des hémopathies malignes dans la plupart des centres hématologiques à travers le monde, notamment pour les leucémies aiguës myéloïde et lymphoïde.

La cytométrie en flux est la technique de choix pour détecter les cellules souches et les progéniteurs hématopoïétiques (CSPH) au diagnostic et lors du suivi, grâce aux connaissances sur leurs marqueurs de surface.

De nombreux travaux ont permis d'établir les marqueurs des CSH applicables et utiles en pratique clinique ainsi qu'en recherche, facilitant une caractérisation de plus en plus précise de leur rôle dans l'hématopoïèse maligne des hémopathies myéloïdes.

Dans les syndromes myéloprolifératifs (SMP), la physiopathogénie est décrite comme une atteinte acquise et clonale touchant les cellules souches hématopoïétiques et les progéniteurs. La classification de l'OMS 2022 distingue les SMP phi+ (présence de la translocation t(9;22)) et les SMP phi-, comprenant la thrombocytémie essentielle (TE), la polycythémie vraie (PV) et la myélofibrose primitive (MFP), ainsi que l'entité frontière des syndromes myéloprolifératifs/myélodysplasiques, dont la leucémie myélomonocytaire chronique (LMMC).

De nombreuses recherches et études portent sur l'hématopoïèse et les CSH dans les SMP phi+ et phi-, mais très peu d'études s'intéressent à la compréhension de leur architecture hématopoïétique. Une approche synthétique et analytique par CMF pourrait permettre de mieux comprendre l'organisation des CSH et des CPH dans les SMP.

Mon travail de thèse consiste à explorer cette voie afin, d'une part, de synthétiser et d'analyser les connaissances actuelles sur les CSH dans les SMP et, d'autre part, de décrire les caractéristiques architecturales des CSPH dans les SMP phi-.

**Liens d'intérêts : déclaration d'aucun liens d'intérêts**

## II. Introduction

Les syndromes myéloprolifératives (SMP) ont été décrites pour la première fois en 1951 par William Dameshek comme une prolifération des précurseurs hématopoïétiques dans la moelle osseuse (MO) et des cellules matures dans le sang (1).

Le caractère clonal de la polyglobulie de Vaquez (PV) a ensuite été suggéré en 1976 par John W. Adamson, qui a mis en évidence la présence unique de G6PD de type A dans les cellules sanguines de deux patientes atteintes de PV, toutes deux hétérozygotes (GdB/GdA) pour le locus de la G6PD, situé sur le chromosome X (2).

L'origine et le mécanisme génétique précis de ces maladies sont restés longtemps inconnus. Ce n'est qu'en 2005 que la découverte des mutations du gène Janus Kinase 2 (JAK2) par James et al., a marqué un tournant dans la compréhension de la physiopathologie des SMP (3). Cette avancée a permis d'améliorer significativement la prise en charge thérapeutique des patients atteints de SMP, notamment grâce à l'émergence de traitements ciblés, tels que le Ruxolitinib (4) (5).

Dans la même dynamique de recherche, Jamieson et al. (2006) ont mis en évidence la présence de la mutation de JAK-2 dans les CSH, ainsi que ses effets sur l'hématopoïèse dans la polyglobulie de Vaquez (6). Ensuite, en 2014, Lundberg et al. ont démontré qu'un SMP pouvait se développer à partir d'une seule CSH mutée JAK2 dans un modèle expérimental de souris transplantées (7).

Avec l'ensemble de ces preuves scientifiques solides accumulées au cours des 20 dernières années, les SMP sont aujourd'hui considérés comme des maladies acquises et clonales, affectant les cellules souches et les progéniteurs hématopoïétiques (CSH). Ils sont caractérisés par l'apparition d'anomalies génétiques acquises des CSH, responsables de l'activation anormale de la signalisation proliférative intracellulaire. L'effort de la communauté scientifique dans la recherche sur les CSH et l'architecture de l'hématopoïèse, et notamment sur les SMP, a permis des connaissances avancées et approfondies en biologie de la recherche, ainsi que des applications cliniques et thérapeutiques innovantes dans les hémopathies malignes. Nous développons dans les parties III, IV, V et VI la synthèse de ces connaissances et, dans les parties VII et VIII, notre étude sur l'architecture de l'hématopoïèse.

### III. Hématopoïèse et cellules souches hématopoïétiques

#### III.1 Hématopoïèse

L'hématopoïèse humaine démarre très tôt dans la vie fœtale, durant le développement embryonnaire, et comprend deux étapes principales (8) (9) (10) (11).

L'hématopoïèse primitive débute vers la 2,5<sup>e</sup> semaine d'aménorrhée (SA, J17-J21), avec le développement des cellules souches hématopoïétiques primitives (CSH) dans le sac vitellin (d'origine mésodermique) de l'embryon. Ces CSH primitives ont un potentiel limité : elles donnent principalement naissance aux érythroblastes, aux mégacaryocytes et aux macrophages primitifs. Vers J23, elles colonisent une première fois le foie (8) (9) (10) (12) (13) (14).

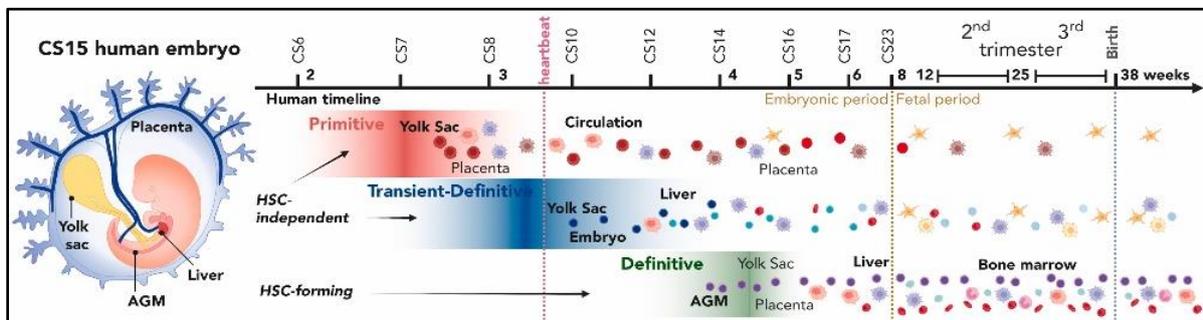


Figure 1 : Hématopoïèse embryonnaire (Vincenzo et al., *Blood*, 2023)

Chez l'être humain, l'hématopoïèse primitive débute dans le sac vitellin entre la 2<sup>e</sup> et la 3<sup>e</sup> semaine d'aménorrhée (SA). Les premières cellules souches hématopoïétiques (CSH) de l'hématopoïèse primitive produisent principalement la lignée érythroblastique primitive. Ensuite, lors d'une étape transitoire (hématopoïèse pré-définitive durant la 3<sup>e</sup> SA), les CSH primitives colonisent le foie. L'hématopoïèse définitive commence dès la 4<sup>e</sup> SA avec l'émergence des CSH définitives à partir de la région aorte-gonades-mésonephros.

L'hématopoïèse définitive prend le relais entre la 4<sup>ème</sup> et la 6<sup>ème</sup> SA et les CSH définitives ont pour l'origine de l'endothélium artériel embryonnaire (12) (15) (16). Les 1<sup>ère</sup> CSH définitives émergent de manière prédominante d'un cluster appelé IAHCs (intra-aortic hematopoietic clusters) au niveau de la partie ventrale de l'aorte dorsale primitive dans une région nommée l'aorte-gonades-mésonephros (AGM) (10) (12) (15) (17) (18) (19) (20) (21).

La transition entre l'hématopoïèse primitive et l'hématopoïèse définitive humaine reste encore incomplètement comprise. L'utilisation de la cytométrie en flux (CMF) et, plus généralement, des techniques de *single-cell*, pour l'étude de l'hématopoïèse embryonnaire a permis ces dernières années de mieux la caractériser (10). Par exemple, le CD201 et le CD45 sont identifiés par Zhou et al., en 2016, comme des marqueurs distinctifs : les CSH primitives de l'hématopoïèse primitive et de l'étape transitoire sont de phénotype CD201<sup>+</sup>CD45<sup>-</sup>, alors que les CSH définitives d'origine AGM sont de phénotype CD201<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup> (22).

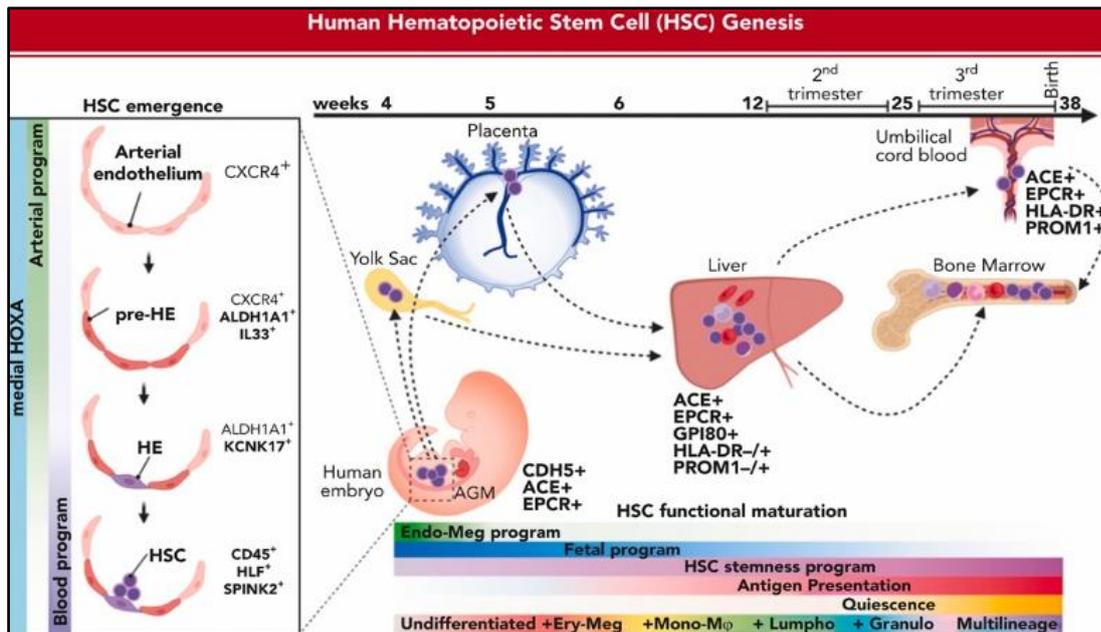


Figure 2 : Hématopoïèse et localisation des CSH au cours de l'embryogenèse (Vincenzo et al., *Blood*, 2023)

L'hématopoïèse définitive débute vers la 4<sup>ème</sup> SA et les CSH ont pour origine l'endothélium artériel embryonnaire. Ils émergent au niveau d'un cluster nommé IAHS (cluster hématopoïétique intra-aortique) de la région AGM. Ils colonisent ensuite successivement différents organes dont le placenta et le foie durant le 1<sup>ère</sup> trimestre, puis la moelle osseuse (pendant le deuxième trimestre) et le cordon ombilical (en fin de la grossesse) (10).

Finalement, les CSH arriveront dans un 2<sup>ème</sup> temps dans la moelle osseuse(MO), vers le début du deuxième trimestre (1) (5) (9) (12-14).

Ainsi, entre le 2<sup>ème</sup> et le 7<sup>ème</sup> mois, le foie et la rate sont les deux sites principaux de l'hématopoïèse fœtale. Ce n'est qu'à la fin de la vie intra-utérine que la MO assure le rôle principal. Après la naissance, la MO est le site exclusif de l'hématopoïèse (18).

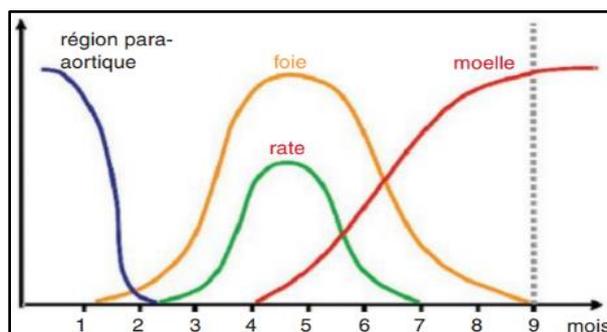


Figure 3 : Principaux sites de l'hématopoïèse au cours de la vie intra-utérine (Garçon et al., *Hématologie*, 2024)

- L'hématopoïèse embryonnaire débute tôt dans la région para-aortique et assure son rôle principal durant les 2 premiers mois de la grossesse
- Le foie et la rate sont les deux principaux sites d'hématopoïèse fœtale pendant les deux premiers trimestres
- L'hématopoïèse dans la MO démarre vers le 4<sup>ème</sup> mois et devient le relais principal à la fin de la vie intra-utérine (18).

## III.2 Généralités concernant les CSH

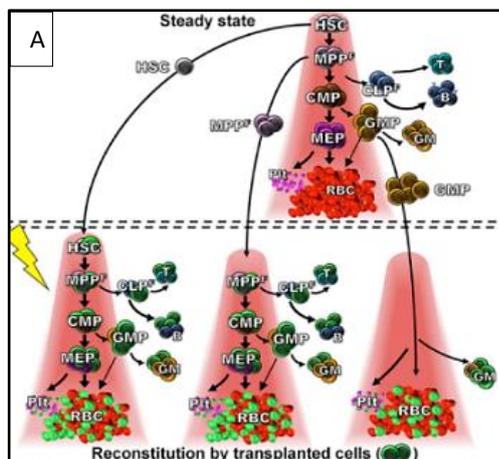
### III.2.1 Les CSH sont des cellules multipotentes

Les CSH sont caractérisées par leurs capacités d'auto-renouvellement et de reconstitution de l'hématopoïèse complète (8) (16) (17). Chez l'être humain, les CSH à long terme (CSH-LT) ont la capacité d'auto-renouvellement la plus importante et la plus durable. Elles génèrent ensuite les CSH à moyen et court terme, qui sont aussi capables de reconstituer complètement l'hématopoïèse (18) (19).

Le caractère multipotent des CSH a été vérifié par plusieurs études expérimentales comme celles de de Notta et al. (20) (28), de Boyer et al. (25), de Sumide et al. (29), et de Psaila et al. (30).

Ils ont d'une part mis en évidence par le caractère multipotent des CSH, capable de reproduire toutes les lignées hématopoïétiques en aval par culture couplée à des analyses de *single-cell*. D'autre part, ils ont montré la prédominance de productions érythro-mégacaryocytaires des cellules souches et progénitrices humaines (CSPH).

Notta et al. retrouvent également la prédominance du potentiel érythro-mégacaryocytaire, aussi bien des CSPH fœtales que de celles de l'adulte (20) (28).

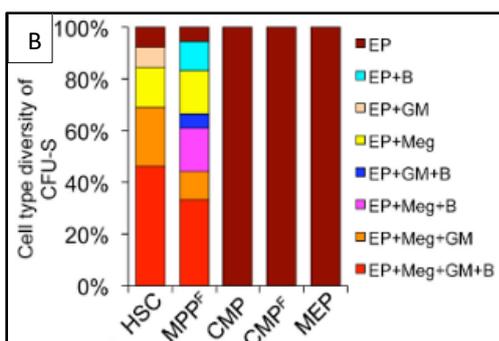


**Figure 4 : Reconstitution de l'hématopoïèse des CSH humains (Boyer et al., *Stem Cell*, 2019)**

A : L'étude *single-cell* de Boyer et al., montre à la fois *in vitro* (culture clonogénique) et *in vivo* (modèle de souris xénotransplantée) que les CSH possèdent un caractère multipotent et un fort potentiel érythro-mégacaryocytaire.

B : Culture *in vitro* des CSPH. Les épreuves de culture fonctionnelle montrent la prédominance des CFU érythroïdes et mégacaryocytaires (CFU-EP et CFU-Meg).

C : Régénération de l'hématopoïèse *in vivo* chez la souris xénotransplantée de CSH. Les résultats montrent une prédominance de la régénération des lignées érythro-mégacaryocytaires par les CSPH.

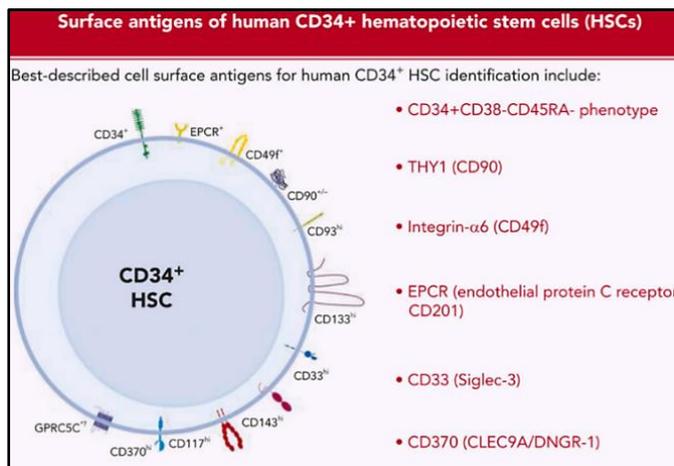


	. Approximate Proportion of the Absolute Number of Cells Generated by Each Transplanted Progenitor Cell Type				
	RBC	Plt	GM	B	T
HSC	86.2	7.22	2.87	2.48	1.25
MPP <sup>F</sup>	98.3	0.56	0.47	0.31	0.33
CMP	99.7	0.26	0.01	nd	nd
CMP <sup>F</sup>	99.4	0.29	0.31	nd	nd
GMP	90.8	0.79	8.37	nd	nd
MEP	99.9	0.12	nd	nd	nd
CLP	nd	nd	nd	91	9

### III.2.2 Immunophénotype des CSH humaines de l'hématopoïèse physiologique

Grâce aux différentes recherches menées depuis 30 ans, l'immunophénotypage des CSH s'est progressivement enrichi. Sa connaissance a permis le développement d'applications cliniques et de recherche.

Les CSH humaines peuvent être identifiées actuellement par cytométrie en flux grâce aux marqueurs CD34, CD38 et CD45RA (31), bien que leurs rôles cellulaires précis restent encore très peu connus chez homme.



**Figure 5: Les marqueurs de surface des CSH humaines les plus utilisés en clinique et en recherche chez l'être humain (Anjos-Afonso et al., Blood, 2023)**

Les CSH sont de phénotype CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup>CD45RA<sup>-</sup>. D'autres marqueurs pour l'identification des différentes sous-populations de CD34<sup>+</sup> sont :

- CD90 (THY1)
- CD49f (Intégrine  $\alpha$ 6)
- CD201 (EPCR)
- CD33 (Singlec-3)
- CD370 (CLEC9A)

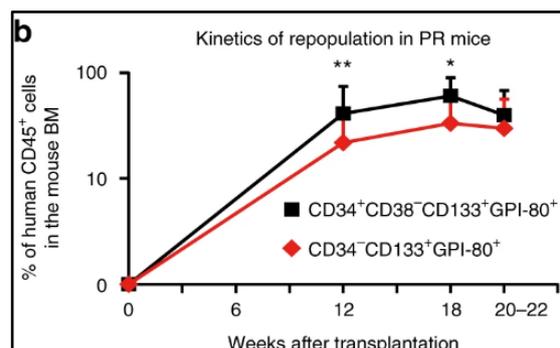
La glycoprotéine transmembranaire sialomucine de type I, ou CD34, est le marqueur le plus utilisé dans la pratique de routine pour identifier les CSPH. Cependant, de très rares CSH humaines CD34<sup>-</sup> existent et se situent au sommet de l'hématopoïèse (26,29).

Par la combinaison des marqueurs CD133 et GPI-80, Sumide et al indiquent que les CSH CD34<sup>-</sup> (Lin<sup>-</sup>CD34<sup>-</sup>CD133<sup>+</sup>GPI-80<sup>+</sup>) sont à l'apex de la hiérarchie hématopoïétique et peuvent donner naissance aux CSH CD34<sup>+</sup> (Lin<sup>-</sup>CD34<sup>+</sup>CD133<sup>+</sup>GPI-80<sup>+</sup>/-). Ces deux populations de CSH humaines ont une grande capacité d'auto-renouvellement, démontrée par Sumide et al., (29).

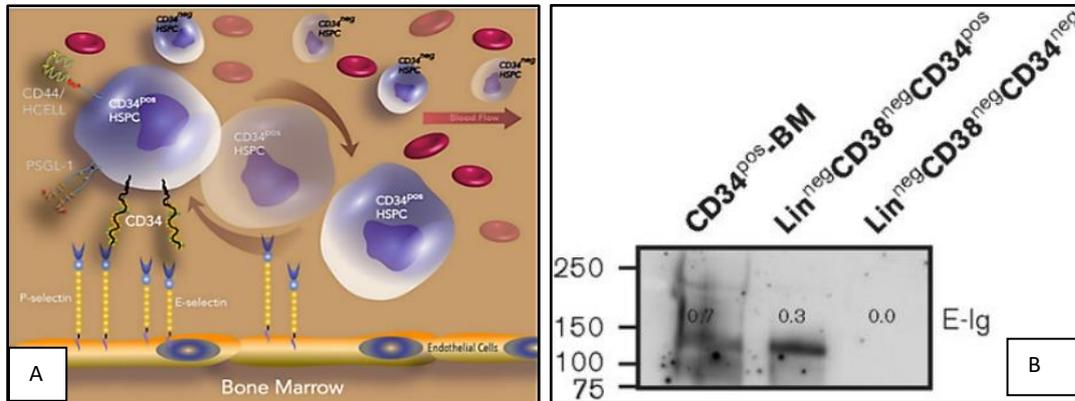
**Figure 6 : Capacité de repopulation des CSH CD34+ et CD34- (Sumide et al., Nat. Comm., 2018)**

Dans le modèle de souris xenotransplantée, les CSH humaines sont identifiées et marquées CD45RA+.

Les CSH CD34<sup>+</sup> et CD34<sup>-</sup> montrent une cinétique de repopulation importante et similaire dans la MO de la souris transplantée.



En 2017, AbuSamra et al. montrent que les CSH exprimant le CD34+ se fixent sur le récepteur E-Sélectine des cellules endothéliales, tandis que les CSH CD34- ne le fixent pas. Cela indique son rôle dans la migration vers la niche vasculaire de la moelle osseuse (32).



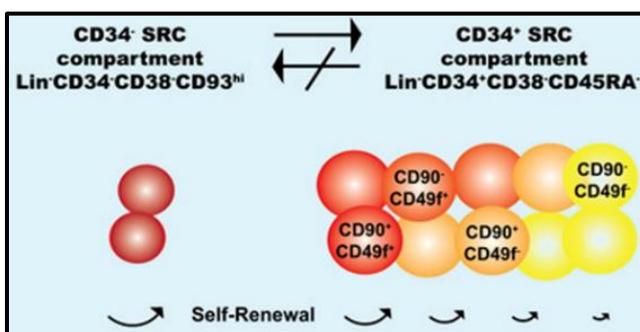
**Figure 7 : Les CSH CD34+ se fixent sur les sélectines de l'endothélium (AbuSamra et al., Blood Adv, 2017)**

A : La fixation des cellules souches hématopoïétiques (CSH) CD34+ sur les sélectines présentes sur l'endothélium permet leur migration vers la niche vasculaire de la moelle osseuse (MO).

B : En utilisant la technique d'immunoblot, il a été observé que les CSH CD34+ se fixent spécifiquement à l'E-sélectine, tandis qu'aucune fixation n'est détectée pour les CSH CD34-.

Les deux marqueurs CD90 (protéine à ancrage GPI, Thy1) et CD49f (intégrine  $\alpha6$ ) ont été testés dans différentes études successives (Notta et al., 2011 et 2016 ; Belluschi et al., 2018 ; Loeffler et al., 2022 ; Anjos-Afonso et al., 2022) comme des marqueurs performants permettant de séparer de manière précise les CSH CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup>CD45RA<sup>-</sup>CD90<sup>+</sup>CD49f<sup>+</sup> des CPH les plus immatures CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup>CD45RA<sup>-</sup>CD90<sup>-</sup>CD49f<sup>-</sup> (27,28,33–35).

Parmi les CSH, l'expression des marqueurs CD93, CD201 (EPCR) (Afonso et al., 2013 et 2022), GPI-80 (Keisuke et al., 2018), CD370 (CLEC9A) (Belluschi et al., 2018) est très hétérogène. Les CSH Lin<sup>-</sup>CD34<sup>-</sup>CD38<sup>-</sup> exprimant ces marqueurs sont très rares au sein du pool des CSH. Elles ont une meilleure capacité de renouvellement et peuvent donner naissance à toutes les CSH (26) (29) (34) (35) (36).

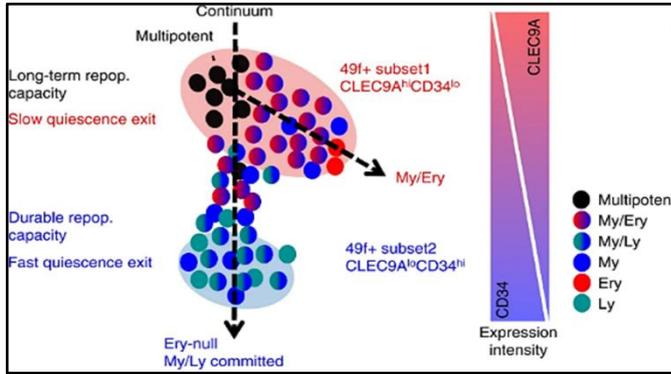


**Figure 8 : Capacité de renouvellement in vivo des CSH de sang de cordon (Afonso et al., Nature, 2013)**

Les CSH humain (CD34<sup>-</sup>CD38<sup>-</sup>CD93<sup>+</sup>) ont une meilleure capacité de renouvellement que les CSH CD34<sup>+</sup> dans le modèle de souris xenotransplanté.

La capacité de renouvellement des CSH CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup> varie de manière similaire à la diminution de l'expression des marqueurs CD90 et CD49f (CD90<sup>+</sup>CD49f<sup>+</sup> > CD90<sup>-</sup>CD49f<sup>+</sup> > CD90<sup>+</sup>CD49f<sup>-</sup> > CD90<sup>-</sup>CD49f<sup>-</sup>).

Belluschi et al. (2018) trouvent que la perte progressive du potentiel des CSH varie dans le même sens que l'expression continue de CD34 et dans le sens inverse de celle de CLEC9A. Les CSH CD49f<sup>+</sup>CD34<sup>l<sup>ef</sup></sup> CLEC9A<sup>+</sup> ont une plus grande capacité d'auto-renouvellement à long terme et un plus fort potentiel myélo-érythroïde, tandis que les CSH CLEC9A<sup>-</sup>CD34<sup>+</sup> sont plus actives, avec un potentiel restreint aux lignées myélo-lymphocytaires (34).

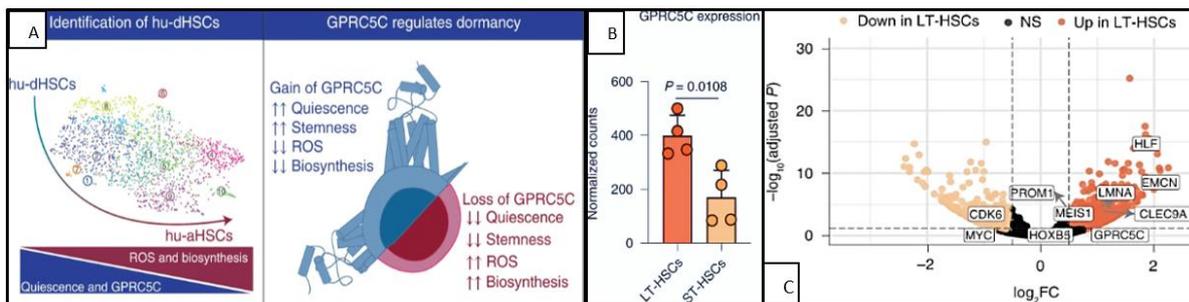


**Figure 9 : Continuum de l'expression de CD34<sup>+</sup>, de CLEC9A et du potentiel des CSH (Belluschi et al., Nature, 2018)**

L'analyse *single-cell* de Belluschi et al. indique qu'au cours du lignage des CSH, l'expression de CD34<sup>+</sup> et de CLEC9A varie dans le sens inverse. Les CSH CD34<sup>-</sup>CLEC9A<sup>+</sup> ont un fort potentiel myélo-érythroïde, tandis que les CSH CD34<sup>+</sup>CLEC9A<sup>-</sup> présentent plutôt un potentiel myélo-lymphoïde.

L'expression de GPRC5C (récepteur couplé à la protéine G de classe C, groupe 5) dans les CSH CD34<sup>+</sup> a été démontrée par l'analyse en *single-cell* de Zhang et al., comme un mécanisme régulateur de l'état de quiescence cellulaire. Les CSH exprimant GPRC5C se divisent moins et se trouvent plus souvent en phase G<sub>0</sub>, avec une activité métabolique réduite.

D'ailleurs, comparées aux CSH-CT, les CSH-LT expriment davantage de GPRC5C. Leur profil transcriptionnel est positivement associé à la quiescence (HLF, CLEC9A) et négativement au cycle cellulaire (CDK6, MYC) (37).



**Figure 10 : L'expression de GPRC5C et la quiescence des CSH (Zhang et al., Nature, 2022)**

**A :** L'étude des CSH CD34<sup>+</sup> issues du sang de cordon et de la moelle osseuse montre le rôle de GPRC5C dans la régulation de la quiescence. Le gain de fonction de GPRC5C entraîne une diminution des ROS et du métabolisme cellulaire, favorisant ainsi l'état quiescent des CSH.

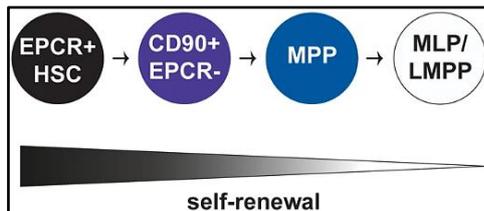
**B :** Les CSH-LT expriment davantage GPRC5C par rapport aux CSH-CT.

**C :** Le profil transcriptionnel des CSH-LT est positivement associé à la quiescence (LMNA, EMCN, HLF, CLEC9A) et négativement au cycle cellulaire (CDK6, MYC).

En 2017, Fares et al. montrent la performance de CD201 (EPCR) pour le tri des CSH-LT par CMF, parmi les marqueurs cytométriques utilisés en recherche et en thérapie (38).

Selon Anjos-Afonso et al. (2022) le pool des CSH exprimant CD201 est une population cellulaire homogène avec un profil génétique dormant et peu actif (35). Un gradient de l'expression de CD201 est corrélé ainsi à la capacité d'auto-renouvellement des CSPH.

**Figure 11 : L'auto-renouvellement des CSPH selon l'expression de CD201/CD90 (Anjos-Afonso et al., Nat. Comm., 2022)**



Au sein du compartiment CSPH, la capacité de renouvellement des CSH et des progéniteurs varie en fonction de leur degré d'expression de CD201 (EPCR<sup>+</sup>). Le pool de CSH exprimant CD201 constitue une population très homogène de CSH, située au sommet de la hiérarchie, avec la meilleure capacité de renouvellement.

### III.3 Des différents modèles de l'hématopoïèse

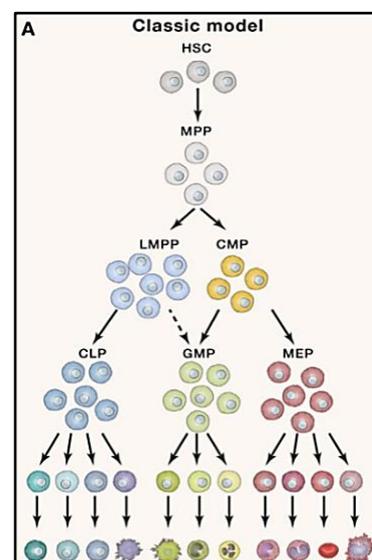
#### III.3.1 Le modèle séquentiel classique

Le modèle classique de l'hématopoïèse est apparu aux alentours des années 2000 (39) (40). Selon ce modèle, l'hématopoïèse se déroule de façon séquentielle et dichotomique entre transition et choix de maturation cellulaire :

- Les CSH, au sommet de la hiérarchie, donnent naissance à un progéniteur pluripotent (MPP).
- Ces progéniteurs immatures (MPP) se différencient en s'orientant vers la lignée lymphoïde (LMPP) ou la lignée myéloïde (CMP).
- Les LMPP et les CMP se différencient et donnent à leur tour naissance à des progéniteurs plus engagés (CLP, GMP, MEP), qui génèrent ensuite des précurseurs et des cellules matures (18,39,40).

**Figure 12 : Modèle classique d'hématopoïèse humaine (Liggett et al., Cell, 2020)**

- Les CSH s'engagent dans la cascade de l'hématopoïèse via les progéniteurs multipotents (MPP).
- Les MPP sont capables de donner soit les progéniteurs myéloïdes communs (CMP), soit les progéniteurs lymphoïdes multipotents (LMPP). Ces deux derniers produisent différents progéniteurs plus orientés : les progéniteurs érythro-mégacaryocytaires (MEP), les progéniteurs granulo-monocytaires (GMP) et les progéniteurs lymphoïdes communs (CLP).
- Enfin, les trois progéniteurs (MEP, GMP, CLP) génèrent à leur tour l'ensemble des cellules sanguines matures.



### III.3.2. Des modèles alternatifs de l'hématopoïèse classique

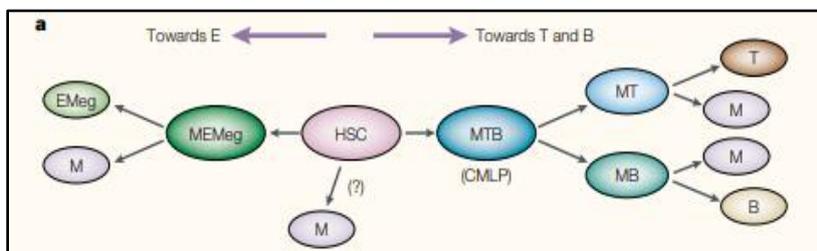
Depuis 20 ans, les approches utilisant diverses techniques *single-cell*, dont la CMF, ont permis d'apporter des modifications au modèle classique (41,42). Ces approches ont remis en question le caractère hiérarchique et symétrique du modèle classique.

Les nouveaux modèles de l'hématopoïèse diffèrent notamment dans la manière de représenter les relations entre les lignées myéloïdes et lymphoïdes, ainsi que dans la flexibilité des connexions entre les différents stades (43) (44) (45) (46).

#### III.3.2.1 L'hématopoïèse selon Katsura (2002)

Dans ce modèle, les CSH peuvent s'engager précocement soit vers la voie myéloïde et érythro-mégacaryocytaire, soit vers la voie myélo-lymphocytaire. Les progéniteurs communs lymphoïdes et myéloïdes (CMLP) peuvent se différencier soit en lignées myéloïdes et lymphocytaires (M+B et M+T), suggérant une relation et des caractères proches entre eux. Des progéniteurs mixtes M+B et M+T sont ainsi produits depuis les CMLP.

Cette idée évoque donc une relation proche entre les lignées lymphoïdes T et B et les cellules myéloïdes, ainsi qu'une voie érythro-mégacaryocytaire divergeant plus tôt dans l'architecture hématopoïétique (43) (47) (48).

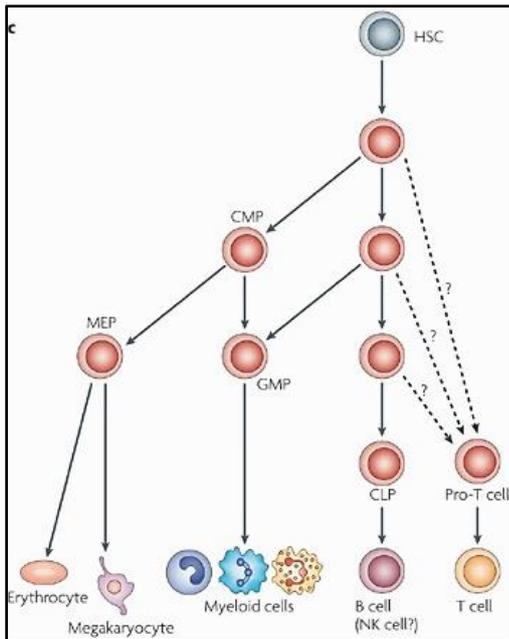


**Figure 13 : Modèle d'hématopoïèse avec des progéniteurs mixtes (Katsura et al., Nat Rev Immunol, 2002)**

Les CSH peuvent s'engager précocement soit vers la voie myéloïde et érythro-mégacaryocytaire, soit vers la voie myélo-lymphocytaire, en donnant naissance aux progéniteurs communs lymphoïdes et myéloïdes (CMLP).

#### III.3.2.2 Modèle de Lai et Kondo (2006)

Lai, Kondo et al. ont introduit les preuves immunophénotypiques d'un engagement asymétrique des lignées myéloïde ou lymphoïde. Précocement dans la différenciation, le potentiel érythro-mégacaryocytaire est perdu au profit des potentiels granulocytaire et monocyttaire. Les auteurs indiquent aussi que l'inhibition de l'expression (*silencing*) des gènes associées aux potentiels myéloïdes est un prérequis pour l'engagement dans la voie lymphocytaire (43) (49).



**Figure 14 : Modèle d'hématopoïèse de Lai et Kondo** (Ceredig et al., *Nat. Rev. Immunol.*, 2009)

L'étude en *single-cell* de Lai et Kondo en 2006 indique différentes voies d'engagement possibles vers les lymphocytes T, ainsi qu'une relation incertaine avec les lymphocytes B.

Dans ce modèle, le *silencing* des gènes associés aux cellules myéloïdes est une condition préalable à l'engagement dans la lymphopoïèse. Il est ainsi suggéré que le potentiel mégacaryocytaire-érythroïde est perdu tôt au cours de la différenciation des CSPH, suivi d'une perte du potentiel granulo-monocytaire.

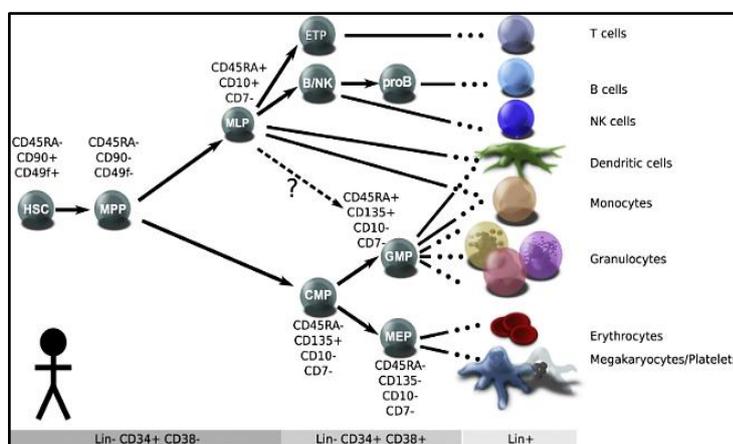
Ce modèle illustre principalement l'absence de consensus sur le schéma d'engagement des lignées et la ramification de l'arbre de l'hématopoïèse.

### III.3.2.3 Modèle de Doulatov (2010)

L'étude de Doulatov et al., analyse les progéniteurs hématopoïétiques par CMF à partir de sang de cordon ombilical et de prélèvements médullaires adultes (38) (42).

Ils montrent que les monocytes et les cellules dendritiques sont générés à la fois par des progéniteurs aux potentiels lymphoïdes et myéloïdes. Ainsi, les progéniteurs multilymphoïdes (MLP) peuvent donner naissance aux cellules lymphoïdes, aux monocytes-macrophages et aux cellules dendritiques.

Les résultats d'immunophénotypage et de culture de colonies valident les origines mixtes des progéniteurs hématopoïétiques et, par conséquent, une certaine flexibilité des voies de différenciation cellulaire de l'hématopoïèse (46) (50).



**Figure 15 : Modèle d'hématopoïèse selon Doulatov** (Doulatov et al., *Cell Stem Cell*, 2012)

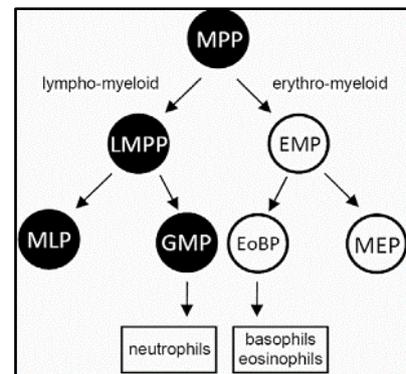
L'étude *single-cell* de Doulatov, associant analyse clonogénique et cytométrique, met en évidence une origine mixte des monocytes et des cellules dendritiques. Ces cellules proviennent à la fois des progéniteurs granulo-monocytaires (GMP) et des progéniteurs multilymphoïdes (MLP).

### III.3.2.4 Modèle d'hématopoïèse de Görgens (2013)

Görgens et al., en 2013, montrent qu'en utilisant le CD133, il est possible de distinguer les LMPP et les EMP parmi les CSPH CD34+. Les progéniteurs CD34+ CD133- sont des progéniteurs érythro-myéloïdes (EMP) capables de produire les lignées érythrocytaire et mégacaryocytaire, ainsi que les lignées éosinophile et basophile. Les MPP CD34+ CD133+ peuvent se subdiviser en LMPP, puis en MLP et GMP, selon l'expression de CD45RA, CD38 et CD10, comme suit :

**Tableau 1 : Immunphénotype des progéniteurs CD34+ selon Göttgens et al.**

Progéniteur CD34+ CD133+	CD45RA	CD38	CD10
Progéniteurs multipotents (MPP)	-	-	-
Progéniteurs multipotents lymphoïde (LMPP)	-	+	-
Progéniteurs multilymphoïdes (MLP)	-	+	+
Progéniteurs granulocytes-macrophages (GMP)	+	+	-



**Figure 16 : Hématopoïèse humaine (Göttgens et al., Cell Rep, 2013)**

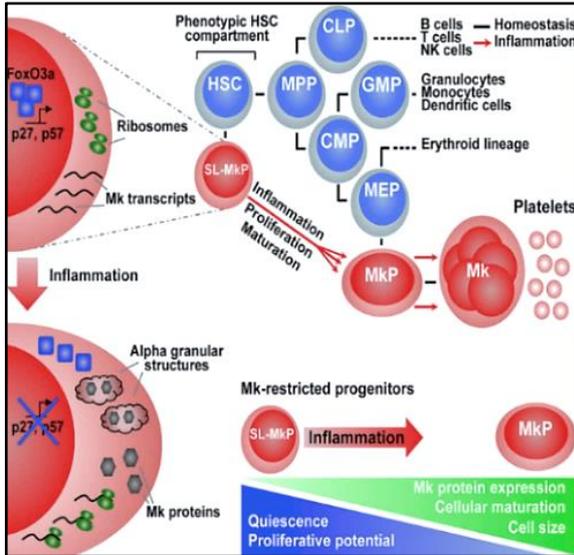
Görgens et al. suggère que les GMP dérivent de la même branche que les lymphocytes et sont capables de créer des neutrophiles mais pas des éosinophiles et des basophiles (51) (52).

### III.3.2.5 Modèle d'hématopoïèse avec by-pass érythro-mégacaryocytaire

(Gekas et al., (2013), Haas et al., (2015), Woolthuis et al (2016), Sumide et al., (2018), Psaila B et al. (2019))

L'idée principale de ces modèles est l'existence d'un engagement direct des CSH dans une voie précoce et indépendante du schéma classique de la différenciation mégacaryocytaire, prouvé chez l'être humain (29) (30) (45) (53) et chez la souris (54) (55) (56) (57).

Cette idée est développée dans plusieurs groupes dont Gekas et al. (2013), Yamamoto et al. (2013), Hass et al. (2015), Woolthuis et al. (2016) et Rodriguez-Fraticelli et al. (2018) (54) (55) (56) (57) (58). Si Hass et al. montrent que, chez les souris, un by-pass mégacaryocytaire est favorisé dans les conditions inflammatoire, Gekas et al., ont observé que l'expression de celui-ci augmente avec le vieillissement murin.



**Figure 17 : Hématopoïèse murine et le *bypass* mégacaryocytaire (Haas et al., *Cell Stem Cell*, 2015)**

Les progéniteurs unipotents du lignage mégacaryocytaire (SL-MkP) résident au sein du compartiment des CSPH. Dans des conditions physiologiques, ces CSPH sont maintenus dans un état de quiescence, alors qu’elles sont fortement sollicitées en situation de stress et en conditions inflammatoires.

Haas et al., démontrent que, sous l’influence du stress aigu et de l’inflammation, l’hématopoïèse d’urgence sollicite le *bypass* mégacaryocytaire pour accélérer la mégacaryopoïèse via une désinhibition de l’effet régulateur de la quiescence du facteur de transcription Foxo3a.

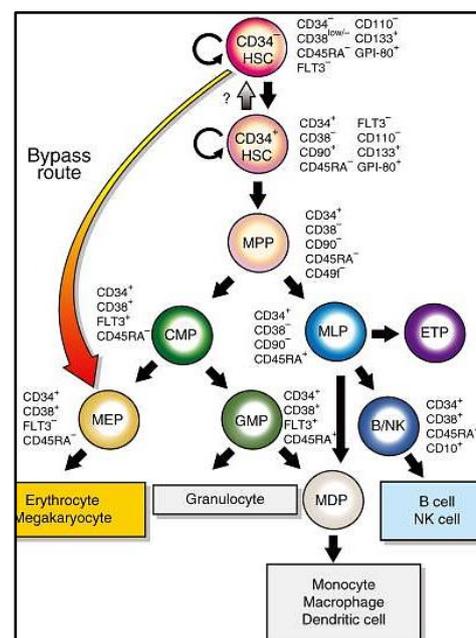
Sumide et al. (2018), apportent la preuve fonctionnelle du *by-pass* érythro-mégacaryocytaire dans l’hématopoïèse humaine, depuis les CSH CD34<sup>-</sup> vers les progéniteurs érythro-mégacaryocytaires (MEP).

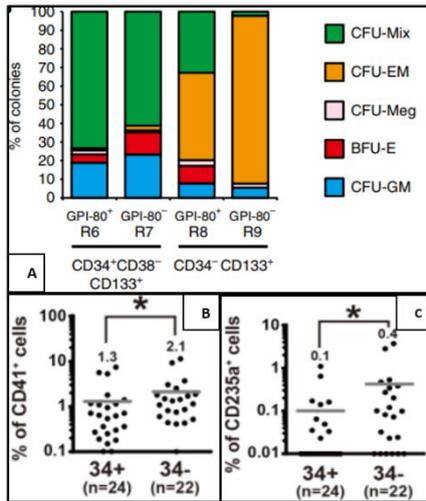
Les analyses en *single-cell* ont montré les signatures génétiques et phénotypiques mégacaryocytaire (CD41<sup>+</sup>) et érythrocytaire (CD235a<sup>+</sup>) des CSH CD34<sup>-</sup> résidant au sommet de la hiérarchie hématopoïétique. Les deux marqueurs CD235a et CD41 sont également plus exprimés par les CSH CD34<sup>-</sup> que par les CSH CD34<sup>+</sup> (29). Comme Boyer et al., (25) qui ont montré le fort potentiel de différenciation érythro-mégacaryocytaire des CSH CD34<sup>+</sup>, Sumide et al., (29) indiquent que ce potentiel est encore plus marqué chez les CSH CD34<sup>-</sup>.

**Figure 18 : Hématopoïèse humaine avec *bypass* mégacaryocytaire (Sumide et al., *Nat. Comm.*, 2018)**

La culture clonogénique, associée aux analyses *single-cell* (phénotypiques et transcriptionnelles) de Sumide et al., montre que les CSH CD34<sup>-</sup> issues du sang de cordon se situent au sommet de la hiérarchie hématopoïétique.

Les CD34<sup>-</sup> peuvent donner naissance aux CSH CD34<sup>+</sup> et suivre les voies classiques de l’hématopoïèse ou s’engager directement dans la mégacaryopoïèse et l’érythropoïèse, sans passer par les autres étapes de transition.





**Figure 19 : Potentiel et signature phénotypique méga-érythrocytaire des CSH CD34<sup>-</sup> versus CD34<sup>+</sup> (Sumide et al., Nat. Comm., 2018)**

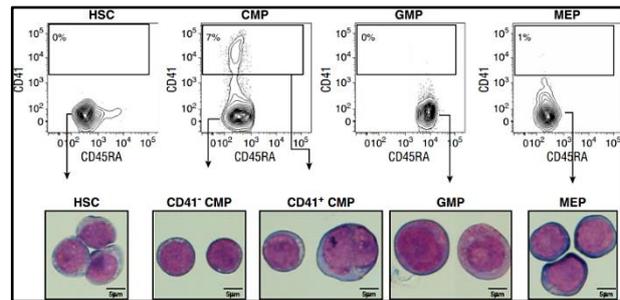
A : En culture clonogénique, les CSH CD34<sup>-</sup> (Lin<sup>-</sup>CD34<sup>-</sup>CD38<sup>-</sup>CD133<sup>+</sup>GPI-80<sup>-</sup>) présentent un meilleur potentiel mégacaryo-érythrocytaire, donnant environ 90 % de colonies CFU-EM, tandis que les colonies formées par les CSH CD34<sup>+</sup> (Lin<sup>-</sup>CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup>CD133<sup>+</sup>) sont composées de plus de 60 % de CFU-mix.

B, C : En analyse *single-cell* par cytométrie en flux, les CSH CD34<sup>-</sup> expriment significativement plus de CD41 (intégrine alpha 2B, marqueur de la lignée mégacaryocytaire) et CD235a (glycophorine A, marqueur de la lignée érythrocytaire) que les CSH CD34<sup>+</sup>.

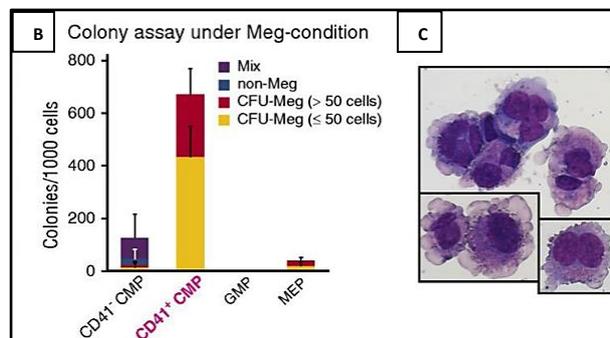
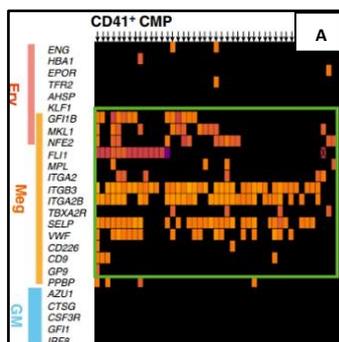
Le groupe de Miyawaki et al. (2017) montre que l'expression de CD41 signant le potentiel mégacaryocytaire parmi les progéniteurs myéloïdes communs précoces (les CMP CD34<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>CD123 faible CD45RA<sup>-</sup>) (53).

**Figure 20 : Expression phénotypique mégacaryocytaire (CD41+) du pool CSPH (Miyawaki et al., Blood, 2017)**

Par analyse *single-cell*, Miyawaki et al. montrent qu'environ 8 % (7,9 % ± 3,2 %) des CMP expriment CD41+, tandis que son expression est quasi absente chez les GMP et les MEP.



Le potentiel mégacaryocytaire est ensuite confirmé à la fois par l'analyse *single-cell* transcriptionnel et par les tests de culture fonctionnel. Des CMP CD41+ donnent comme attendu par les auteurs, majoritairement les CFU-Meg (Colony-Forming Unit Megakaryocyte).



**Figure 21 : Les CMP avec expression transcriptionnelle mégacaryocytaire (Miyawaki et al., Blood, 2017)**

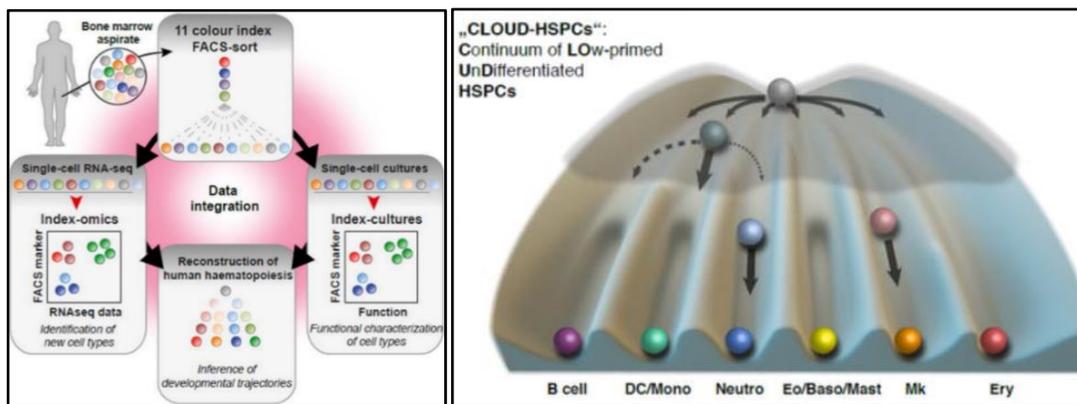
A : Chez les CMP CD41+, les gènes associés au potentiel mégacaryocytaire sont majoritairement exprimés, alors que ceux associés au potentiel érythrocytaire et au potentiel granulo-monocytaire sont quasiment absents.

B, C : Cultures clonogéniques des progéniteurs. La culture clonogénique montre une prédominance du potentiel mégacaryocytaire chez les CMP CD41+.

### III.3.2.6 Modèle « continuum » de l'hématopoïèse de Velten

Les travaux de l'équipe de Velten publié en 2017 (45) a permis d'avancer dans les connaissances de l'hématopoïèse en combinant l'identification phénotypique, transcriptomique et fonctionnelle (culture clonogénique) des CSPH de la MO humaine.

L'ensemble des trajectoires de l'hématopoïèse est ensuite reconstitué pour construire l'architecture hématopoïétique. C'est l'étude pionnière qui décrit l'hématopoïèse comme un processus continu avec une flexibilité.

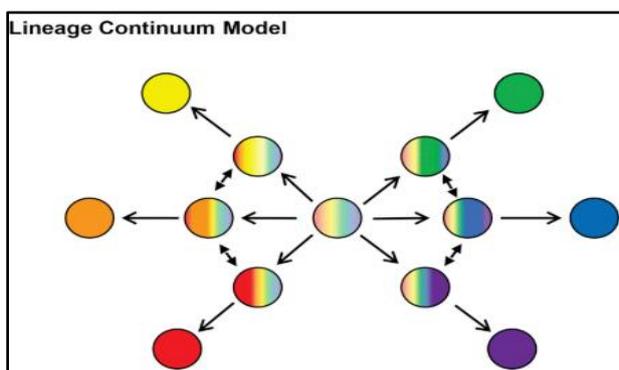


**Figure 22 : Reconstruction de l'hématopoïèse par l'étude *single-cell* (Velten et al., *Nat. Cell Biol.*, 2017)**

L'étude de Velten, combinant les techniques de *single-cell* (transcriptomique, cytométrique et fonctionnelle), permet l'identification des CLOUD-HSPC et la redéfinition de l'hématopoïèse humaine comme un modèle « continuum ».

Les CLOUD-HSPC (*Continuum of Low-primed Undifferentiated Hematopoietic Stem and Progenitor Cells*), correspondant au pool des CSH multipotentes précoces et indifférenciées, sont identifiables par les marqueurs  $Lin^-CD34^+CD38^-$  (45).

Elles se situent au sommet de l'hématopoïèse, avec de multiples possibilités d'engagement dans des voies interconnectées. Différents types de lignées peuvent émerger directement en aval des CLOUD-HSPC, sans nécessairement passer par des étapes cellulaires intermédiaires communes (59).



**Figure 23 : Chaque CSPH est un arc-en-ciel**

(Karen et al., *Cell*, 2017)

Dans le modèle continuum, les CLOUD-HSPC présentent un profil moléculaire variablement amorcé et peuvent s'engager directement vers différentes lignées hématopoïétiques.

Les voies d'engagement hématopoïétique sont interconnectées et dynamiques. Les CSPH possèdent de multiples possibilités d'engagement, à l'image d'un arc-en-ciel.

### III.3.2.7. Le modèle “continuum ponctué”

Il est proposé et soutenu par plusieurs études et revues récentes (29) (30,44) (52). Ils associent les idées du modèle classique et du modèle continue et se développe grâce aux approches d'analyse *single-cell* comme la CMF.

Globalement, l'hématopoïèse se déroule comme un processus continue mais il passe aussi par certains états cellulaires de transition et/ou branche de division intermédiaire sur les différentes voies de différenciation. Ces stades cellulaires peuvent être reconnus ou classés phénotypiquement ou génétiquement mais ils ne peuvent pas être considérés comme des types de cellules distincts (44,60).

La composition des progéniteurs et les étapes de transition intermédiaires des différentes voies de différenciation sont constituées de pools de cellules très hétérogènes, tant sur le plan phénotypique que génétique, tout en conservant la même flexibilité fonctionnelle. Les voies sont interconnectées, et les cellules sont variablement amorcées dès le stade CSH pour donner naissance aux différentes lignées en aval.

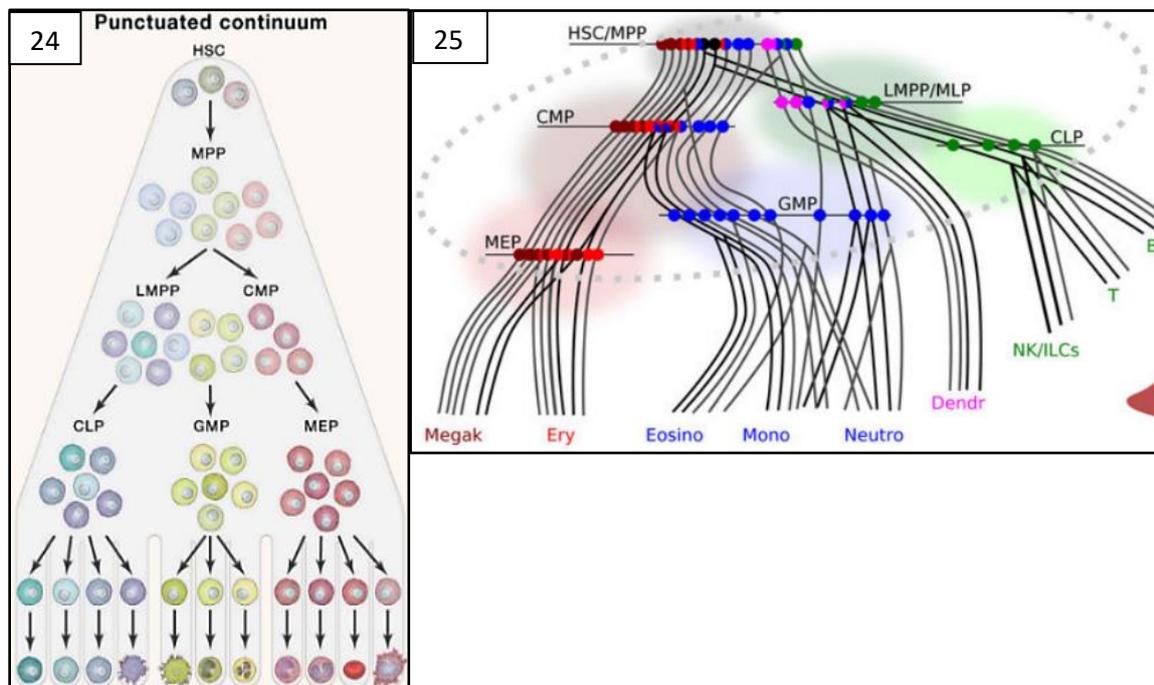


Figure 24 : Modèle du « continuum ponctué » (Liggett et al., *Cell*, 2020)

Le modèle mixte combine clees deux approches, continu de Velten et classique. Il indique que la différenciation des CSPH peut suivre un processus à la fois continu et séquentiel.

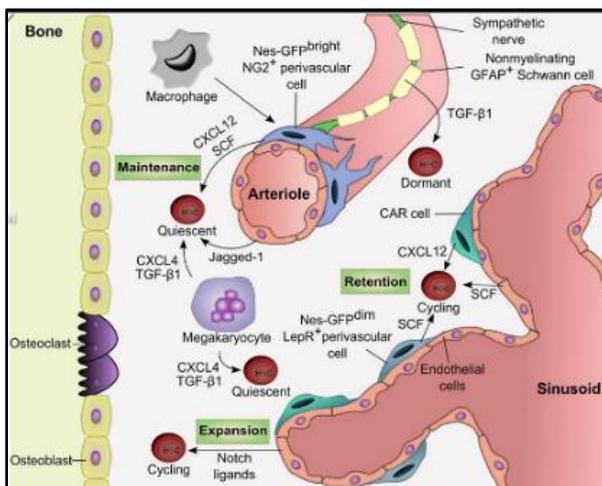
Figure 25 : Hématopoïèse en continuum, avec les états de transition et les voies interconnectées (Laurenti et al., *Nat. Immunol.*, 2018)

### III.4 Origine de l'hétérogénéité des CSPH et de l'hématopoïèse

Le pool de CSH est estimé entre 3 000 et 10 000 cellules chez l'être humain. Chaque CSH ne se divise qu'environ toutes les 40 semaines (entre 25 et 50 semaines) (60) (61). Les CSPH ne représentent qu'une fraction minime (environ 1 %) des cellules de la moelle osseuse, mais sont très hétérogènes sur les plans phénotypique, génétique et fonctionnel (29) (32) (34) (36,62) (63) (64) (65). Cette hétérogénéité est d'ailleurs déjà décrite au stade de l'hématopoïèse embryonnaire (15) (16).

**Les facteurs déterminants de l'hétérogénéité du pool de CSH sont :**

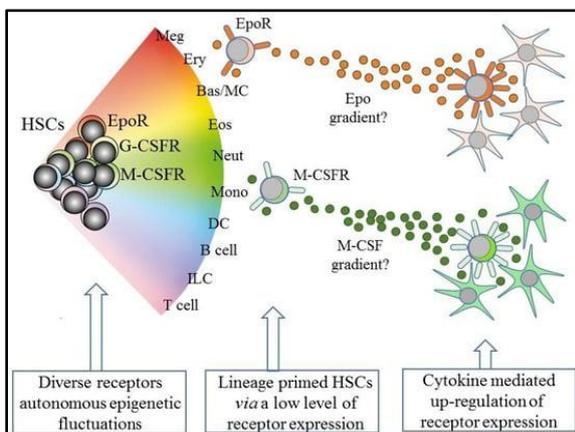
#### III.4.1 Le microenvironnement médullaire



**Figure 26 : Microenvironnement médullaire et les CSH (Bou-lais et al., *Blood*, 2015)**

Dans la MO, la niche des CSH est composée de cellules hématopoïétiques et mésenchymateuses qui régulent la quiescence, la différenciation, la prolifération, la migration et la mobilisation des CSH. Le système vasculaire est une structure clé pour maintenir les CSH dans la moelle osseuse. Les CSH dormantes se trouvent proches des artérioles, où des facteurs tels que CXCL12 et SCF (*stem cell factor*), sécrétés par les cellules neuronales et endothéliales, favorisent leur maintien, tandis que les CSH peu dormantes sont situées près des sinusoides, influençant leur prolifération et leur différenciation (66).

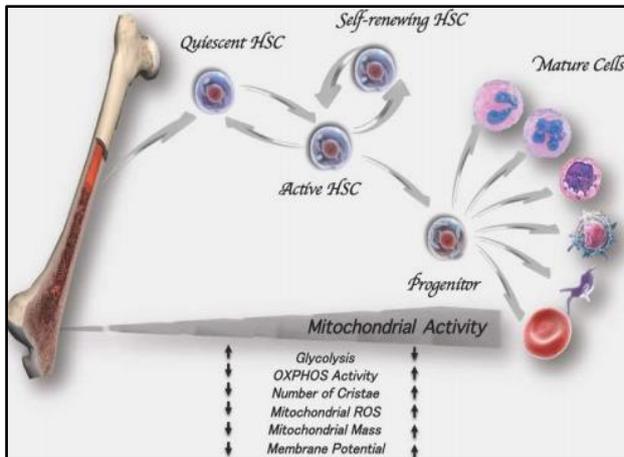
Le microenvironnement médullaire est hétérogène dans sa composition cellulaire et ses caractéristiques biochimiques, physiques ou métaboliques. L'ensemble des cellules de la niche vasculaire interagit avec les CSH via des facteurs de croissance et des cytokines qui ont des rôles directifs et régulateurs, importants pour maintenir l'équilibre du pool de CSH (prolifération, maturation, quiescence) et l'homéostasie de l'hématopoïèse (67) (68) (66) (69,70).



**Figure 27 : Les CSH et le rôle instructif des cytokines (Geoffrey Brown et al., *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2021)**

Dans un modèle de type continu, les CSPH s'orientent vers une lignée en exprimant, à des niveaux très variables, des récepteurs spécifiques de facteurs de croissance (EPOR, M-CSFR ou G-CSFR). Par conséquent, un gradient chimiotactique de diverses cytokines et de facteurs de croissance peut les attirer et guider leur engagement dans une voie de différenciation, au sein d'un environnement médullaire adapté (69).

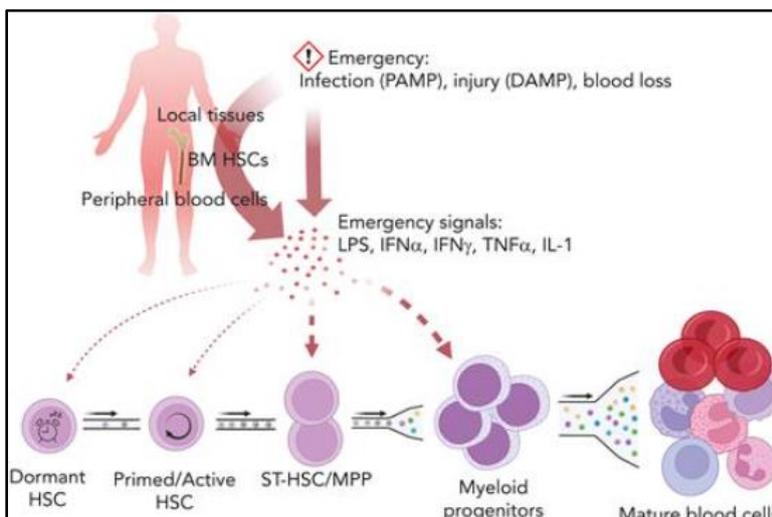
Au cours de la différenciation des CSPH, l'activité transcriptionnelle et la prolifération/maturation cellulaire sont corrélées au niveau d'élévation de la masse et de l'activité mitochondriales, de l'activité OXPHOS (phosphorylation oxydative) et de la génération des espèces réactives de l'oxygène (71) (72).



**Figure 28 : Métabolisme des CSH**  
(Papa et al., *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 2020)

Une faible activité mitochondriale, un faible niveau d'OXPHOS et un métabolisme glycolytique élevé permettent de maintenir les CSH en quiescence, contribuant ainsi à la préservation du pool de CSH.

Lors d'une situation d'urgence, un élément déclencheur comme les PAMP, les DAMP ou une perte sanguine aiguë entraîne la libération de cytokines (LPS, IFN, TNF, IL-1), activant l'hématopoïèse de manière proportionnelle à l'intensité du signal. Ces cytokines induisent la prolifération et la différenciation des CSH-CT et des CPH orientées, mais pas des CSH quiescentes/dormantes, qui restent protégées et écartées de ces messages cytokiniques (73) (74).

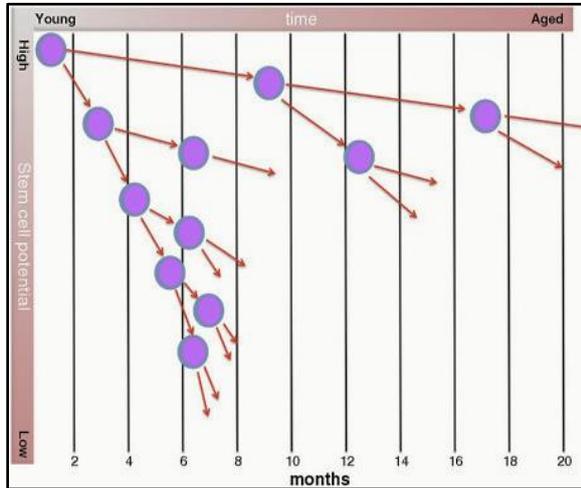


**Figure 29 : Hématopoïèse d'urgence** (Zhao et al., *Blood*, 2023)

Lors d'une situation de « stress aigu », des cytokines (IFN, IL-1, TNF) libérées par l'ensemble des cellules hématopoïétiques et non-hématopoïétiques vont solliciter les CSPH actives et/ou primées pour démarrer l'hématopoïèse en urgence.

### III.4.2 Le vieillissement des CSPH participe à leur hétérogénéité fonctionnelle

Selon Haan et al. (2018) et Dykstrad et al. (2011), au fil des divisions cellulaires et du vieillissement, les CSH murines perdent leur potentiel à long terme (75,76) (77).



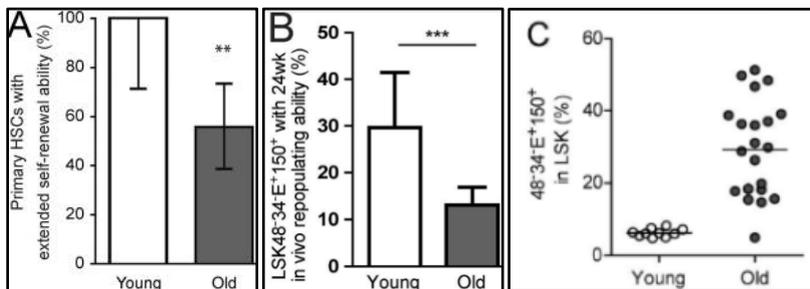
**Figure 30 : Potentiel souche et pool de CSH murines selon l'âge**

(Haan et al., *Blood*, 2018)

Chez les jeunes souris, le pool de CSH est quantitativement plus restreint, mais leur potentiel souche est plus élevé.

À l'inverse, chez les souris âgées, le pool de CSH s'élargit, mais leur potentiel souche devient plus limité.

Dans la MO des souris, le taux de CSH est trouvé significativement plus important chez les souris âgées. En culture clonogénique et *in vivo* dans les modèles souris transplantées de CSH, Dykstraad et al montrent que la capacité d'auto-renouvellement est réduite avec le vieillissement (75).



**Figure 31 : Caractéristiques des CSH murines selon l'âge (Dykstra et Haan, *J. Exp. Med.*, 2011)**

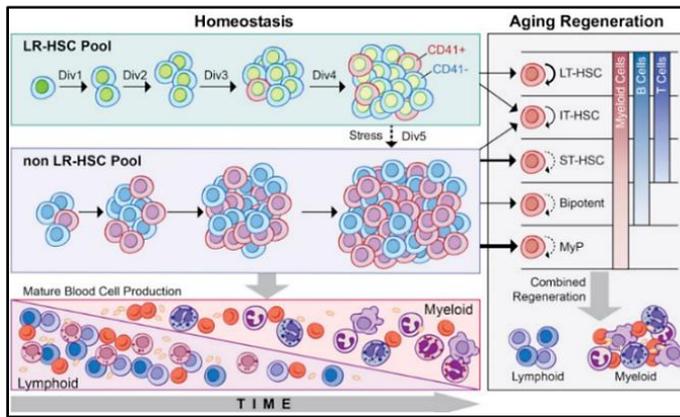
A : La capacité d'auto-renouvellement à long terme est significativement réduite chez les souris âgées.

B : La capacité de repopulation *in vivo* est significativement plus faible chez les souris âgées.

C : Le taux de CSH LSK CD48- CD34- CD150+ est plus élevé chez les souris âgées.

De nombreuses expériences murines dont Yamamoto et al. (2013), Young et al.(2021), Konturek et al. (2023), Su et al. (2024), retrouvent les mêmes conclusions que Dykstraad et al. (2011) et Bernitz et al. (2016).

Globalement, avec le vieillissement, l'hématopoïèse et le profil des CSH murines sont biaisées vers la myélopoïèse au détriment de la lymphopoïèse (56) (75) (77) (78) (79) (80).

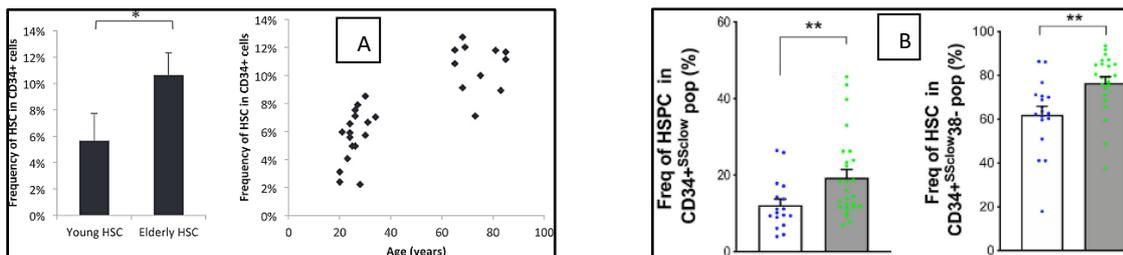


**Figure 32 : CSH murines et vieillissement**

(Bernitz et al., Cell, 2016)

Avec le vieillissement, le potentiel lymphoïde des CSH diminue au profit de la myélopoïèse (77).

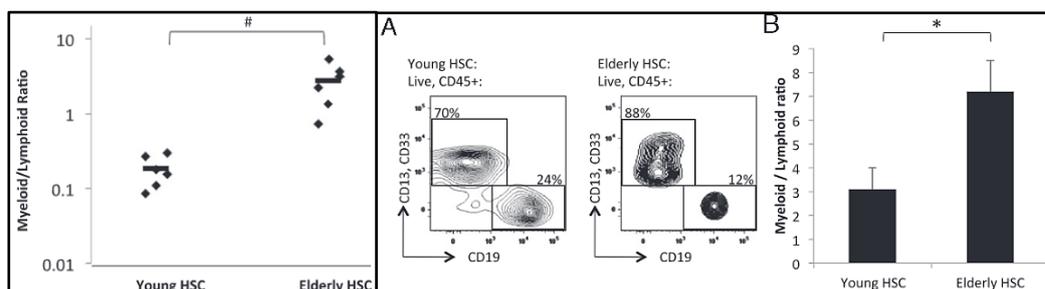
Deux études de 2011, celles de Pang et al. (81) et de Kuranda et al. (82) ainsi que l'étude d'Amoah et al. en 2022 (83) mettent en évidence des caractéristiques similaires chez les CSH humaines. Elles montrent une augmentation significative du taux de CSPH  $Lin^- CD34^+$  (81) (82,83) chez les patients âgés par rapport aux patients jeunes. La culture cellulaire et l'étude fonctionnelle révèlent une diminution des capacités de différenciation lymphoïde et une augmentation du potentiel myéloïde des CSH chez les patients âgés.



**Figure 33 : CSPH et vieillissement A (Pang et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 2011) et B (Amoah et al., Haematologica, 2022)**

A : Pang et al. montrent que le taux de CSH dans la moelle osseuse est significativement plus élevé chez les personnes âgées.

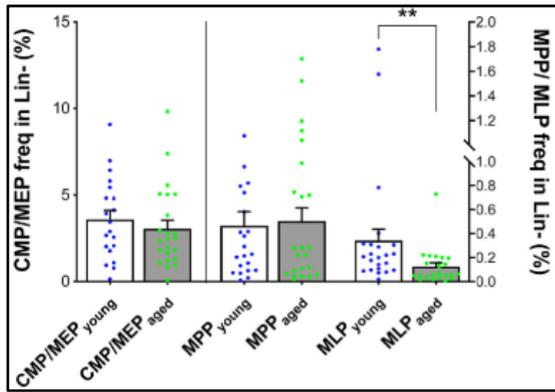
B : Selon Amoah et al., le taux de CSH et de CSPH  $CD34^+SScD38^-$  est également significativement plus élevé chez les personnes âgées.



**Figure 34 : Étude fonctionnelle et potentiel myéloïde/lymphoïde selon l'âge (Pang et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 2011)**

Avec l'âge, les taux de CSH  $CD34^+$  à potentiel myéloïde ( $CD13^+, CD33^+$ ) augmentent, tandis que le taux des CSH à potentiel lymphoïde ( $CD19^+$ ) diminue. Ainsi, le ratio des CSH à potentiel myéloïde sur celles à potentiel lymphoïde augmente avec l'âge.

Comme Kuranda et al. et Pang et al., les travaux d'Amoah, avec plus de patients et davantage de marqueurs cytométriques, montrent qu'il n'y a pas de différence significative dans la proportion des progéniteurs  $CD34^+CD38^+$  entre les patients jeunes et âgés (83).



**Figure 35 : Comparaison des progéniteurs chez les patients jeunes et âgés (Amoah et al., *Haematologica*, 2022)**

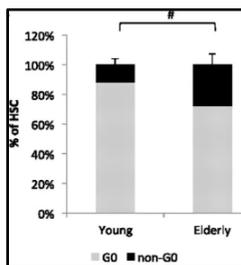
-Absence de différence statistiquement significative dans la proportion des progéniteurs CD34<sup>+</sup> CD38<sup>+</sup> entre les sujets âgés et jeunes.

-Les taux des progéniteurs myéloïdes communs et des progéniteurs mégacaryocyte-érythroïdes (CMP/MEP : Lin<sup>-</sup> CD34<sup>+</sup> SSC faible CD38<sup>+</sup> CD90<sup>-</sup> CD45RA<sup>-</sup>), ainsi que ceux des progéniteurs myéloïdes multipotents (MPP : Lin<sup>-</sup> CD34<sup>+</sup> SSC faible CD38<sup>-</sup> CD90<sup>-</sup> CD45RA<sup>-</sup>), sont comparables dans les deux groupes.

-Les progéniteurs lymphoïdes multipotents (MLP : Lin<sup>-</sup> CD34<sup>+</sup> SSC faible CD38<sup>-</sup> CD90<sup>-</sup>/faible CD45RA<sup>+</sup>) diminuent avec l'âge.

Avec le vieillissement, la lymphopoïèse est démontrée comme étant significativement réduite chez les personnes âgées. Si, en 2011, Pang et al. ont mis en évidence une diminution significative des progéniteurs lymphoïdes communs (CLP : Lin<sup>-</sup> CD34<sup>+</sup> CD127<sup>+</sup>), Kuranda et al. ont, quant à eux, observé une diminution des progéniteurs lymphoïdes B/NK précoces (CD34<sup>+</sup> CD38<sup>+</sup> CD90<sup>-</sup> CD45RA<sup>+</sup> CD10<sup>+</sup>) et engagés (CD34<sup>+</sup> CD19<sup>+</sup>). En 2022, Amoah et al. ont également décrit une diminution des progéniteurs lymphoïdes multipotents (MLP : Lin<sup>-</sup> CD34<sup>+</sup> SSC faible CD38<sup>-</sup> CD90<sup>-</sup>/faible CD45RA<sup>+</sup>) (83).

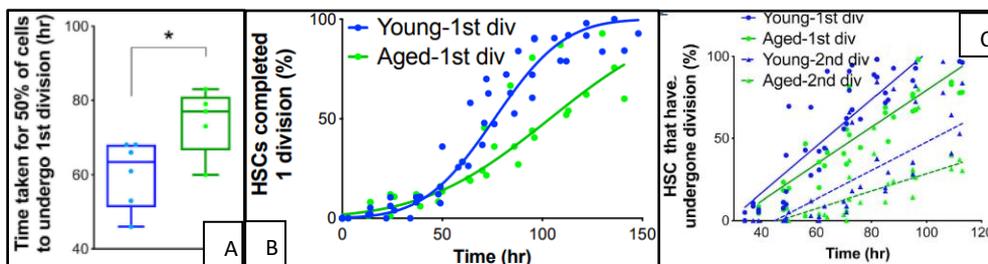
Concernant la relation entre le cycle cellulaire des CSH et l'âge, Pang et al. montrent une diminution du nombre de CSH quiescentes en phase G0 chez le groupe de patients âgés (81) tandis que l'équipe d'Amoah observe que les CSH âgées débutent leur première division cellulaire avec un retard par rapport aux CSH jeunes. Toutefois, une fois les deux premières divisions effectuées, leurs cinétiques deviennent comparables (83).



**Figure 36 : Cycle cellulaire des CSH chez les sujets jeunes versus les sujets âgés**

(Pang et al., *PNAS*, 2011)

La comparaison entre les CSH des deux groupes montre que le taux de CSH en phase G0 (en quiescence) est significativement plus bas dans le groupe des sujets âgés (# : p < 0,013).



**Figure 37 : Cycle cellulaire des CSH selon l'âge (Amoah et al., *Haematologica*, 2022)**

A : Le temps pour que 50 % des CSH des sujets âgés effectuent leur première division est significativement plus long.

B : Le temps pour que les CSH des sujets âgés achèvent complètement leur première division est significativement plus long.

C : Une fois la première division effectuée, leur cinétique de division est similaire dans les deux groupes.

### III.4.3 La ségrégation asymétrique des CSPH

La division cellulaire asymétrique (DCA) d'une CSH en deux cellules filles différentes (deux CSH distinctes ou une CSH et un progéniteur), par une distribution déséquilibrée des composants cellulaires durant la division, contribue à la génération de l'hétérogénéité fonctionnelle du pool de CSPH ainsi qu'aux variations importantes de l'hématopoïèse (33,35) (62) (84,85) (86).

L'origine de la DCA est incomplètement expliquée. Le phénomène stochastique des processus biochimique et génétique incluant la réplication, la transcription et la traduction représentent un facteur important de la variabilité intra et intercellulaire (87) (62) (88) (89).

Au cours du cycle cellulaire, l'ADN répliqué, l'ARN transcrit et les protéines traduites, provenant d'une même cellule souche hématopoïétique (CSH) ou de CSH génétiquement identiques, peuvent présenter une variabilité très importante. En conséquence, les CSH ne sont pas toujours identiques et le pool de CSH est très hétérogène. L'existence de nombreux régulateurs épigénétiques, cofacteurs de transcription et modifications post-traductionnelles accentue encore davantage cet effet stochastique.

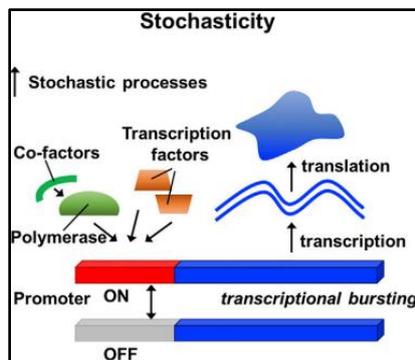


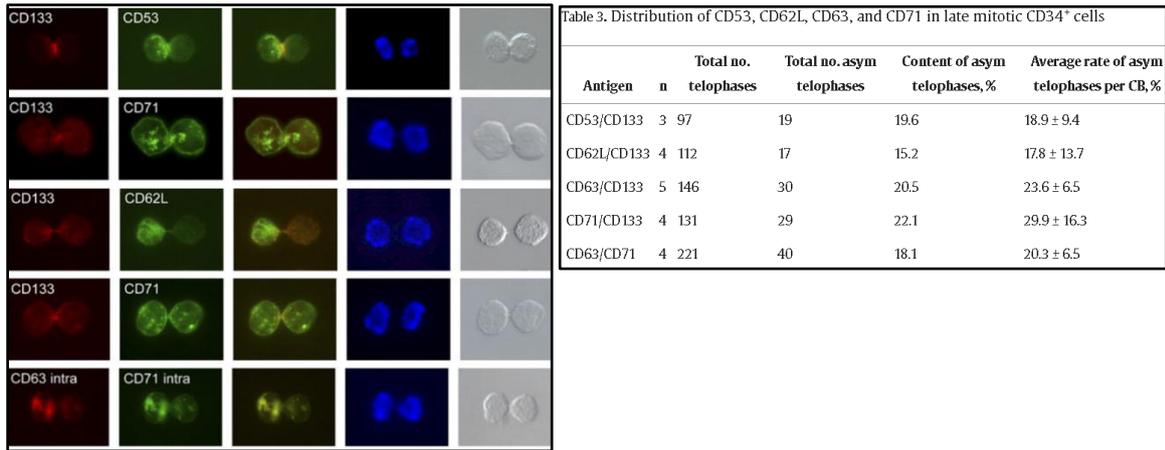
Figure 38 : Stochasticité (Hass et al., *Cell Stem Cell*, 2018)

Le phénomène stochastique (« phénomène aléatoire ») des processus moléculaires des cellules (transcription, traduction) est l'un des déterminants intrinsèques de la variabilité intra- et intercellulaire. Elle explique en partie la DCA et l'hétérogénéité des CSH.

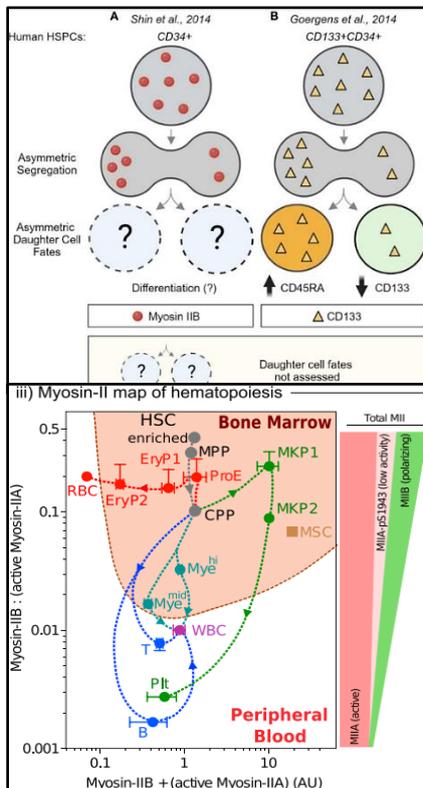
La démonstration expérimentale de la DCA des CSPH humaines en CMF est réalisée pour la 1ère fois en 2007 avec l'étude fonctionnelle des cultures de CSH issues du sang de cordon de Beckmann et al (85).

Durant la mitose, la ségrégation de nombreux marqueurs de surface est observée de manière asymétrique, mais les 4 protéines de surface CD53, CD62L (L-sélectine), CD63 (LAMP-3) et CD71 (récepteur de la transferrine) sont les plus remarquables. Elles se séparent de manière asymétrique dans environ 20 % des cellules CSPH. Le CD71 et les tetraspanines (CD53 et CD63) sont des protéines associées aux endosomes et fournissent donc une preuve indirecte du processus de DCA au sein du compartiment CSPH CD34+.

**Figure 39 : Ségrégation asymétrique des marqueurs membranaires des CSPH CD34+ (Beckmann et al., *Blood*, 2007)**



En 2014, deux groupes mettent en évidence la répartition hétérogène de la myosine IIB (Shin et al.) et du CD133 (Goergens et al.) lors de la DCA des CSPH (84) (86) (90).



**Figure 40 : DCA de la myosine et de CD133**

(Nunes et al., *Front. Hematol*, 2024)

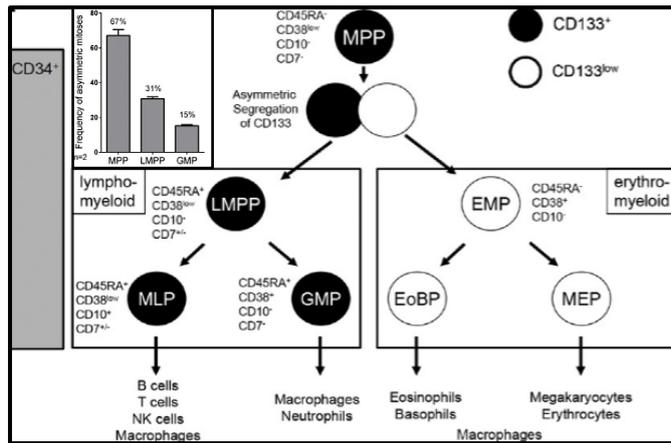
Même si Shin et al et Goergens et al ne peuvent pas mettre en évidence ou confirmer leur rôle précis concernant la ségrégation asymétrique de la myosine IIB (MIIB) et du CD133 dans l'hématopoïèse, leurs études sont les premières à introduire le rôle de la DCA dans la différenciation et le lignage des CSPH (90).

**Figure 41 : Expression de la myosine IIB selon la hiérarchie de l'hématopoïèse (Shin et al., *Cell Stem Cell*, 2014)**

Par l'analyse de cytométrie de masse (ou CyTOF) en culture, Shin et al. démontrent que le ratio myosine-IIB (MIIB) polarisée / myosine IIA est le plus élevé au niveau des CSPH CD34+. Puis, au cours de la différenciation, la transformation de la myosine II de l'isoforme B en A et l'activation de la MIIA par déphosphorylation augmentent progressivement en même temps que la ségrégation asymétrique de la myosine IIB. Cela suggère par conséquent sa contribution à la différenciation cellulaire des CSPH (84).

En s'appuyant sur leur modèle d'hématopoïèse précédemment établi en 2013 (51), l'étude de Goergens et al. (2014) montre une ségrégation asymétrique importante du marqueur CD133 pour les progéniteurs CD34+. La DCA concerne environ 67 % des MPP, 31 % des LMPP et 15 % des GMP pour le CD133. En même temps, leur étude démontre ainsi que les MPP (CD34+CD133+CD45RA-) donnent naissance à la fois aux progéniteurs LMPP (CD133+CD45RA+) et aux EMP (CD133 faible, CD45-). La ségrégation asymétrique de CD133 et CD45RA suggère donc un rôle instructif de la DCA de ces marqueurs dans le lignage lymphoïde et érythro-

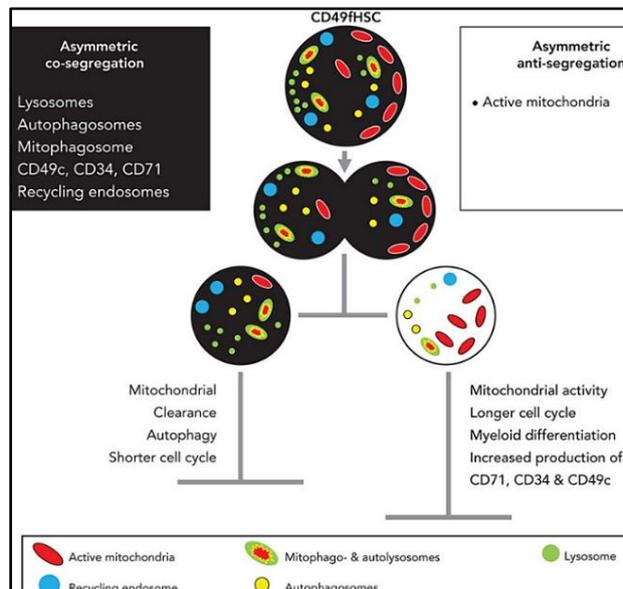
myéloïde des MPP (86).



**Figure 42 : DCA des marqueurs CD133 et CD45RA des progéniteurs MPP (Goergens et al., Stem Cell Rep., 2014)**

La reconstruction de l'hématopoïèse par les analyses single-cell (cytométriques et fonctionnelles) montrant l'asymétrie de CD133 chez environ 67 % des progéniteurs multipotents (MPP), 31 % des progéniteurs lymphoïdes pluripotents (LMPP) et 15 % des progéniteurs granulo-monocytaires (GMP). La conséquence de DCA du CD133 des MPP est l'expression de CD133+ par les LMPP et l'absence de celui chez les EMP.

En 2022, l'étude *single-cell* des CSH issues du sang du cordon de Loeffler et al. montre une co-ségrégation asymétrique des lysosomes et de l'activité mitochondriale, ainsi que des marqueurs CD49c, CD34 et CD71. D'un côté, les CSH filles de CSH ayant plus de lysosomes ont une augmentation de l'autophagie, un cycle cellulaire plus court et une diminution de l'activité métabolique et mitochondriale. D'un autre côté, les cellules avec plus d'activité mitochondriale ont une différenciation myéloïde plus importante (33). L'asymétrie fonctionnelle est liée entre autres à l'expression des marqueurs CD34 et CD49c (l'adhésion cellulaire) (91), CD71 et CD201 (le métabolisme cellulaire et l'homéostasie des ROS) (92) (93) .



**Figure 43 : DCA lysosomale et mitochondriale et des marqueurs (CD49c, CD34, CD71) (Loeffler et al, Blood, 2022)**

L'étude en *single-cell* des CSH par Loeffler et al. indique une ségrégation asymétrique, dans des sens opposés, des mitochondries et des lysosomes, entraînant ainsi une asymétrie fonctionnelle entre les cellules filles. Les cellules héritant d'un plus grand nombre de lysosomes ont un cycle cellulaire court, tandis que celles contenant davantage de mitochondries et moins de lysosomes présentent un cycle plus long et une activité métabolique plus élevée. Ces dernières expriment par ailleurs davantage les marqueurs CD34, CD71 et CD49c et témoignent aussi d'une différenciation myéloïde plus importante.

### III.4.4 Les CSPH présentent des profils d'expression spécifiques de lignage (Transcriptional lineage priming)

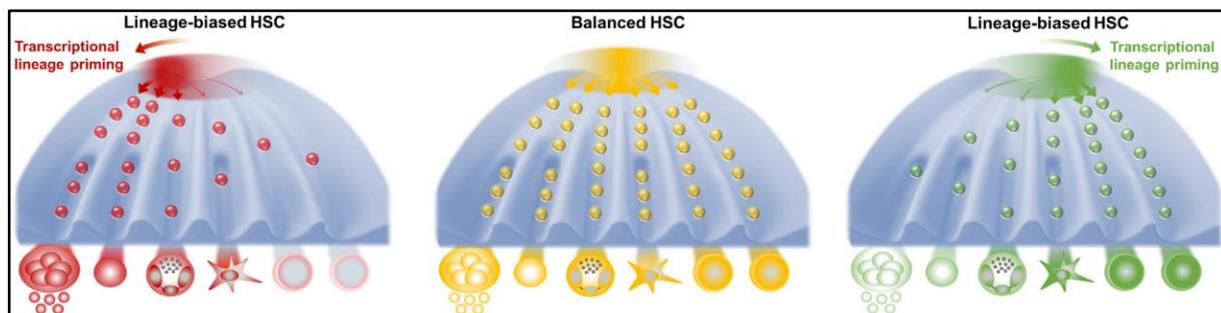
De nombreuses études, dont celles de Velten et al. (2017) (45) et Komic et al. (2025) (94), ont prouvé que chaque CSPH possède un profil d'expression transcriptionnelle spécifique de lignage (transcriptional lineage priming).

En combinant différentes techniques d'analyse *single-cell*, telles que les approches transcriptomiques, phénotypiques et clonogéniques, ils ont montré que chaque sous-population de CSPH possède sa propre expression phénotypique et transcriptionnelle, ainsi qu'un potentiel préférentiel, soit vers une lignée cellulaire unique, soit vers plusieurs lignées différentes. D'ailleurs, l'existence de nombreuses preuves montrant des CSPH biaisées vers la lignée mégacaryocytaire, aussi bien chez la souris que chez l'être humain (29) (95) (56) (77) (96) (57), renforce l'idée de profils d'expression spécifiques de lignage des CSH et, par conséquent, de leur hétérogénéité génétique et fonctionnelle.

Au cours de la différenciation, les CSPH acquièrent progressivement des spécificités transcriptionnelles et/ou perdent leurs potentiels pour s'engager vers une lignée hématopoïétique en aval. L'engagement ou l'engagement des CSPH dans l'hématopoïèse peut être :

**Équilibré** : les CSPH ont un potentiel identique et peuvent s'engager vers chaque lignée de façon équitable.

**Biaisé/orienté** : les CSPH ont des potentiels hétérogènes et peuvent s'engager de façon préférentielle vers une seule lignée.



**Figure 44: Engagement et lignages des CSH dans un modèle d'hématopoïèse en continuum (Haas et al., *Cell Stem Cell*, 2018)**

Chaque CSH possède son propre profil transcriptionnel. Elles peuvent reconstruire une hématopoïèse complète avec les différentes lignées de manière équilibrée ou créer un lignage biaisé si leur profil génétique et fonctionnel est orienté vers une ou plusieurs lignées différentes.

## IV. Généralités sur les syndromes myéloprolifératifs

### IV.1 Définition

**Les syndromes myéloprolifératifs (SMP) ou néoplasies myéloprolifératives (NMP)** sont des hémopathies clonales des CSPH, caractérisées par la production excessive de cellules myéloïdes matures (18) (97) (98) (99) (100) (101).

On distingue le SMP Philadelphie positif ou la leucémie myéloïde chronique avec la présence de la translocation t(9 ;22) et du transcrite *BCR-ABL*, des autres SMP Philadelphie négatifs (SMP phi-) (97).

**Les SMP phi-** comprennent la thrombocythémie essentielle (TE, 55% des cas), la polyglobulie de vaquez (PV, 34% des cas) et la myélofibrose primitive (MFP, 11% des cas) (98) (102).

Depuis 2016, l'OMS a introduit le stade MF pré-fibrotique dans la classification des SMP.

Cette entité est distinguée de la TE et de la PV du fait de son mauvais pronostic car plus à risque de transformation leucémique (103) (104).

De nouvelles entités SMP, comme la leucémie chronique à éosinophiles (LCE), la leucémie chronique à neutrophiles (LCN) et la leucémie myélomonocytaire juvénile (LMMJ), ont été récemment décrites et modifiées dans la classification de l'OMS en 2022.

La leucémie myélomonocytaire chronique (LMMC) est une hémopathie frontière appartenant au groupe des néoplasies myéloprolifératives/myélodysplasiques (SMP/SMD). Elles partagent donc plusieurs caractéristiques physiopathologiques et génétiques avec les SMP (97).

### IV.2 Description statistique de l'ensemble des SMP

**Les SMP sont des hémopathies malignes peu fréquentes.**

Ils touchent principalement les adultes âgés de 60 à 70 ans, mais peuvent être observés, bien que très rarement, chez l'adulte jeune et l'enfant (105) (106) (107) (108) (109) (110).

En France, la prévalence des SMP phi- est estimée à 3 762 cas en 2018 dont 52% chez les femmes. Les incidences standardisées sont de 2,5 chez l'homme et 2,9 chez les femmes pour 100 000 personnes-années (111) (112) (113). Les incidences de chaque entité sont détaillées comme suit :

**Tableau 2 : La synthèse épidémiologique des SMP en France**

Données nationales de santé publique 2021 concernant les SMP (105) (112) (114) (115) (116).

Maladie	Incidence par 100 000 personnes-années (H/F)	Âge Médian H/F	Ratio H/F	SNS à 5 ans (%)
PV	1,0/0,6	68/72	1,7	93% [90 -95]
TE	1,4 /1,5	69/73	0,9	91% [89 - 93]
LMC	1,0 /0,7	61/62	1,4	86% [77 -92]
MFP	0,4/0,3	71 /72	1,3	46% [41 -51]
LMMC et autre SMP/SMD	1,1/0,5	77/80	1,1-0,5	45% [41 - 48]

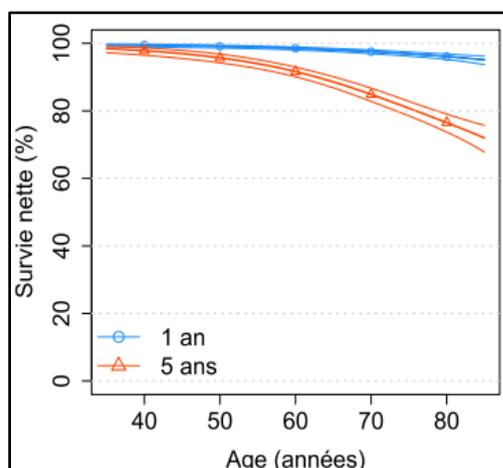
SNS : survie nette standardisée

**Les SMP sont des hémopathies de pronostic favorable**

À l’exception de la MFP, qui présente un pronostic médiocre, le pronostic des patients atteints de SMP est généralement très bon (105).

Selon les données de Santé publique France de 2021, la survie nette standardisée (SNS) à 1 an pour les patients atteints de SMP phi-, diagnostiqués entre 2005 et 2015, est de 96 %, quel que soit l’âge. À 5 ans de suivi, la survie est en moyenne de 85 %, mais elle diminue en fonction de la tranche d’âge (96 % pour les moins de 40 ans contre 77 % pour les plus de 80 ans).

Le pronostic est légèrement meilleur chez les femmes, avec une SNS à 5 ans de 88 % contre 81 % chez les hommes.



**Figure 45 : Survie nette standardisée selon l’âge des patients atteints de SMP phi- (Mounier et al., Santé publique France, 2021)**

Pour les tranches d’âge de 40, 50, 60, 70 et 80 ans chez les 2 sexes :

-La SNS à 1 an est respectivement de 99, 99, 99, 98 et 96 %.

-La SNS à 5 ans est respectivement de 98, 96, 92, 85 et 77 %.

### IV.3 Tableau clinique et critères diagnostiques des SMP

Un SMP peut être suspecté sur une NFS anormale, réalisée à titre systématique, qui montre, selon les cas, une augmentation de l'hémoglobine, de l'hématocrite, des plaquettes, des leucocytes, ainsi que la présence d'une myélémie et d'érythroblastes circulants. Il est également souvent évoqué en présence d'une complication vasculaire et/ou lors de la découverte d'une splénomégalie (18).

#### IV.3.1 La thrombose vasculaire des SMP : incidence et mortalité

La revue et méta-analyse de Rungjirajittranon et al. (2019) montre qu'au moment du diagnostic, la prévalence des thromboses vasculaires dans les SMP est de 20 % (9,5 à 38,6 %), contre 6,2 % (5 à 7,8 %) pour les complications hémorragiques.

La prévalence globale des thromboses artérielles est de 16,2 % (13 à 20 %), tandis que celle des thromboses veineuses est de 6,2 % (4,9 à 7,8 %). Les événements thrombotiques fréquents incluent l'accident vasculaire cérébral (AVC) et l'accident ischémique transitoire (AIT), le syndrome coronarien aigu (SCA) et les thromboses veineuses profondes (TVP). Les complications hémorragiques sont principalement gastro-intestinales et cutanéomuqueuses (117).

Lors du suivi à 3 mois, 1 an et 5 ans, le risque relatif de thromboses artérielles est respectivement de 3, 2 et 1,5 fois, tandis que celui des thromboses veineuses est de 9,7, 4,7 et 3,2 fois par rapport à la population générale, selon l'étude cas-témoins de Hultcrantz et al., (2019) (118).

**La thrombose vasculaire est associée à des taux de mortalité et de morbidité élevés** (104) (117,119) (120) (121).

Dans une cohorte de 1 547 patients atteints de PV (Barbui et al., 2023), le taux de mortalité à 10 ans est de 40 % chez les patients ayant présenté une thrombose, soit deux fois plus que chez les patients sans épisode thrombotique (20 % ;  $p < 0,01$ ) (102). De même, une étude rétrospective portant sur des patients atteints de TE et de pré-MFP (Carobbio et al., 2023) a mis en évidence un surrisque de mortalité plus (HR = 4) chez les patients ayant présenté une thrombose. La mortalité indirecte causée par la thrombose est de 25,3 % chez les patients atteints de TE, contre 11 % chez ceux atteints de pré-MFP (104) (122).

### IV.3.2 Le caractère thrombophilique des SMP est de nature multifactorielle

Plusieurs mécanismes sont décrits comme participant à la création de thromboses dont les 2 principaux sont :

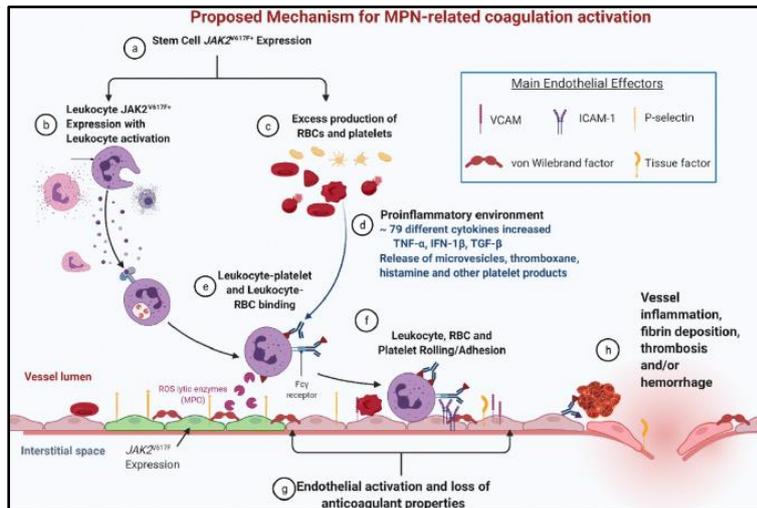


Figure 46 : Physiopathologie de la thrombose dans les SMP (Reeves et al., *Curr. Hematol. Malig. Rep.*, 2021)

La mutation somatique motrice, telle que V617F des CSPH, entraîne une production excessive de cellules sanguines matures, induisant une hyperviscosité sanguine ainsi qu'une activation leucocytaire et une adhésion plaquettaire. Ces trois derniers événements coopèrent avec les cytokines pro-inflammatoires et prothrombotiques des SMP, qui activent et altèrent l'endothélium vasculaire, amplifiant ainsi le mécanisme de thrombophilie.

1. Une hyperviscosité : augmentation de la masse globulaire circulante et des forces de cisaillement, ainsi qu'une intensification des interactions cellulaires, de l'adhésivité plaquettaire et leucocytaire (117,123) (124) (125).

2. Un environnement inflammatoire, caractérisé par l'activation des leucocytes et la libération de cytokines ainsi que de substrats oxygénoréactifs, pro-agrégants et pro-inflammatoires, entraîne une dysfonction de l'endothélium vasculaire, ainsi que l'agrégation des plaquettes et des leucocytes. Par la suite, l'adhésion des leucocytes, des plaquettes et des hématies à un endothélium altéré est à l'origine de l'activation de la cascade de la coagulation (120) (126) (127) (128) .

Parmi les marqueurs inflammatoires, une hyperleucocytose > 11 G/L et un ratio neutrophiles/lymphocytes (RNL) ont été démontrés comme étant significativement corrélés au risque de thrombose vasculaire, à la mortalité et à l'évolution vers une myélofibrose (122) (129) (130).

### IV.3.3 Stratification du risque thrombotique des SMP

Le travail de Pasquer et al. (2024) a identifié quatre facteurs de risque associés à la thrombose artérielle, intégrés dans le score ARTS : un antécédent de thrombose artérielle, un âge supérieur à 60 ans, la présence de facteurs de risque cardiovasculaires, ainsi qu'une mutation des gènes TET2 ou DNMT3A (119) .

Le risque de thrombose veineuse peut être estimé par le score VETS (Pasquer et al., 2024, (119) annexe 1), qui prend en compte la mutation JAK2V617F et les antécédents de thrombose. Ce score est comparable aux scores actuels, tels que l'IPSET-thrombosis (Barbui et al., 2012, annexe 1) pour la TE (131) (132).

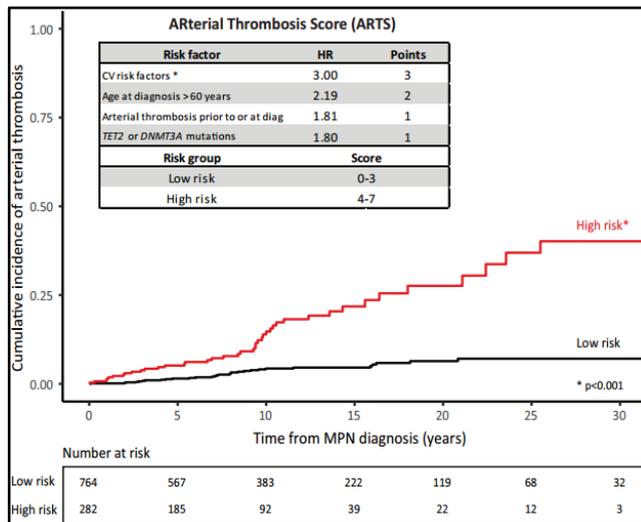


Figure 47 : Score ARTS prédictif de la thrombose artérielle (Pasquer et al., *Leukemia*, 2024)

Le risque de thrombose artérielle est classé en deux catégories selon le score ARTS :

- Faible risque de thrombose artérielle : 0,37 % par an
- Risque élevé de thrombose artérielle : 1,19 % par an

## IV.4 Diagnostic bioclinique des SMP et classification OMS 2022

Chaque SMP a sa propre présentation clinique et biologique.

Les critères diagnostiques cliniques et biologiques sont synthétisés dans la classification OMS 2022, un outil essentiel dans la pratique diagnostique de routine.

### IV.4.1 Polyglobulie de Vaquez

La PV peut survenir à tout âge, mais elle est le plus souvent diagnostiquée autour de 60 ans. Elle est évoquée devant une polyglobulie lors d'une réalisation d'une NFS ou des signes d'hyperviscosité sanguine.

La présence des signes d'hyperviscosité comme le prurit à l'eau et l'érythroscutanéomuqueuse et les signes neurosensoriels (érythromélagies, céphalées, vertiges, troubles visuels, paresthésies) sont des arguments cliniques évocateurs de PV (133) (134).

Au diagnostic de la PV, une complication thrombotique est retrouvée dans 20,7% des cas (102) (106). Une splénomégalie est présentée chez environ 30 à 40% des patients (98) (135) (136) (137). La confirmation diagnostique d'une PV nécessite la présence de trois critères majeurs ou des deux premiers critères majeurs associés à un critère mineur, selon la classification de l'OMS 2022 (97).

**Tableau 3 : Critères diagnostiques de la PV selon la classification de l'OMS 2022**

<b>Critères Majeurs</b>	Hb > 16,5 g/dL chez l'homme, > 16 g/dL chez la femme, ou Ht > 49 % chez l'homme, > 48 % chez la femme.
	BOM avec hypercellularité des trois lignées myéloïdes et maturation mégacaryocytaire pléiomorphe.
	Présence d'une mutation de JAK2 V617F ou de l'exon 12 de JAK2.
<b>Critères Mineurs</b>	Taux sanguin d'EPO normal ou inférieur à la normale.

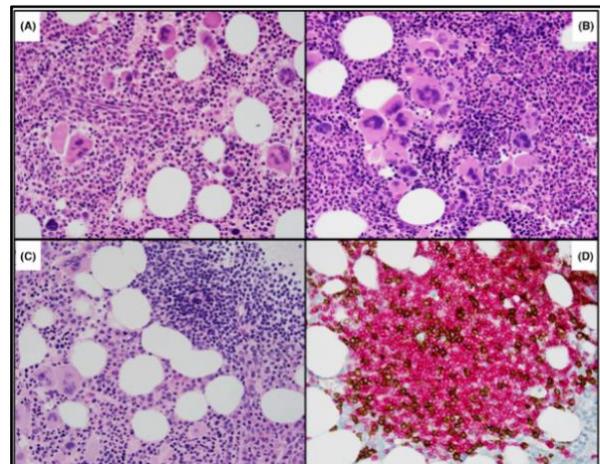
En parallèle, une autre démarche importante consiste à éliminer les causes secondaires d'hyperglobulie, telles que l'hypoxie chronique ou certaines néoplasies sécrétant de l'EPO.

À noter : deux critères mineurs (l'augmentation de la masse sanguine totale et la pousse spontanée des progéniteurs érythroblastiques) ont été exclus depuis 2016. Toutefois, ils conservent un intérêt dans certains cas, notamment en l'absence de mutation de JAK2.

**Figure 48 : Moelle osseuse de PV**

(Ng et al., *Int. J. Lab. Hematol.*, 2023) (138)

- (A) BOM montrant une hyperplasie myéloïde
- (B) Amas de mégacaryocytes hyperplasiques et pléomorphes
- (C), (D) Agrégat de lymphocytes réactionnels
- (C) HE ×200
- (D) Anti-CD20+ et anti-CD3+ en immunohistochimie



#### IV.4.2 Thrombocytémie essentielle

Au moment du diagnostic, le patient peut être asymptomatique ou présenter des symptômes liés à l'hyperviscosité et aux désordres microcirculatoires, similaires à ceux de la PV.

Parfois, la TE peut être découverte à l'occasion de complications thrombotiques (20 % des cas) ou d'un syndrome hémorragique (7 % des cas) (99) (117) (133) (139).

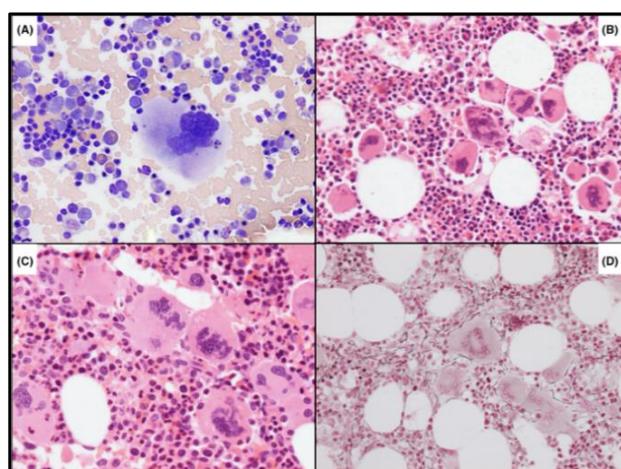
A l'examen clinique, on peut trouver des érythroméalgies. La splénomégalie concerne environ 12 à 17 % des patients, ce qui en fait la moins fréquente des trois SMP phi- (98) (139) (140) (141).

La démarche diagnostique doit d'abord confirmer le caractère chronique de la thrombocytose et éliminer une cause réactionnelle ou secondaire, comme une pathologie infectieuse, inflammatoire ou néoplasique (142).

Enfin, le diagnostic est posé sur la présence des 4 critères majeurs, ou des 3 premiers critères majeurs associés à un critère mineur, selon la classification de l'OMS de 2022.

**Tableau 4 : Critères diagnostiques de la TE selon la classification de l'OMS 2022 (97)**

Critère majeur 1	Plaquettes > 450 G/L
Critère majeur 2	BOM avec prolifération mégacaryocytaire et augmentation du nombre de formes matures de grande taille, présentant un noyau hyperlobulé. Pas d'augmentation significative des autres lignées. Rarement, une densification minime de la trame réticulinique peut être observée (fibrose de grade 1).
Critère majeur 3	Absence de critères en faveur d'une LMC, d'une PV, d'une MFP, d'un SMD ou d'une autre hémopathie myéloïde.
Critère majeur 4	Présence d'une mutation de JAK2, CALR ou MPL
Critères mineurs	Présence d'un marqueur de clonalité ou absence d'étiologie pour une thrombocytose réactionnelle



**Figure 49 : Moelle osseuse de la TE**

(Ng et al., *Int. J. Lab. Hematol.*, 2023) (138).

A : La MO montre des mégacaryocytes géants (Wright-Giemsa, x200).

B : La BOM révèle une hyperplasie mégacaryocytaire (HE, x200).

C : La BOM met en évidence des mégacaryocytes géants avec des noyaux hyperlobés (HE, x400).

D : La BOM, en coloration réticulinique, montre une myélofibrose de grade 1.

#### IV.4.3 Myélofibrose primitive

La MFP (également appelée splénomégalie myéloïde) se caractérise par une prolifération anormale des lignées mégacaryocytaire et granulocytaire, associée à une prolifération polyclonale des fibroblastes, conduisant à une fibrose collagénique ou réticulinique de la MO (133).

La MFP concerne principalement les personnes âgées, avec un âge médian au diagnostic de 72 ans (143). Parmi les trois SMP, la splénomégalie est plus fréquente dans la MFP, touchant 70 % à 80 % des patients (136) (140) (144). La classification de l'OMS et de l'ICC 2022 distinguent une phase dite pré-fibrotique et une phase de myélofibrose proprement dite (97) (145). La MF pré-fibrotique présente le même tableau clinico-biologique que la MFP, mais son histologie médullaire est différente, avec la présence d'une myélofibrose de grade 0 ou 1. De plus, elle a un pronostic plus défavorable que la TE (104,143) (146) (112).

## La MFP est le SMP avec le pronostic le plus sombre.

Selon Santé publique France, la survie nette standardisée (SNS) est de 86 % à 1 an et de 46 % à 5 ans, tous âges confondus. Elle diminue avec l'âge, la SNS à 5 ans étant de 67 % à 50 ans contre 29 % à 80 ans. Le taux de mortalité à 5 ans est très élevé, de l'ordre de 50 %, et la quasi-totalité des décès survient au cours des cinq premières années suivant le diagnostic (143).

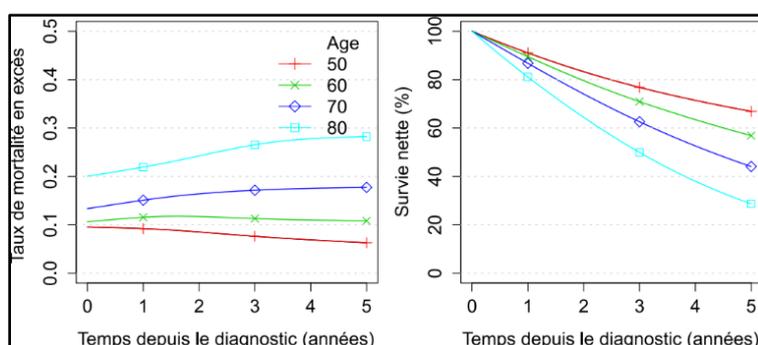


Figure 50 : SNS et mortalité des patients atteints de MFP selon l'âge (Cornet et al., Santé public France, 2021)

Le taux de SNS par tranche d'âge de 50, 60, 70 et 80 ans sont respectivement de 92, 90, 86 et 79% à 1 ans et 67, 57, 44 et 29% à 5 ans du suivi.

La médiane de survie est d'environ 4 à 5 ans pour la MFP, tandis qu'elle est de l'ordre de 15 à 20 ans pour la TE et la PV, selon différentes études de cohortes de grande envergure : Guglielmelli et al., 2017 (103), Vallapureddy et al., 2019 (147), Baade et al., 2019 (148), Szuber et al., 2019 (140), Htun et al., 2022 (149) et Verstovsek et al., 2022 (150).

Le diagnostic de MFP peut être évoqué devant le tableau clinico-biologique ci-dessous :

Tableau 5 : La présentation clinique et biologique de la myélofibrose

Tableau clinique-biologique		Présentation, interprétation (103) (133) (138) (151) (147) (152) (153) (154)
Clinique	Signes généraux	Asthénie, amaigrissement, sueurs nocturnes, hyperthermie, prurit (30-50%)
	Métaplasie myéloïde	-Splénomégalies 70-80% : Parfois douloureuse, compressive voire infarctus splénique -Hépatomégalie (70%)
Hémogramme		-Anémie (37-50%) avec aniso-pokilocytose -Présence de dacryocytes avec érythromyélie -Thrombopénie (15-30%) -Hyperleucocytose (10%) -Myélie -Blastose sanguine (20-30%)
Biochimie		LDH augmenté
Myélogramme		Densité cellulaire diminué

Le diagnostic requiert les trois critères majeurs et au moins un critère mineur selon la classification de l’OMS et de l’ICC 2022 (97) (145) comme suit :

**Tableau 6 : Les critères diagnostiques de la myélofibrose selon OMS et ICC 2022**

<b>Critère majeure</b>	BOM avec prolifération et atypies mégacaryocytaires, accompagnée d’une fibrose réticulinique ou collagénique (grade 2 ou 3)
	Absence de critères OMS pour une LMC (BCR-ABL), une PV, une TE, un syndrome myélodysplasique ou une autre hémopathie myéloïde
	Présence d’une mutation de JAK2, CALR ou MPL, ou présence d’un marqueur de clonalité (par exemple, une mutation de ASXL1, TET2, EZH2, IDH1/2, SRSF2, SF3B1), ou absence de cause réactionnelle de fibrose médullaire
<b>Critères mineurs</b>	Anémie non liée à une comorbidité
	Hyperleucocytose > 11 G/L
	Splénomégalie
	Augmentation de LDH
	Erythomyélémie

**Figure 51 : MO de MFP (Ng et al., *Int. J. Lab. Hematol.*, 2023) (138)**

A. Frottis sanguin montrant des dacryocytes et un érythroblaste

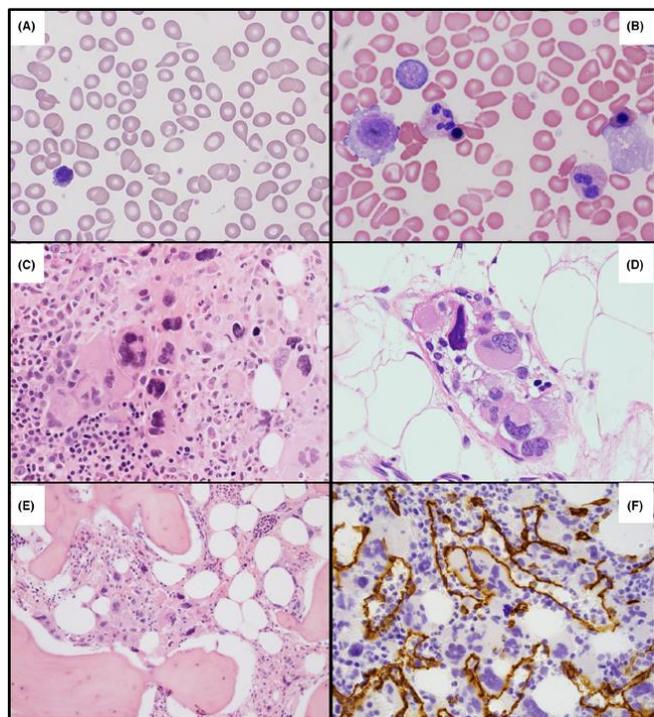
B. Frottis sanguin avec des érythroblastes, un micromégacaryocyte et des plaquettes géantes hypogranuleuses

C. BOM montrant une hyperplasie mégacaryocytaire en amas, avec présence de noyaux proéminents et hyperchromatiques

D. Cellules hématopoïétiques présentes dans des capillaires sinusoidaux dilatés

E. Ostéosclérose avec rétrécissement de l’espace inter-trabéculaire

F. Expansion de l’endothélium vasculaire marquée par l’anti-CD34 en immunohistochimie



## IV.5 Evolution naturelle des SMP : La transformation leucémique et la myélofibrose secondaire

Comme la LMC, l’évolution naturelle des SMP phi- comporte 3 phases principales (97) (145) (155) (156) :

- 1- Une phase chronique : le SMP est diagnostiquée et identifiée grâce à la classification OMS.
- 2- Une phase d’accélération : le taux de blastes médullaires est compris entre 10% et 19%.
- 3- Une phase blastique : présence de plus de 20% de blastes dans le sang ou la MO.

**Tableau 7 : Risque de tranformation hématologique des SMP phi-**

Pathologie	Médiane de survie et/ou Survie globale	Risque d'évolution vers la myélofibrose	Risque de la transformation leucémique
<b>TE</b> (146) (157) (158)	<u>Barbui et al., Passamonti et al., Rumi et al.</u> (146) (157) (158) -Environ 90% à 10 ans et 80% à 15 ans	<u>Passamonti et al.</u> (157) -0.3% à 5 ans -3.9% à 10 ans <u>Barbui et al.</u> (158) -0,8% à 10 ans	<u>Rumi et al.</u> (146) -1,9 (0,4-6) % à 10 ans <u>Barbui et al.</u> (158) -0,7% à 10 ans,2,1% à 15 ans <u>Passamonti et al.</u> (157) -2.6% à 10 ans
<b>PV</b> (98) (135)	<u>Tefferi et al.</u> (135) -Médiane de survie = 18.9 ans  <u>Sureau et al.</u> (98) -70% / médiane de suivi de 10,5 ans	<u>Tefferi et al.</u> (135) 9% à 10 ans  <u>Sureau et al.</u> (98) -6,2% à 10,5 ans	<u>Tefferi et al.</u> (135) -Médiane=3% à 10.8 ans -2,3 % à 10 ans, 5,5 % à 15 ans et 7,9 % à 20 ans <u>Sureau et al.</u> (98) -6,2% à 10,5 ans
<b>MFP préfibrotique</b> (103) (146) (158)	<u>Guglielmelli et al.</u> (103) -Médiane de survie 14.7 (7.7-21.8) ans <u>Rumi et al.</u> (146) -86,4% à 10 ans	<u>Barbui et al.</u> (158) -12,3% à 10 ans -16,9% à 15 ans <u>Rumi et al.</u> (146) -9,7% à 10ans	<u>Guglielmelli et al.</u> (103) -7% à 5 ans -12%à 10 ans <u>Rumi et al.</u> (146) -2,3% (IC 0,4-7,3%) à 10 ans
<b>MFP</b> (103) (146) (147) (154)	<u>Guglielmelli et al.</u> (103) -Médiane =7.2 (5.7-8.7) ans <u>Tefferi et al.</u> (154) -Médiane = 5.9 ans	NA	<u>Guglielmelli et al.</u> (103) -11 % à 5 ans et 23% à 10 ans <u>Vallapureddy et al.</u> (147) -11 % après un suivi médian de 3 ans
<b>LMMC</b> (159) (160) (161) (162)	<u>Elena et al.</u> (159) -La médiane de survie est de de 48 mois (18-144) en fonction des groupes de risque.	NA	<u>Patnaik et Tefferi et al.</u> (160) -Entre 15%-20% /3-5 ans

#### IV.5.1 La MFP a le risque de transformation leucémique le plus élevé

Si la TE et la PV présentent un risque de transformation en LAM de l'ordre de 1 à 2 % à 10 ans, ce risque atteint 10 à 20 % pour la MFP. De plus, la LAM est également la principale cause de décès chez les patients atteints de MFP (103) (119) (151).

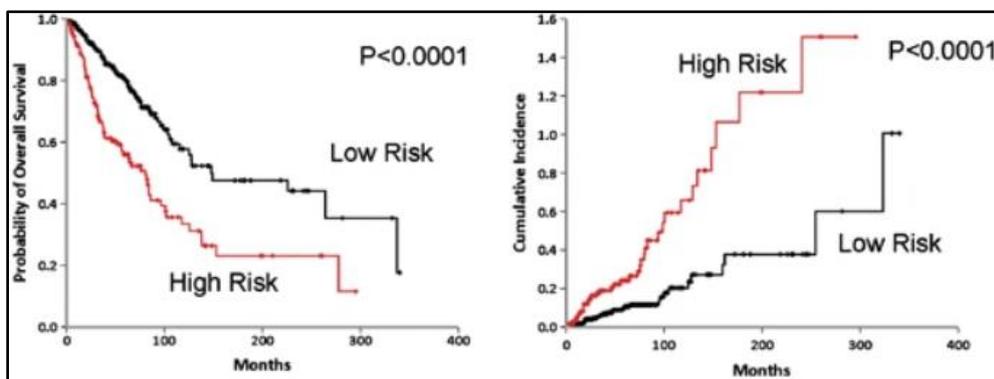
Dans une approche curative, de nombreux outils et scores pronostiques internationaux sont actuellement utilisés pour organiser une prise en charge personnalisée de la MFP. Ils permettent d'identifier les patients les plus à risque et ceux pouvant le mieux bénéficier de l'allogreffe.

Les scores IPSS (Cervantes et al., 2009) et DIPSS (Passamonti et al., 2010) sont les premiers scores cliniques publiés et restent les plus simples à utiliser. Ensuite, à l'instar de l'IPSS et du DIPSS, le DIPSS-plus (Gangat N et al., 2011) prend en compte des facteurs pronostiques tels que l'âge, l'anémie, la leucocytose, la présence de blastes circulants et les symptômes

généraux. En outre, trois autres facteurs de risque y sont ajoutés : la thrombopénie (< 100 G/L), le caryotype à haut risque et la nécessité de transfusions (153,163) (164).

En 2013, l'étude de Vannucchi et al. a permis d'identifier cinq mutations (ASXL1, EZH2, SRSF2, IDH1 et IDH2) associées à un mauvais pronostic pour la MFP. La présence de l'une de ces mutations suffit à classer les patients dans le groupe à haut risque moléculaire, caractérisé par un taux de mortalité et un risque de transformation plus élevés (165).

Dans le même axe de recherche, les travaux de Tefferi et al. ont également démontré l'association péjorative des mutations de U2AF1 (166) et des anomalies cytogénétiques (167) avec le mauvais pronostic de la MFP.

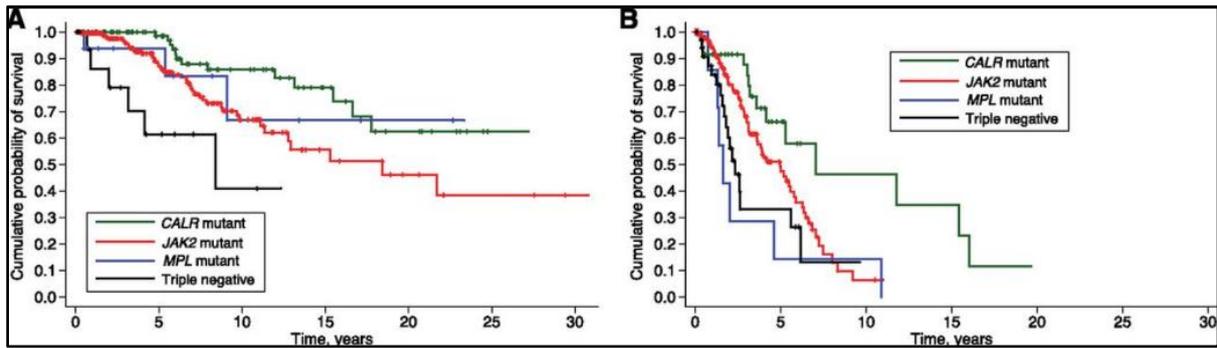


**Figure 52 : Pronostic de la myélofibrose selon le risque moléculaire (Vannucchi et al., *Leukemia*, 2013)**

Les patients présentant au moins une mutation parmi ASXL1, EZH2, SRSF2, IDH1 et IDH2 sont classés en haut risque moléculaire, tandis que l'absence de ces mutations les place en bas risque moléculaire. La survie globale et le risque de transformation leucémique sont significativement moins favorables chez les patients à haut risque moléculaire.

Lors de la prise en charge initiale des patients atteints de MFP, l'évaluation des mutations motrices est essentielle, non seulement pour établir le diagnostic, mais aussi pour affiner le pronostic. En effet, Rumi et al. ont démontré que la survie globale et le risque de transformation leucémique sont significativement corrélés aux mutations motrices, indépendamment du score pronostique IPSS (168).

Le pronostic est nettement plus favorable chez les patients porteurs d'une mutation CALR et plus défavorable chez les patients triple négatifs (CALR- > JAK2 et MPL > triple négatif). La médiane de survie est la plus élevée (17,7 ans) chez les patients mutés CALR, tandis qu'elle est d'environ 9 ans pour les patients mutés JAK2 et MPL, et de seulement 3,2 ans pour les triples négatifs.



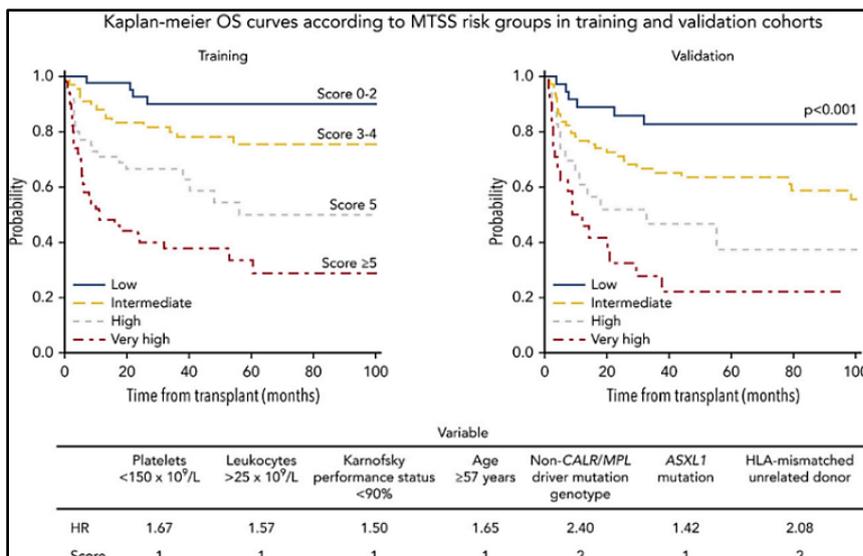
**Figure 53 : Courbes de survie des patients atteints de MFP en fonction des mutations motrices et du score IPSS**

(Rumi et al., *Blood*, 2014)

(A) Patients à risque faible ou intermédiaire-1 selon le score IPSS. (B) Patients à risque élevé ou intermédiaire-2 selon IPSS.

Dans les deux sous-groupes (A et B), les patients porteurs de la mutation *CALR* présentent une survie significativement meilleure que ceux porteurs de la mutation *JAK2 V617F* ( $p = 0,01$ ) et que les patients triples négatifs ( $p < 0,001$ ).

L'identification des mutations somatiques (motrices et additionnelles) a permis le développement de plusieurs modèles pronostiques, tels que le MIPSS70 (Guglielmelli et al., 151) , ainsi que le MIPSS70+ et le GIPSS (170,171) qui intègrent spécifiquement les profils cytogénétiques et moléculaires afin d'améliorer la stratification des patients atteints de MFP. Par ailleurs, le MYSEC-PM (Passamonti et al., 134) est le score de référence pour estimer le pronostic des patients atteints de myélofibrose secondaire, tandis que le MTSS (Gagelmann et al., 154) permet d'évaluer la survie post-allogreffe dans la myélofibrose.



**Figure 54 : Stratification du risque de survie selon le score MTSS (Gagelmann et al., *Blood*, 2019)**

Le score MTSS repose sur plusieurs facteurs pronostiques, dont l'âge, le score de l'état général de Karnofsky, la thrombopénie (<math>< 150 \text{ G/L}</math>), la leucocytose (>math>25 \text{ G/L}</math>), la mutation ASXL1, l'absence de mutation CALR/MPL et l'incompatibilité HLA. Il permet de classer les patients en quatre groupes de risque (bas, intermédiaire, haut et très haut risque), avec une survie à 5 ans post-transplantation estimée respectivement à 83 , 64 , 37 et 22 % (172).

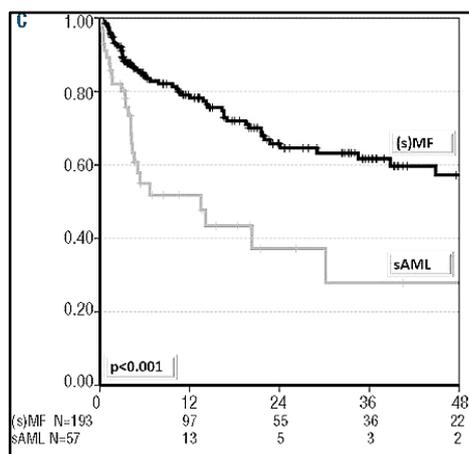
#### IV.5.2 Le pronostic des patients atteints de SMP en phase blastique

Le pronostic des syndromes myéloprolifératifs après transformation en phase blastique ou en myélofibrose est particulièrement défavorable. En effet, aucune amélioration significative de la survie des patients n'a été observée au cours des 20 dernières années, y compris chez les patients allogreffés (173) (174) (175) (176). C'est pourquoi la prise en charge doit combiner un diagnostic précoce, une thérapie adaptée et un suivi personnalisé, en fonction du profil bioclinique de chaque patient, afin de limiter ces transformations péjoratives.

Selon une étude menée sur une cohorte européenne de 250 patients (Lussana et al., 2014), le pronostic des patients allogreffés après transformation d'un SMP en myélofibrose ou en leucémie aiguë myéloïde (LAM) reste sombre :

-Le taux de survie globale et l'incidence de rechute à 3 ans post-allogreffe sont respectivement de 55 % et 32 %. La survie était significativement meilleure chez les patients plus jeunes (< 55 ans : 65 % contre 47 %,  $p = 0,015$ ).

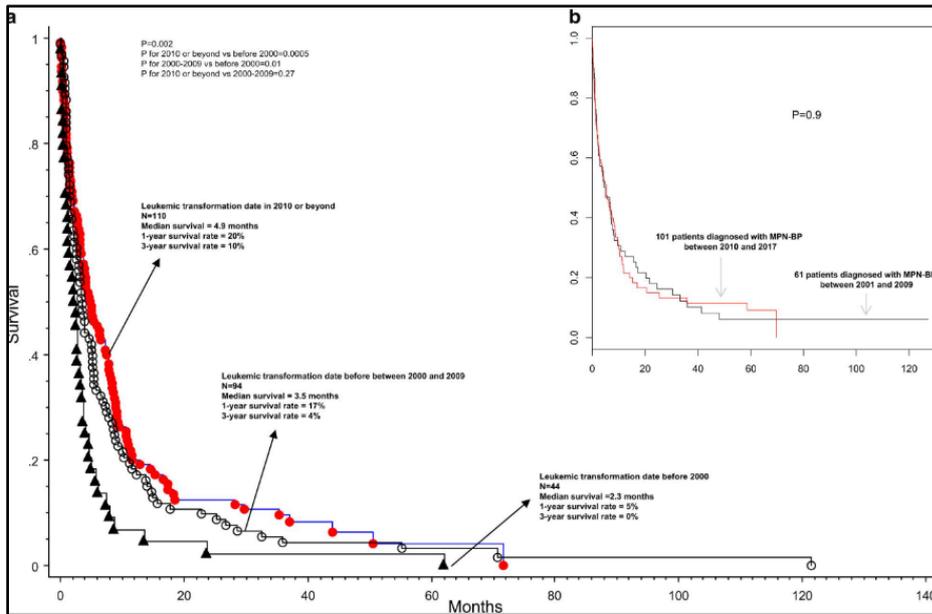
Le taux de survie global à 3 ans post-allogreffe est significativement plus faible chez les patients ayant présenté une transformation leucémique par rapport à ceux ayant une myélofibrose secondaire (28% contre 62%,  $p < 0,001$ ) (175).



**Figure 55 : Survie post-allogreffe des patients atteints de SMP transformés en MF versus en LAM (Lussana et al., *Haematologica*, 2014)**

Chez les patients allogreffés pour un SMP et un LAM secondaire à un SMP, le taux de survie globale à 3 ans post-allogreffe est significativement plus faible chez les patients ayant présenté une LAM par rapport à ceux ayant développé une myélo-fibrose secondaire MF (28 % contre 62 %,  $p < 0,001$ ).

En 2018, l'étude de Tefferi et al. a observé l'absence de différence significative dans la survie des patients en phase blastique diagnostiqués entre 2010 et 2017 par rapport à ceux diagnostiqués entre 2001 et 2009. En analyse multivariée, plusieurs facteurs de risque (FDR) significatifs de mortalité ont été identifiés : un caryotype à haut risque, un nombre de plaquettes  $< 100 \times 10^9/L$ , un âge  $> 65$  ans et une nécessité transfusionnelle (173).

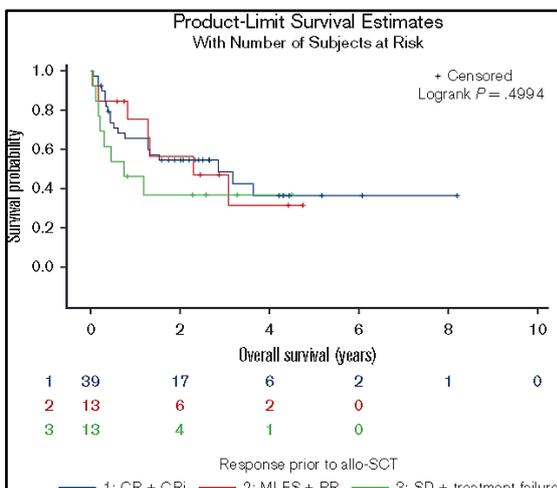


**Figure 56 : Survie des patients SMP-PB (Tefferi et al., *Leukemia*, 2018)**

Tefferi et al., à partir de deux cohortes de 248 et 142 patients, ont montré une médiane de survie de 4 mois en moyenne. Les taux de survie à 3 ans et 5 ans étaient très faible, respectivement de :  
 -32, 10 % chez les patients allogreffés.  
 -19, 13 % chez les patients sous chimiothérapie seule.  
 -1 %, 1 % chez les patients sans traitement ( $p < 0,01$ ).

Enfin, l'une des dernières études longitudinales, portant sur le suivi de 231 patients en phase accélérée et en phase blastique (Patel et al., 2024), montre que le pronostic de ces patients reste extrêmement péjoratif, malgré les avancées thérapeutiques récentes.

La médiane de survie de l'ensemble de la cohorte est de 0,86 an (1,09 ans pour la phase accélérée contre 0,67 an pour la phase blastique). Même chez les patients allogreffés, la médiane de survie post-allogreffe n'est que de 2,3 ans. De plus, aucune corrélation statistiquement significative n'a été observée entre la réponse au traitement pré-allogreffe et la survie post-allogreffe (176).



**Figure 57 : Courbes de survie post-allogreffe des patients atteints de SMP acutisés en LAM (Patel et al., *Blood Adv.*, 2024)**

Patel et al. montrent l'absence de différence en termes de survie post-allogreffe et de type de réponse avant l'allogreffe.  
 (CR : rémission complète ; CRi : rémission complète avec récupération hématologique incomplète ; PR : rémission partielle ; MLFS : rémission sans récupération hématologique ; SD : syndrome de défaillance)

## V. Physiopathologie biomoléculaires des SMP

Grâce aux avancées et aux progrès en génétique, de nombreuses mutations génétiques et mécanismes moléculaires impliqués dans la pathogénèse des SMP ont été découverts.

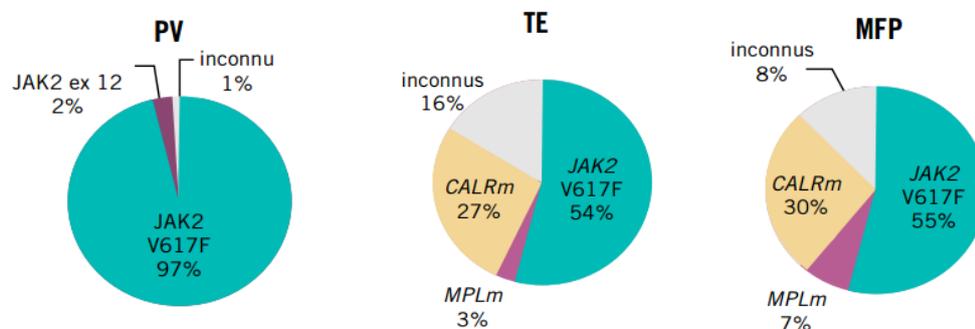
Parmi eux, les trois mutations motrices les plus importantes sont JAK-2, MPL et CALR. Il s'agit de mutations génétiques acquises de type gain de fonction, entraînant une prolifération myéloïde excessive par l'activation constitutive des voies de signalisation JAK/STAT, de manière indépendante des cytokines régulatrices (177) (178) (179).

### V.1 Les mutations motrices des SMP Phi - touchent JAK-2, MPL et CALR

Concernant les mutations motrices du SMP, la mutation de JAK-2V617F est prédominante dans la PV (environ 95- 97%) et environ 50-60% dans la TE et la MFP alors que la mutation de CALR concerne uniquement la TE (27%) et la MFP (30%) (18) (100) (177) (178) (179) (180).

**Tableau 8 : Synthèse des mutations motrice dans le syndrome myéloprolifératives**

Mutation	Rôle-mécanisme	Location	Implication	Impact clinique
<b>JAK 2</b> (3) (181) (128)	Active la voie de signalisation JAK-STAT	- Chromosome 9 (locus 9p24.1) -V617F 97% et Exon 12 : 2%	97-98% PV 54-55% TE 55-60% MFP	Critère diagnostique OMS et ICC
<b>MPL</b> (182) (183) (184)	Active le récepteur à la TPO et la voie JAK-STAT	- Chromosome 1 (locus 1p34.2) - Exon 10 - Sur le résidu W515K/L/A/G/S/R	0% PV 5-7% TE 7-10% MFP	Critère diagnostique OMS et ICC
<b>CALR</b> (185) (186) (181) (187) (188)	Protéine CALR mutée interagit avec MPL et active la voie JAK-STAT	-Chromosome 19 (locus 19p13.13) -Décalage du cadre de lecture / exon 9 -Type 1 : del52 -Type 2 : ins5	0% PV 25-30%TE 20-30% MFP	Critère diagnostique OMS et ICC

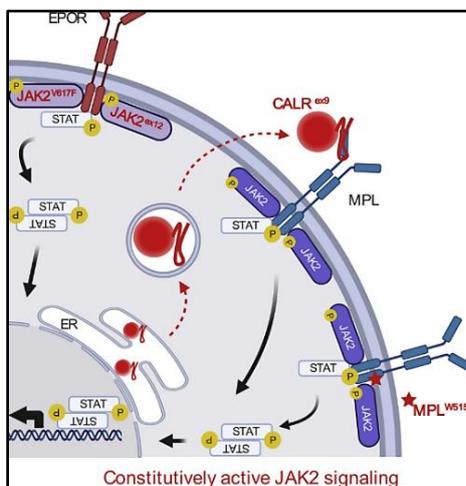


**Figure 58 : Implication des mutations drivers dans la PV, la TE et la MFP (Plo et al., Horizons Hématologie, 2017)**

La mutation JAK2 V617F est retrouvée dans 97 % des cas de PV, 54 % des TE et 55 % des MFP. Les mutations de CALR et de MPL concernent respectivement 27 % et 30 % des TE, ainsi que 7 % et 3 % des MFP. Les cas de SMP sans aucune de ces trois mutations sont appelés « triple négatifs ».

En conditions physiologiques, la prolifération cellulaire est contrôlée et régulée par différents axes cytokines/récepteurs (EPO/EPOR, TPO/MPL et G-CSF/G-CSFR). Lorsque JAK2, MPL ou CALR sont mutés, la voie JAK-STAT5 est activée de façon constitutive, indépendamment des mécanismes de régulation. Cela entraîne, d'une part, une prolifération des cellules myéloïdes sans dépendance aux cytokines et, d'autre part, une hypersensibilité aux facteurs de croissance due à l'activation persistante de la signalisation intracellulaire JAK2/STAT5.

D'autres voies de signalisation, telles que PI3K/AKT/MTOR, MAPK-ERK (3,178) (179) (182) (181) (187) et Hedgehog (187) (189) participent également à la signalisation proliférative des trois SMP phi-.

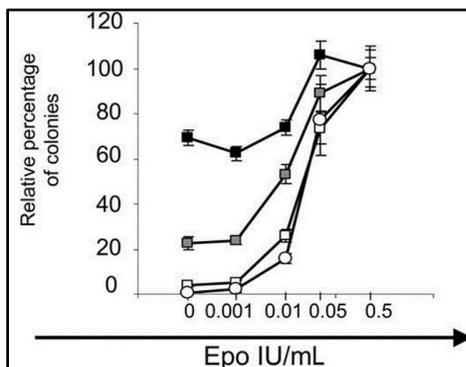


**Figure 59 : Mécanisme moléculaire commun aux PV, TE et MFP**

(Szybinski, *Hematol. Oncol. Clin. North Am.*, 2021)

Les trois mutations somatiques, JAK2, CALR et MPL, entraînent toutes l'activation constitutive de la voie de signalisation JAK2-STAT5.

Lorsqu'elle est activée, cette voie induit l'activation du facteur de transcription STAT5, ainsi que d'autres voies de signalisation intracellulaires, conduisant à une prolifération incontrôlée des CSPH.

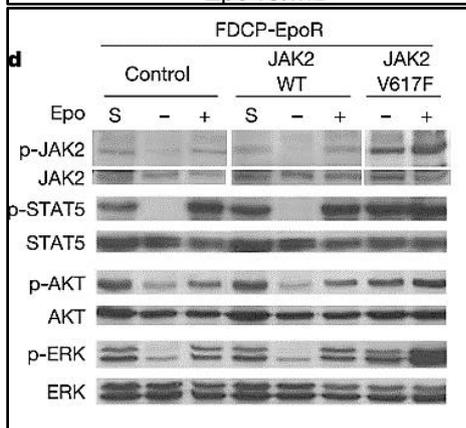


**Figure 60 : La poussée spontanée et indépendante de l'EPO avec l'hypersensibilité des CSPH mutées JAK2 V617F à l'EPO**

(Dupont et al, *Blood*, 2007)

Lors des épreuves de culture clonogénique, les colonies des progéniteurs des patients TE et PV (porteurs de la mutation JAK2 V617F, homozygote ou hétérozygote) se développent même en l'absence d'EPO. Elles sont également hypersensibles à de faibles concentrations d'EPO (181).

(■) : JAK2 V617F homozygote (▣) JAK2 V617F hétérozygote (□) mutation sauvage et (○) non-muté.

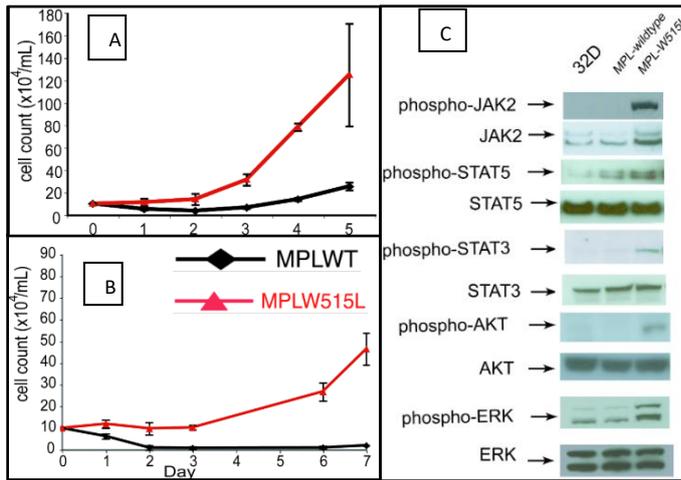


**Figure 61 : Activation constitutive de la voie JAK-STAT5**

(James et al, *Nature*, 2005)

La fixation en Western blot montre la phosphorylation et l'activation indépendante de l'EPO des médiateurs des différentes voies de signalisation intracellulaire chez les patients PV porteurs de la mutation V617F :

- STAT5 (voie JAK-STAT)
- AKT (voie PI3K/AKT)
- ERK (voie des MAP kinases)

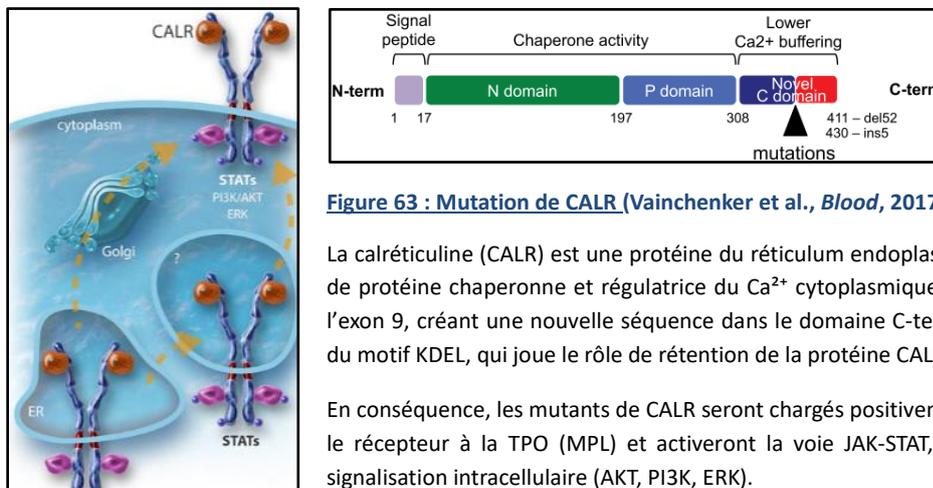


**Figure 62 : La mutation MPL**

(Pikman et al., *PLoS Med*, 2006)

A, B : Lors des épreuves de culture des progéniteurs, la mutation MPL W515L induit une pousse spontanée indépendante des CFU d'IL-3 (A) et de TPO (B), comparée aux progéniteurs non mutés. C : L'analyse en Western blot montre la phosphorylation de JAK2, STAT5, STAT3, AKT et ERK (C) des CSPH mutées, témoignant de l'activation constitutive de la voie de signalisation JAK-STAT, PI3K et MAP kinases.

Les mutations de CALR, localisées dans l'exon 9 du gène, induisent un décalage du cadre de lecture, générant une nouvelle séquence peptidique en C-terminal, caractérisée par une charge positive et la perte du motif KDEL (responsable de la rétention dans le réticulum endoplasmique (RE)). Cela entraîne à la fois l'activation de la réponse au stress du RE (UPR-PERK), due à l'accumulation de protéines mal repliées, et la sécrétion des CALR mutants. Finalement, les mutants de CALR sécrétés vont activer la voie JAK2/STAT en se fixant à MPL sur sa partie extracellulaire (185) (186,190,191).

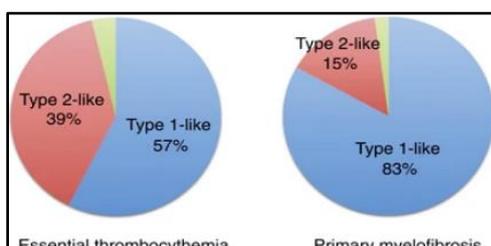


**Figure 63 : Mutation de CALR (Vainchenker et al., *Blood*, 2017)**

La calréticuline (CALR) est une protéine du réticulum endoplasmique (RE). Elle joue un rôle de protéine chaperonne et régulatrice du  $Ca^{2+}$  cytoplasmique. Lorsqu'elle est mutée dans l'exon 9, créant une nouvelle séquence dans le domaine C-terminal, cela entraîne la perte du motif KDEL, qui joue le rôle de rétention de la protéine CALR dans le RE.

En conséquence, les mutants de CALR seront chargés positivement, sécrétés, se fixeront sur le récepteur à la TPO (MPL) et activeront la voie JAK-STAT, ainsi que d'autres voies de signalisation intracellulaire (AKT, PI3K, ERK).

Les mutations de CALR comprennent plusieurs variants, parmi lesquels les types 1 (del52 : délétion de 52 paires de bases) et les types 2 (ins5 : insertion de 5 paires de bases) sont les plus fréquemment retrouvés dans la thrombocytémie essentielle et la myélofibrose (191).

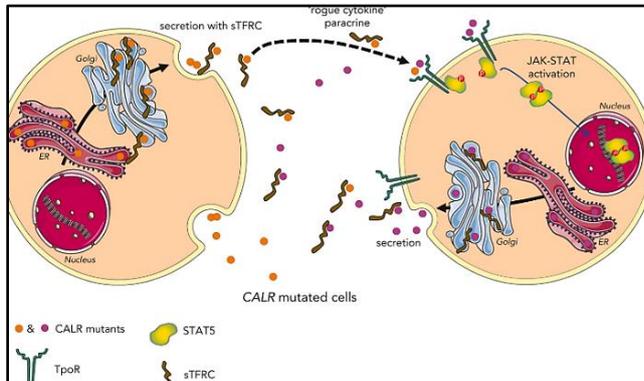


**Figure 64 : Fréquence des mutations de CALR dans la TE et la PV**

(Pietra et al., *Leukemia*, 2016)

Les principales mutations de CALR, de types 1 (del52) et de types 2 (ins5), concernent respectivement 57 % et 39 % des TE et 83 % et 15 % des MFP mutées CALR.

Il existe aussi un mécanisme d'auto-amplification paracrine des signaux d'activation de la voie JAK-STAT par les cellules mutées CALR, récemment décrit par Pecquet et al (2023) (188) . Il constitue une cible thérapeutique très intéressante, avec le développement de thérapies ciblées telles que les anticorps anti-CALR (INCA033989, Reis et al.) (192).



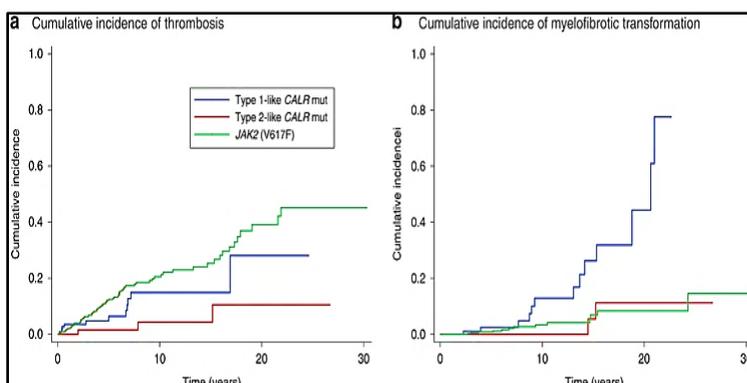
**Figure 65 : Mécanisme paracrine des cellules mutées CALR (Pecquet et al., *Blood*, 2023)**

Entre les CSPH mutées, les mutants de CALR (CALRm) sont sécrétés en complexe avec le récepteur soluble de la transferrine 1 (sTFRC) pour créer ainsi une communication intercellulaire.

Elles vont s'oligomériser sur le complexe membranaire CALRm-récepteur de TPO (MPL) déjà préformé, afin d'amplifier la signalisation de la voie JAK-STAT5 (188) .

L'étude *single-cell* de Benlabiod et al. (2024) est l'une des recherches les plus récentes sur le mécanisme moléculaire de CALR. Elle a démontré que les mutations de CALR entraînent à la fois une amplification de la voie de bypass mégacaryocytaire via les CSH vWF+ et une accélération de la différenciation mégacaryocytaire via les CSH vWF-. De plus, les CSH vWF+ porteuses de CALR muté présentent une activation plus importante de la voie de signalisation de réponse au stress du réticulum endoplasmique (eIF2 $\alpha$ -PERK-UPR) que les CSH vWF-. Cette voie est d'ailleurs plus activée dans le type 1 que dans le type 2, alors qu'elle est réprimée dans la forme sauvage (193).

Si Benlabiod et al. trouvent que la mutation CALR de type 1 donne une thrombocytose et une myélofibrose plus sévères chez la souris (194), chez l'homme, Pietra et al. indiquent que les patients atteints de thrombocytémie essentielle porteurs d'une mutation CALR de type 1 présentent un risque plus élevé de thrombose et de transformation myélofibrotique par rapport aux patients porteurs d'une mutation CALR de type 2 (195).



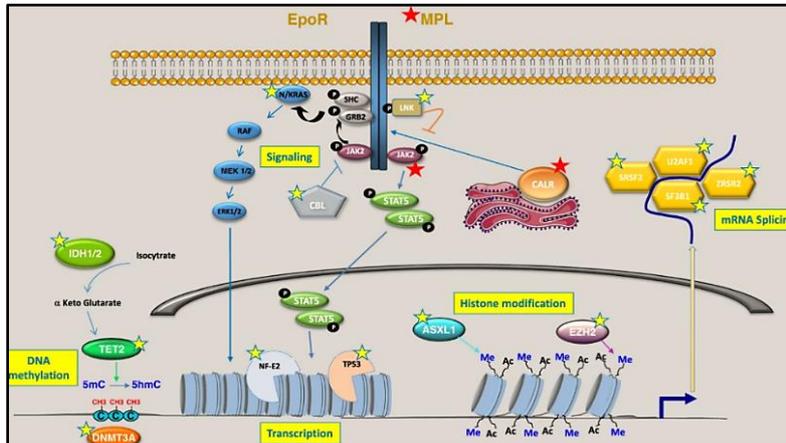
**Figure 66 : Thrombose et transformation fibrotique selon la mutation motrice dans la TE (Pietra et al, *Leukemia*, 2016)**

L'incidence cumulée sur 10 ans des thromboses est respectivement de 20,6 %, 14,9 % et 4,3 % chez les patients porteurs de la mutation JAK2-V617F, de la mutation CALR de type 1 et de la mutation CALR de type 2.

Les patients du groupe CALR de type 1 sont significativement plus à risque de myélofibrose (MF) par rapport au groupe CALR de type 2 et au groupe JAK2.

## V.2 Des mutations additionnelles, récurrentes impliquées dans les SMP phi-

Les mutations somatiques additionnelles ne sont pas directement responsables des SMP mais sont des modificateurs/régulateurs génétiques de la maladie, en coopérant avec les mutations motrices dans l'initiation, le développement et la progression de la maladie (177) (178) (179) (196,197).



**Figures 67: Mutations somatiques (motrices et additionnelles) impliquées dans les SMP (Maslah et al., *Leukemia*, 2023)**

Les mutations motrices et les mutations somatiques additionnelles coopèrent et participent ensemble aux mécanismes de la prolifération et de la différenciation des CSPH.

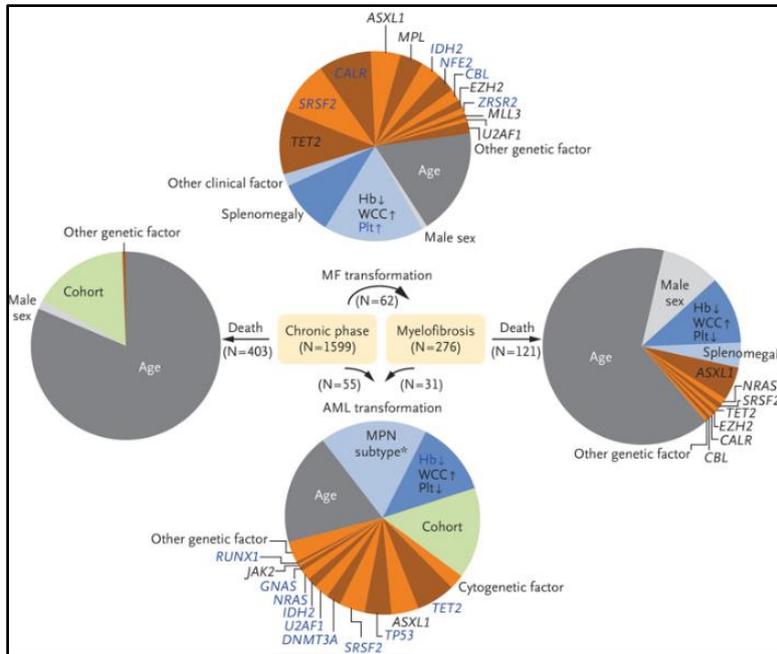
Elles sont à l'origine de la complexité et de l'hétérogénéité cliniques, cyto-phénotypiques et moléculaires des SMP.

### V.2.1 On peut classer ces mutations additionnelles dans 5 groupes

1. Autres voies de signalisations intracellulaires : NF1, NRAS, KRAS (Voie ERK/MAP) ; CBL, SH2B3 ou LNK (régulateurs négatifs de JAK 2).
2. Remodelage de la chromatine et modification des histones : ASXL1, EZH2.
3. Méthylation et déméthylation de l'ADN : DNMT3A, TET2, IDH1/2.
4. Facteurs de transcription : TP53, RUNX1, ETV6, IKZF1, NF-E2, CUX1.
5. Epissage de l'ARNm (Spliceosome) : SRSF2, U2AF1, SF3B1, ZRSR2.

Ces mutations ne sont pas spécifiques des SMP, car elles sont également retrouvées dans d'autres hémopathies. Elles contribuent à l'hétérogénéité et à la complexité cliniques et biomoléculaires des SMP. Certaines, comme *TET2*, *DNMT3A*, *EZH2* et *IDH1/2* (198) (199) (200) (201), sont impliquées dans la dominance clonale, l'initiation et l'accélération des SMP, tandis que d'autres, telles que *SF3B1* ou *U2AF1* induisent des phénomènes de dysplasie (100,178,202). D'ailleurs, la coopération entre le TP53 et JAK2 dans la progression leucémique est également mise en évidence par Rampal et al. (2014). L'étude démontre que les mutations de TP53 sont fréquemment observées dans les LAM secondaires aux SMP mutés JAK2 V617F, alors qu'elles sont rares en phase chronique. *In vivo*, l'expression de JAK2 V617F, combinée à la mutation TP53 dans un modèle murin, conduit à une transformation en LAM avec une pénétrance complète (203).

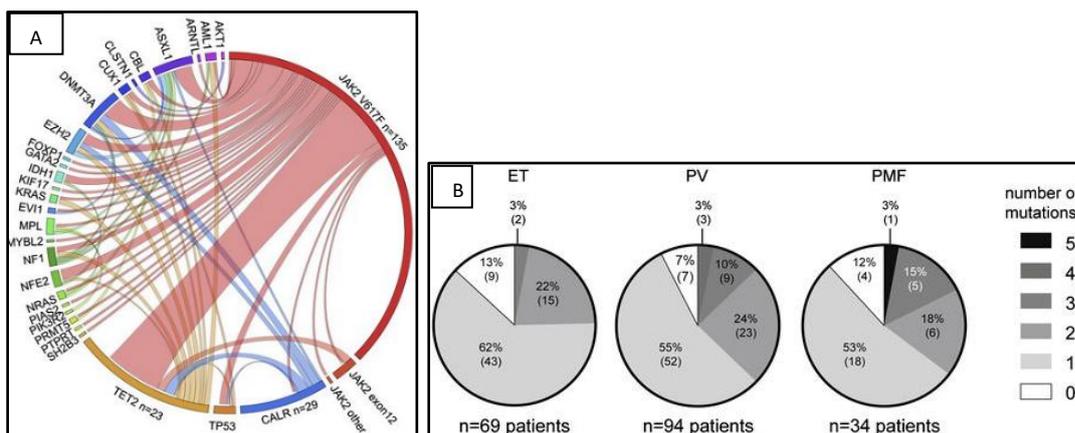
Les souris avec une perte de fonction de TP53 et un gain de fonction de JAK2 présentent un taux de progéniteurs MEP plus important que celles non mutées. Elles progressent toutes en LAM, avec une splénomégalie et une mortalité plus élevée.



**Figure 68 : Implication des mutations additionnelles dans la SMP (Grinfeld et al., NEJM, 2018)**

Selon Grinfeld et al, les mutations concernant les régulateurs épigénétiques, les facteurs d'épissage et la signalisation RAS sont associées à la transformation myélofibrotique et à la progression leucémique des SMP phi- (204).

Enfin, beaucoup d'entre elles impactent sur le pronostic (la survie et la transformation), comme les mutations de EZH2, ASXL1, SRSF2, IDH1 ou U2AF1, qui sont essentielles pour évaluer et stratifier le risque moléculaire de la MFP à l'aide des différents modèles pronostiques, dont MIPSS et GIPSS (165,169–171,177,179,204).



**Figure 69 : Répartition des mutations additionnelles des SMP (Lundberg et al., NEJM, 2014)**

A : Diagramme Circos montrant la cooccurrence des mutations motrice et additionnel des patient SMP phi-.

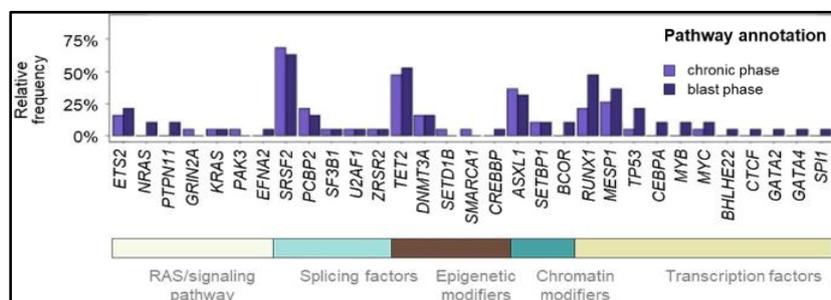
B : Répartition des mutations somatiques parmi les patients atteints de SMP phi-.

### V.2.2 Les mutations somatiques additionnelles sont aussi très fréquentes dans les SMP

(203) (168) (197) (190). Environ 33% des patients présentent au moins 2 mutations somatiques (motrices et/ou additionnelles) selon Lundberg et al. (2014) (180).

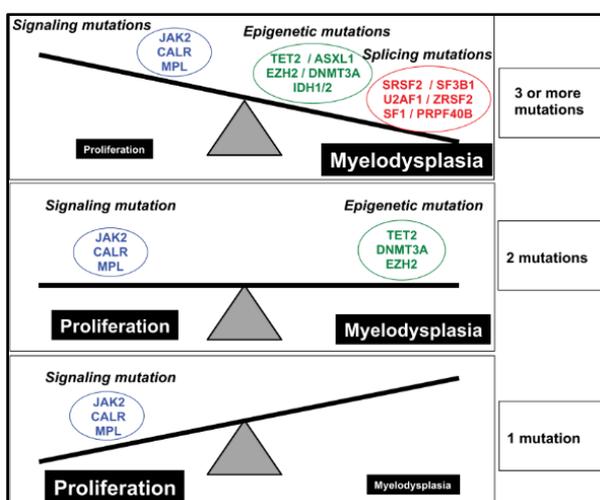
Selon Walter et al., durant la phase chronique des SMP, à côté de la prédominance de la mutation motrice JAK2 (89 %), les mutations additionnelles les plus fréquentes sont SRSF2 (68 %), suivie de TET2 (47 %), ASXL1 (26 %), RUNX1, DNMT3A et ZRSR2 (16 % chacun), ainsi que SETBP1 et IDH2 (11 % chacun). Chez les patients évoluant vers la phase blastique, la mutation SRSF2 devient prédominante, tout comme la mutation JAK2 (63 %). Les mutations RUNX1, ASXL1 et TP53 sont significativement plus fréquentes (47 %, 32 % et 21 %, respectivement). Tous les patients ayant évolué vers une leucémie présentent au moins une mutation affectant les facteurs de transcription, le spliceosome et/ou la modification de la chromatine. On observe également une augmentation des mutations impliquées dans la signalisation RAS (197).

**Figure 70 : Distribution des cinq groupes de mutations additionnelles dans la phase chronique et la phase blastique des SMP (Walter et al., *Leukemia*, 2024)**



### V.2.3 Le profil d'un SMP peut varier en fonction du nombre et du type de mutations

Tandis que les mutations de la voie JAK-STAT ont un effet prolifératif, les mutations additionnelles affectant les régulateurs épigénétiques et le spliceosome entraînent un défaut de maturation ou une dysplasie. Le profil sera plutôt myéloprolifératif en présence de très peu de mutations additionnelles, tandis qu'il sera plutôt myélodysplasique lorsqu'elles sont plus nombreuses. L'ensemble des mutations motrices et additionnelles agit conjointement sur l'équilibre entre myéloprolifération et myélodysplasie dans les SMP (178) (191).



**Figure 71 : Phénotype prolifératif et/ou myélodysplasique selon les mutations (Vainchenker et al., *Blood*, 2017)**

Le nombre de mutations somatiques peut influencer le phénotype des SMP :

L'acquisition de mutations supplémentaires dans les gènes impliqués dans l'épigénétique et l'épissage modifie la différenciation cellulaire et peut conduire à une myélodysplasie lorsqu'elles sont nombreuses ( $\geq 2$ ).

En revanche, en leur absence ou en présence d'un très faible nombre de ces mutations, un SMP avec une seule mutation motrice aura plutôt un profil myéloprolifératif.

### V.3 Facteurs de prédisposition génétique

Les facteurs de prédisposition génétique constituent un axe de recherche majeur pour comprendre l'initiation des SMP. À l'échelle populationnelle, ils augmentent le risque de développement de ces maladies.

Selon une étude cas-témoins de grande puissance menée au sein de la population danoise par Landgren et al. (2008), les patients ayant un antécédent familial de SMP au premier degré présentent un risque relatif 5 à 7 fois plus élevé de développer eux aussi un SMP (205).

Dans certaines formes familiales rares d'érythrocytose ou de thrombocytose, à transmission autosomique dominante (Kralovics et al. (206) et Bellanne-Chantelot et al. (207)), ou récessive, comme l'érythrocytose tchouvache due à une mutation de perte de fonction du gène *VHL* (Ang et al. (208) (209) Gordeuk et al. (210)), la pénétrance est très élevée, proche de 100 %.

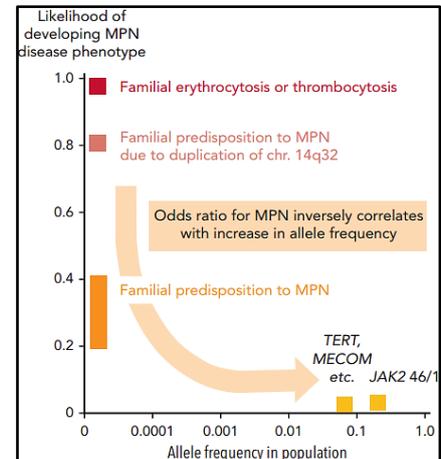
À l'inverse, de nombreuses mutations, telles que l'haplotype 46/1 de *JAK2*, *MECOM* et *TERT*, sont considérées comme des variantes ou des polymorphismes très fréquents dans la population générale. Leur effet de prédisposition génétique est relativement faible (211) (212) (213) (214).

**Figure 72 : La fréquence allélique est inversement corrélée à la pénétrance**

(Luque Paz et al., *Blood*, 2023)

Dans la population générale, les mutations germinales et les formes familiales autosomiques de SMP sont rares, mais leur pénétrance est souvent très élevée.

En revanche, certaines mutations, telles que l'haplotype 46/1 de *JAK2*, *MECOM* et *TERT*, sont considérées comme des polymorphismes. Bien que plus fréquentes, elles confèrent un effet de prédisposition plus faible (177).



À l'échelle de la population, les mutations germinales sont rares, ont une fréquence allélique faible, mais une forte pénétrance. On peut citer quelques études pionnières comme :

- La duplication germinale 14q32, qui conduit à la surexpression d'*ATG2B/GSKIP* (Saliba J et al.), est très rare et se retrouve principalement dans les formes familiales de SMP, avec une pénétrance très élevée. Cette mutation coopère avec les mutations motrices dans le développement des SMP, accélère la différenciation des progéniteurs et augmente la sensibilité des progéniteurs mégacaryocytaires à la TPO (215) (212).

- Harutyunyan et al. (2016) identifient la mutation germinale RBBP6 comme un facteur de prédisposition familiale. Il est probable que la mutation RBBP6 entraîne une augmentation des taux de mutagenèse somatique par inhibition de TP53 via l'ubiquitination. Une autre hypothèse est que les mutations de RBBP6 pourraient amplifier la signalisation JAK-STAT, créant ainsi un environnement favorable au développement des SMP (216).

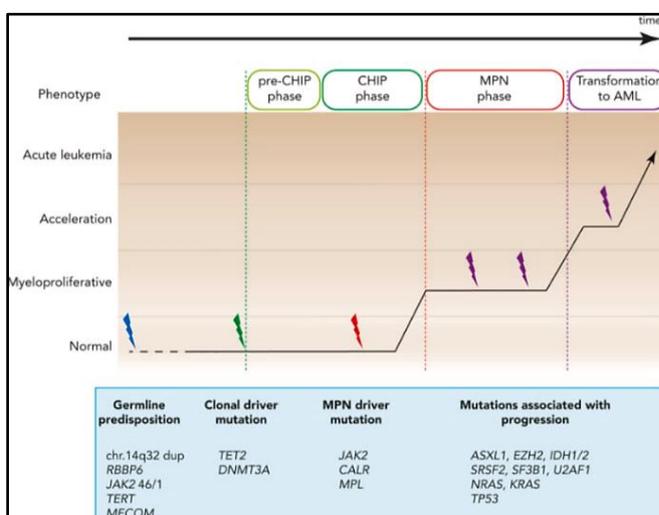
-L'étude française de Rabadan et al. (2022) a identifié la mutation gain de fonction EPOR P488S comme un facteur de prédisposition. Cette mutation, à elle seule, est capable d'induire une phosphorylation constitutive et d'activer la voie STAT (217).

## VI. Hématopoïèse des SMP : initiation et développement

### VI.1 SMP et hématopoïèse clonale

Du point de vue de l'hématopoïèse clonale, on peut décrire l'évolution naturelle des SMP comme un continuum de quatre phases successives :

1. Phase pré-CHIP
2. Phase CHIP (hématopoïèse clonale de signification indéterminée)
3. Phase chronique, où la maladie est diagnostiquée et caractérisée selon la classification de l'OMS 2022
4. Phase de transformation leucémique, qui peut être subdivisée en phase accélérée et en phase blastique, selon le pourcentage de blastes sanguins et médullaires.



**Figure 73 : Évolution clonale des SMP**

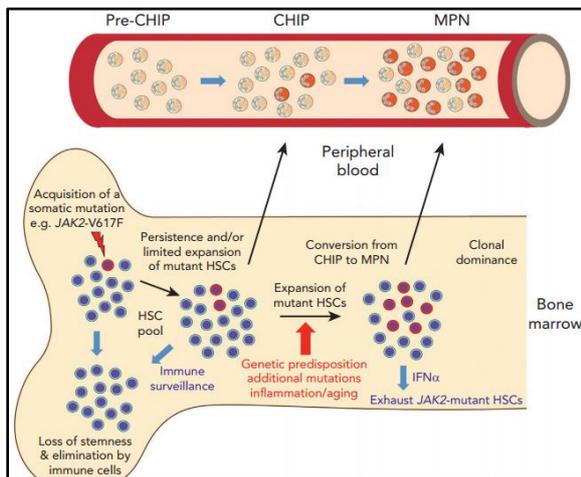
(Luque Paz et al., *Blood*, 2023)

L'évolution clonale des SMP est concomitante avec l'évolution cytologique définie par la classification de l'OMS :

- Lors de l'initiation de la maladie, les phases pré-CHIP et CHIP d'un SMP sont favorisées par des facteurs de prédisposition et l'acquisition de mutations somatiques motrices.

- Lors du passage en phase chronique, puis en phase d'accélération et en phase blastique, l'accumulation de mutations additionnelles et leur coopération sont à l'origine de la progression clonale et/ou de la transformation du SMP.

Dans la MO, l'acquisition d'une mutation motrice dans les CSH entraîne une phase pré-CHIP de la maladie. Ce processus est limité par le contrôle du système immunitaire. Le pool de CSPH mutées s'épuise spontanément en raison d'un faible potentiel ou d'une perte progressive de leur capacité de régénération. En conséquence, il n'y a pas d'expansion clonale détectable dans le sang ou la moelle osseuse, ni de traduction cytologique ou clinique chez ces patients (177). Lorsque le clone de CSH muté se développe, échappe au système immunitaire et conduit à une expansion clonale, cela marque la phase CHIP, avec une VAF du clone muté dépassant le seuil de 2 %, selon la classification de l'OMS 2022 (218). À ce stade, les techniques de biologie moléculaire permettent de détecter les mutations somatiques dans le sang périphérique à un très faible taux de VAF, sans que le patient ne développe un authentique SMP ou ne remplisse les critères diagnostiques de l'OMS 2022 (97).

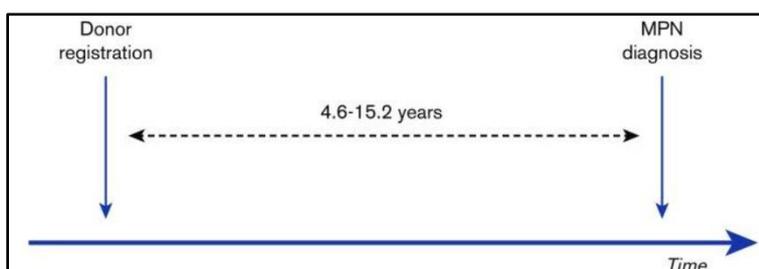


**Figure 74 : Hématopoïèse clonale des SMP** (Luque Paz et al., *Blood*, 2023)

L'échappement au contrôle du système immunitaire et/ou le gain d'un avantage en termes de survie et de prolifération des CSPH mutées sont à l'origine de l'expansion clonale et de la progression successive des différentes phases du SMP. La surveillance immunitaire, notamment via les cytokines effectrices comme l' $IFN\alpha$ , joue un rôle de défense en limitant la progression des clones de CSH mutés.

## VI.2 Apparition clonale et initiation de la maladie (SMP)

L'observation de McKerrell et al. montre que le temps médian d'évolution entre la détection de la mutation JAK2 V617F dans des dons de sang de patients et le développement d'un authentique SMP est d'environ 10,2 ans [4,6-15,2] (219).



**Figure 75 : Intervalle entre le don de sang et la découverte d'un SMP** (McKerrell et al., *Blood Advances*, 2017)

McKerrell et al. trouvent que l'intervalle entre le don de sang de 12 patients et le diagnostic d'un SMP est de 10,2 ans (médiane), avec un intervalle de 4,6 à 15,2 ans.

### VI.3 Hématopoïèse clonale des SMP, âge et facteurs de risques

La connaissance de l'hématopoïèse clonale s'est grandement développée durant l'année 2014 grâce à trois études majeures menées à l'échelle populationnelle (Jaiswal et al., Genovese et al., Xie et al.), qui décrivent la présence de mutations somatiques en analysant l'exome de l'ADN issu de sang périphérique des patients (220) (221) (222) (223).

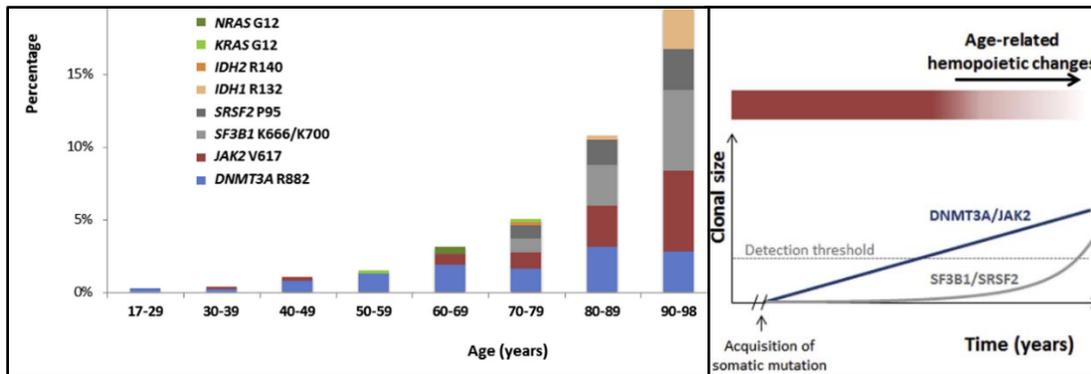


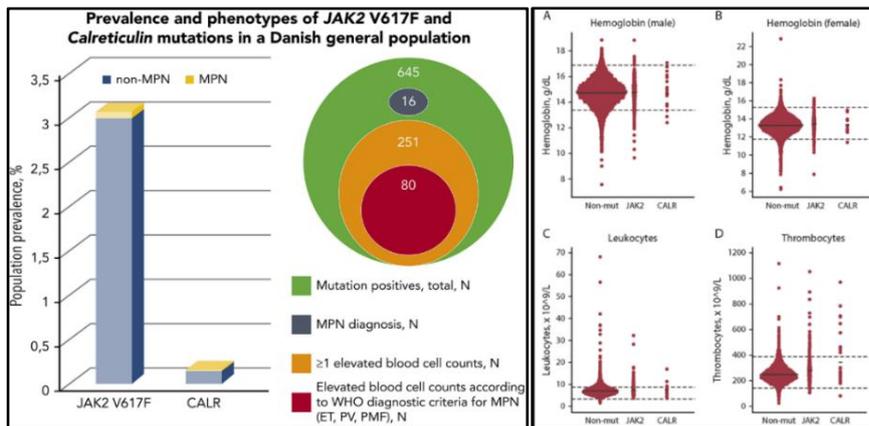
Figure 76 : L'hématopoïèse clonale augmente avec l'âge (McKerrell et al., Cell, 2015)

Selon McKerrell, l'incidence des mutations somatiques, dont DNMT3A et JAK2 augmente significativement avec le vieillissement.

Les mutations somatiques clonales dont JAK2 et DNMT3A augmente avec l'âge (220) (221) (222) (223) mais ils observent aussi que de nombreux sujets porteurs de ces mutations ne développent pas de maladie. Ils ne présentent aucune hémopathie, y compris un SMP, et sont considérés comme des CHIP par définition. Cela suggère que l'acquisition d'une mutation motrice peut apparaître tôt dans la vie d'un individu, mais qu'elle ne suffit pas toujours, à elle seule, pour déclencher la maladie.

Selon une étude de la population danoise réalisée en 2019 par Cordua et al., la prévalence des sujets porteurs de la mutation JAK2 V617F est de 3,1 %, soit une fréquence bien plus élevée que celle des sujets porteurs d'une mutation CALR (0,16 %). Même en l'absence d'un diagnostic de SMP phi-, l'étude a montré que les sujets porteurs d'une mutation motrice présentent une numération sanguine avec des taux d'hémoglobine (Hb), de plaquettes (PLQ) et de leucocytes plus élevés que les sujets non porteurs (224).

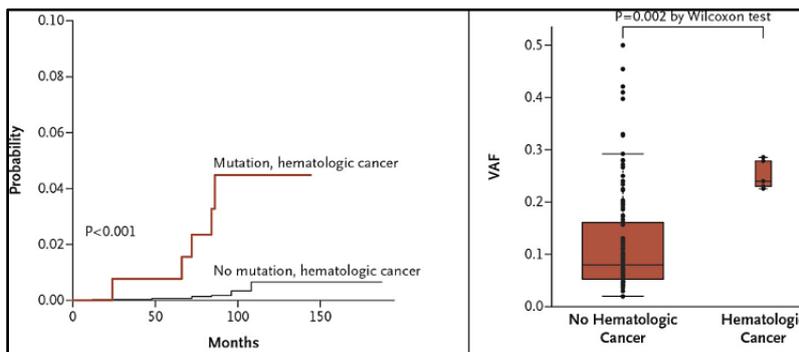
Si l'étude de Coombs et al. (2017) a mis en évidence une corrélation entre l'âge, le tabagisme, la radiothérapie et le développement d'une hématopoïèse clonale (225), Cordua et al. (2019) (224) ont identifié l'âge avancé, le tabagisme et l'alcoolisme comme des facteurs de risque associés à la présence de mutations de JAK2 et CALR.



**Figure 77 : Les mutations à l'échelle de la population danoise (Cordua et al., *Blood*, 2019)**

Cordua et al. montre qu'environ 3,2% des participants sont mutés (JAK2 V617F ou CALR) parmi 19 958 participants entre 2010 et 2013. Seulement 16 parmi 645 patients mutés (JAK2 ou CALR) sont diagnostiqués SMP et de très nombreux patients mutés n'ont pas de SMP (porteurs sains). Comparé aux sujets sains, les sujets porteurs sains ont leur numérations leucocytaires, plaquettaires et leur taux de Hb significativement plus élevés.

#### VI.4 La charge allélique est corrélée avec le statut SMP



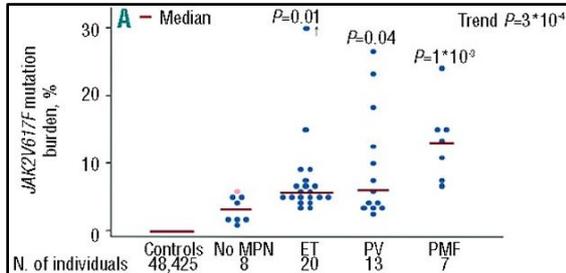
**Figure 78 : Risque hématologique en fonction du statut mutationnel et de la VAF (Jaiswal et al., *NEJM*, 2014)**

Jaiswal et al indiquent que les patients porteurs de mutations somatiques sont plus à risque de développer une hémopathie par rapport au sujet sans mutation. La VAF des mutations somatiques est aussi significativement plus élevée chez les patients mutés ayant une hémopathie maligne que les sujets porteurs sains.

Dans trois publications importantes (Jaiswal et al., Genovese et al., Coombs et al.), il est observé que les patients porteurs d'une mutation somatique ont un risque relatif (RR = 4-15) augmenté de développer une hémopathie maligne par rapport aux sujets normaux (222) (223) (225). L'augmentation du risque absolu, quant à elle, est plus faible, seulement de 0,5 à 1 %, ce qui est comparable au risque d'évolution des MGUS (225) .

Nielsen et al. (2014) suggèrent que la charge allélique JAK2 V617F peut jouer un rôle dans le développement des SMP. Cette étude, menée à l'échelle de la population générale de Copenhague, a indiqué un seuil à 2 %, qui pourrait être corrélé à la présence d'un SMP phi- au diagnostic. D'une part, elle montre que les patients JAK2 V617F mutés qui développent un SMP ont un taux plus élevé par rapport aux sujets non malades mutés et aux témoins. D'autre part, les patients qui développent un SMP lors du suivi voient leur VAF augmenter de 0,55 % par an (226).

Le seuil de 2 % de VAF de JAK2 V617F a été également interprété par Steensma et al. (218) et inclus dans la classification de l'OMS 2022 (97) : au seuil de 2 %, on considère la mutation JAK2 V617F comme un marqueur de CHIP, sauf en cas de présence de critères biocliniques associés, auquel cas le diagnostic de SMP doit être évoqué.



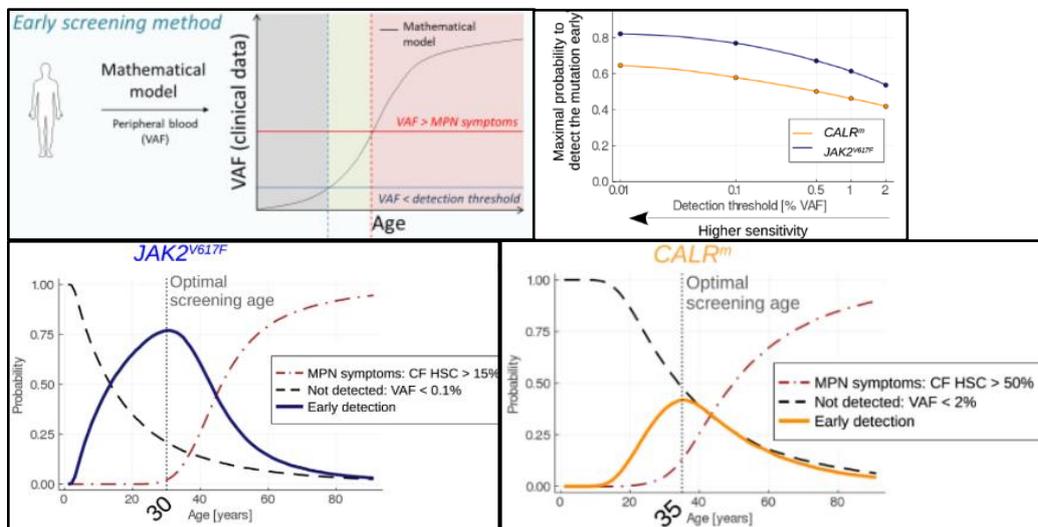
**Figure 79 : VAF JAK2 des patient SMP et non SMP**

(Nielsen et al, *Haematologica*, 2014)

Corrélation entre la VAF, le statut de malade versus non malade et la sévérité clinique démontré dans l'étude de population de Copenhague en 2014.

Comme Nielsen et al (226), de nombreuses autres études (Larsen et al., 2007 ; Passamonti et al., 2010 ; Alvarez-Larrán et al., 2014 ; Zhang et al., 2020 ; Soudet et al., 2022 ; Pasquer et al., 2024) montrent que la cinétique et la charge mutationnelle de JAK2 V617F sont significativement corrélées à la sévérité clinique ainsi qu'aux complications à court et long terme des SMP phi-. Une VAF élevée (supérieure à 50 %) est corrélée notamment à la splénomégalie, à la thrombose vasculaire et à la transformation en myélofibrose (119,227) (228) (229) (230) (231).

## VI.5 Optimisation de seuil du VAF des mutations motrices et l'âge de dépistage



**Figure 80 : Optimisation du dépistage en fonction du VAF et de l'âge (Hermange G, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2022)**

Lors de la démarche diagnostique biomoléculaire des SMP, une diminution du seuil de la VAF permet de détecter plus sensiblement les clones CALR ou JAK2 mutés. Selon le modèle mathématique de Hermange et al., l'âge optimal de dépistage précoce d'un SMP est estimé respectivement à 30 et 35 ans pour JAK2 V617F et CALR, respectivement (232).

## VI.6 L'architecture clonale des CSH des SMP est complexe et hétérogène

L'hétérogénéité clonale des SMP peut s'expliquer par le fait que les CSH peuvent acquérir des mutations de manière très variable et ainsi différentes architectures clonales (196) :

-Évolution linéaire : les mutations motrices apparaissent en premier, suivies de mutations additionnelles de manière séquentielle.

-Évolution dichotomique : la mutation motrice est acquise en premier, puis différentes branches émergent sous l'effet des mutations additionnelles. Alternativement, elle peut survenir dans un clone préexistant et dominant sous l'influence de mutations telles que *TET2*, *DNMT3A* ou des gènes du spliceosome, créant ainsi des architectures très distinctes.

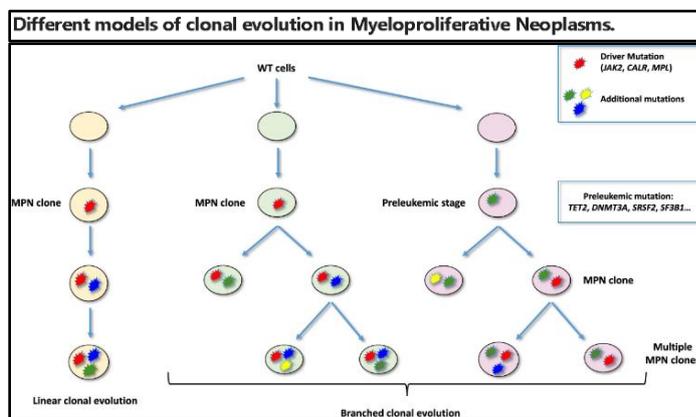


Figure 81 : Architecture clonal du SMP

(Maslah et al., *Leukemia*, 2023)

Les CSH peuvent acquérir les mutations motrices et additionnelles de manière différente.

La séquence d'acquisition des mutations et la cinétique de développement des clones sont à l'origine de la complexité de l'architecture clonale des SMP.

### VI.6.1 L'ordre des mutations joue un rôle important sur le phénotype des clones

La séquence d'acquisition des mutations durant l'évolution clonale peut impacter le phénotype des SMP. Chez les patients présentant la mutation de JAK2 avant celle de TET2, une PV a tendance à se développer, tandis que chez les patients dont la mutation de TET2 apparaît en premier, ils développent soit une PV, soit une TE. Ortmann et al. montrent également que la thrombose est plus fréquente et que la clonalité homozygote de JAK2 est plus marquée lorsque JAK2 est muté en premier. Enfin, le groupe avec JAK2 muté en premier est plus jeune (233).

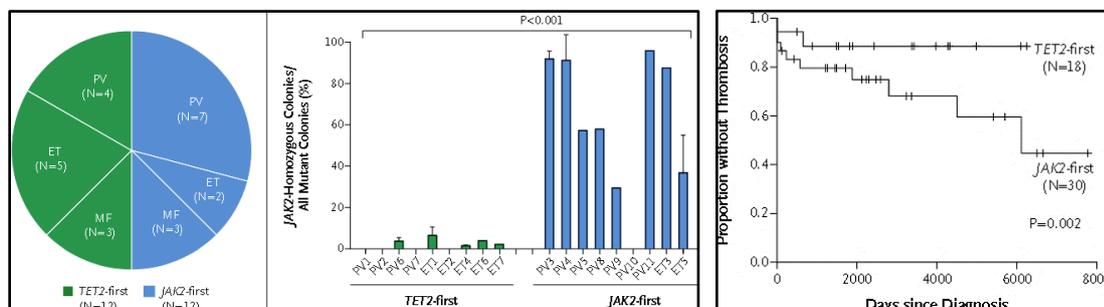


Figure 82 : Effet de l'ordre des mutations motrices et additionnelles et phénotype des SMP (Ortmann et al., *NEJM*, 2015)

Les patients porteurs d'une mutation de JAK2 initiale ont tendance à développer une PV, tandis que ceux présentant une mutation de TET2 avant JAK2 peuvent développer aussi bien une PV qu'une TE. Le risque de thrombose ainsi que l'homozygotie pour JAK2 sont significativement plus élevés chez les patients ayant acquis la mutation JAK2 en premier.

## VI.6.2 Evolution clonale et la transformation de la maladie

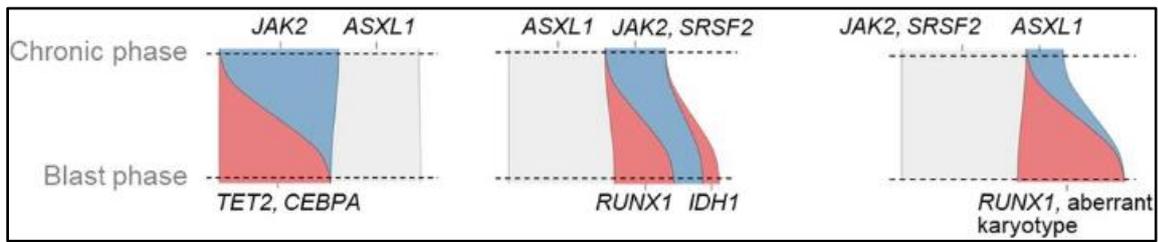


Figure 83 : Modèle de l'évolution clonale de la phase chronique à la phase blastique des SMP (Walter et al., *Nature*, 2024)

Lors du passage en phase blastique, on peut observer 3 situations d'évolution clonale : un clone muté JAK2 initial peut disparaître, diminuer ou se développer concomitamment à l'expansion des autres clones avec des mutations additionnelles.

Les études de Walter et al. (2024) concernant les profils génétiques des SMP montrent une évolution dynamique des différents clones concomitante avec la transformation leucémique. Lors du passage de la phase chronique en phase blastique, on note une diminution ou une perte de la prédominance du clone muté JAK2+, accompagnée de l'expansion progressive des clones avec des mutations additionnelles. Si certains patients conservent le clone porteur de la mutation motrice initiale, les autres présentent une diminution ou une disparition de celui-ci, accompagnée du développement d'autres clones (197).

## VI.6.3 Application de *Single-cell* et hématopoïèse et CSH et SMP

Depuis 20 ans, l'application de la technologie *single-cell* permet de progresser dans la connaissance des CSH et de l'hématopoïèse. Les études *single-cell*, utilisant différentes méthodes d'analyse à l'échelle cellulaire, permettent non seulement de caractériser l'hématopoïèse et l'ensemble des populations, y compris les CSPH, sur divers plans génétiques (génomique, épigénétique) et fonctionnels (CMF et protéomique), mais aussi d'étudier la phylogénie et de comprendre les mécanismes génétiques et thérapeutiques impliqués dans les SMP (42) (234) (235) (22) (41) (235) .

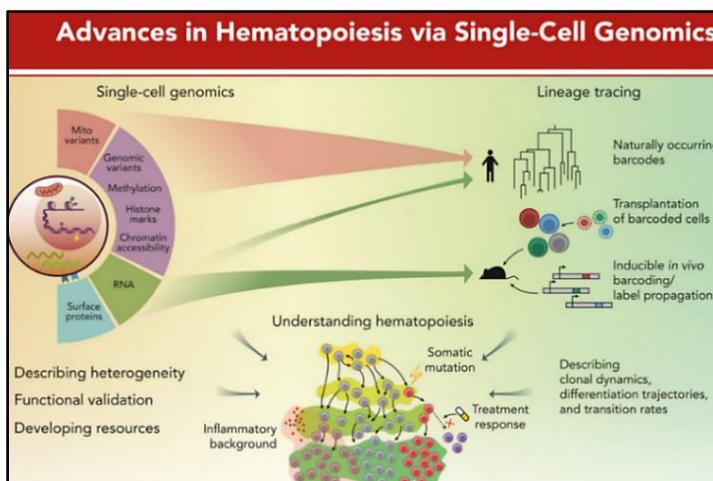


Figure 84 : Application de *single-cell* dans l'hématopoïèse (Safina et al., *Blood*, 2024)

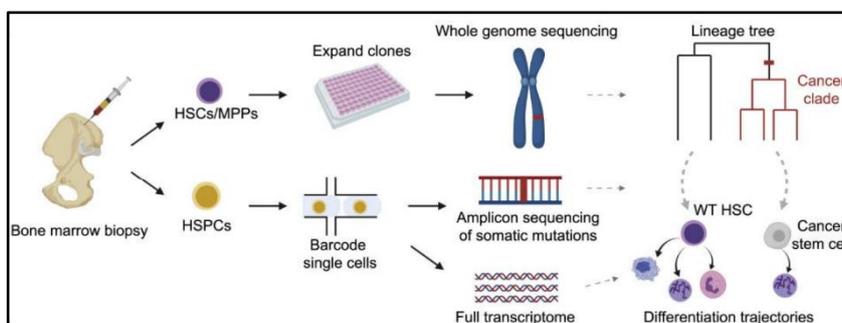
- Décrire l'hétérogénéité de l'hématopoïèse des SMP et l'environnement complexe de la MO.
- Comprendre l'hématopoïèse pathologique et les conditions pro-inflammatoires des SMP.
- Tracer et décrire les structures clonales et l'arbre phylogénique des SMP.
- Enfin, comprendre les mécanismes de réponse aux traitements.

#### V.6.4 La phylogénie et le *single-cell* pour identifier la 1ère mutation

Plusieurs modèles de recherche différents dont l'utilisation de techniques de *single-cell* ont été utilisés pour identifier la mutation initiatrice des SMP et pour construire l'arbre phylogénétique (la chronologie et la séquence d'acquisition des mutations par les clones).

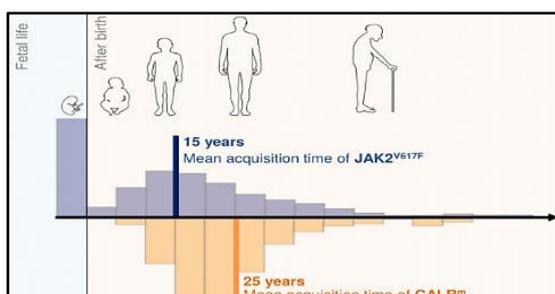
En s'appuyant sur des techniques *single-cell* combinée à des modèles d'estimation mathématique adaptés, il a été possible de construire l'architecture clonale au cours du développement du SMP pour chaque patient.

Fabre et al. (2022) trouvent que le temps entre l'acquisition de la première CSH mutée JAK2 V617F et le diagnostic est environ de 1 et 2 décennies pour la PV et la TE (236). Cette observation est donc similaire aux résultats obtenus dans l'étude de Van Egeren et al. (2021) (237), Williams et al. (2022) (238) et celle de Hermange et al. (2022) (232).



**Figure 85 : Etude de *single-cell* phylogénique permettant d'établir l'architecture clonale du SMP (Van Egeren et al., *Cell Stem Cell*, 2021)**

Combinaison plusieurs techniques de *single-cell* (cyto-phénotypique, transcriptomique, clonogénique) permettant la construction de l'arbre phylogénétique et de l'architecture clonale des SMP.



**Figure 86 : Estimation du temps d'acquisition des mutations motrices (Hermange et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2022)**

Hermange et al., (2022) montre que l'acquisition de la mutation motrice chez les patients SMP se fait à l'âge de 25 ans pour CALR et de 15 ans pour JAK2 V617F voir durant la vie fœtale (232).

Ces 4 études montrent une structure oligoclonale des CSPH au cours du développement des SMP. Le taux d'expansion clonale augmente avec l'apparition de mutations additionnelles (236) (238) (232).

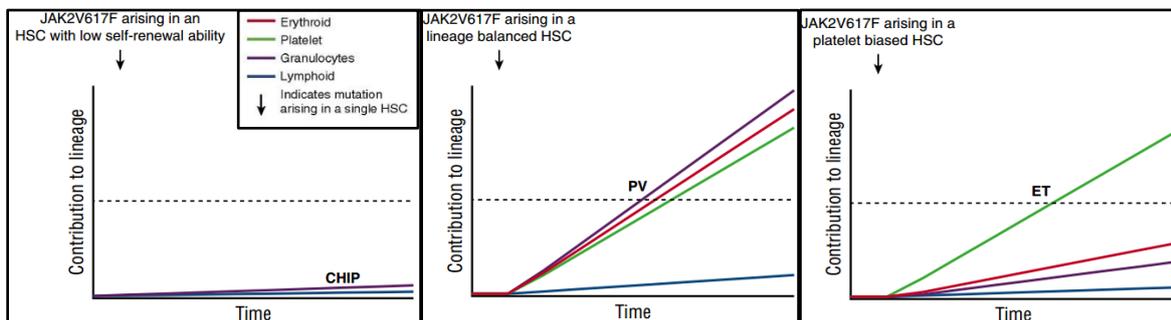
Ils indiquent aussi que les mutations somatiques des SMP peuvent survenir tôt dans la vie des individus. Williams et al. montrent que JAK2 V617F peut même apparaître dès le stade intra-utérin, avec un temps estimé entre 33 semaines d'aménorrhée (SA) et 10,8 ans (238).

## VI.7 Hétérogénéité de l'hématopoïèse des SMP

Dans la physiopathologie moléculaire des SMP, la présence d'une mutation motrice JAK2 V617F dans les CSH peut conduire à 3 présentations cliniques différentes (la PV, la TE et la MFP). Cela suggère que l'hétérogénéité des CSH participent à la variabilité phénotypique des SMP.

### VI.7.1 Hétérogénéité des CSH et initiation des SMP

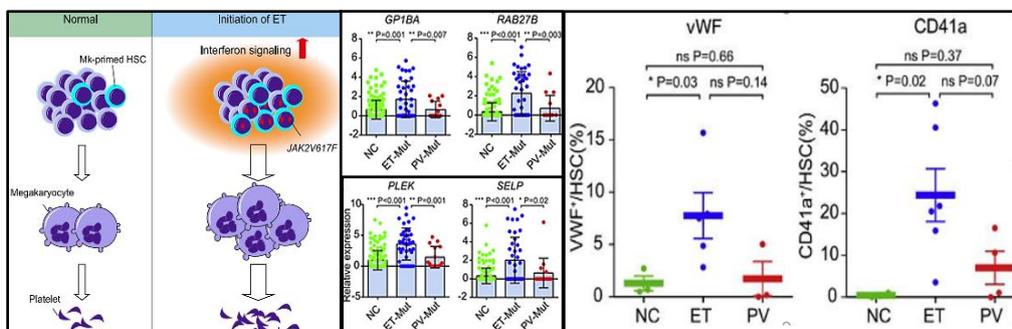
Le pool de CSH est très hétérogène, et les CSH n'ont ni le même potentiel ni la même capacité de renouvellement. Il est possible que l'acquisition d'une mutation chez une CSH à faible capacité de renouvellement conduise à une CHIP plutôt qu'à un authentique SMP (239).



**Figure 87 : Hétérogénéité des CSH dans l'initiation des SMP (Mead et al., Blood, 2017)**

L'hétérogénéité des CSH mutés JAK2 V617F est à l'origine de la variabilité phénotypique des SMP

Comme chaque CSH a son propre potentiel et son profil transcriptionnel de lignage, une CSH peut être préalablement orientée vers la lignée mégacaryocytaire avant la survenue d'une mutation motrice. L'acquisition d'une mutation telle que JAK2 V617F dans ces CSH conduirait plus probablement à un phénotype de TE, tandis que les autres CSH avec un profil de lignage équilibré sur différentes lignées pourraient, lorsqu'elles sont mutées, développer différents phénotypes (173)(174). En effet, les analyses en *single-cell* de Tong et al. (2021) montre que les CSH primées mégacaryocytaire sont plus nombreuses dans la TE que dans la PV et chez les sujets témoins, indiquant un biais de lignage mégacaryocytaire plus précoce dans la TE (240).



**Figure 88 : Expression phénotypique et moléculaire mégacaryocytaire des CSPH dans la TE (Tong et al., Cell Stem Cell, 2021)**

Les CSH à potentiel mégacaryocytaire (démonstré par les analyses en *single-cell*) sont plus nombreuses chez les patients atteints de TE mutés JAK2 V617F que chez les patients atteints de PV, ainsi que dans le groupe contrôle (vWF et CD41a : Marqueur mégacaryocytaire. PLEK, SELP, GP1BA, RAB37B : gènes associés au potentiel mégacaryocytaire).

## VI.7.2 By-pass mégacaryocytaire dans l'architecture de l'hématopoïèse de la TE et MFP

### VI.7.2.1 Architecture de l'hématopoïèse de la TE

Sous l'angle de vu du modèle de l'hématopoïèse avec le by-pass mégacaryocytaire, Miyawaki et al. ont identifié que les CMP CD41+ sont des progéniteurs primitifs unipotents mégacaryocytaires (MegP) parmi les CMP CD34+CD38+ (53).

Les auteurs ont montré que les patients TE JAK2 mutés présentent un taux de MegP significativement plus élevé comparé aux sujets témoins. Et ils observent que la VAF JAK2 V617F est basse dans les CSH, puis augmente progressivement entre les CSH et les progéniteurs, avec la VAF la plus élevée dans les MegP.

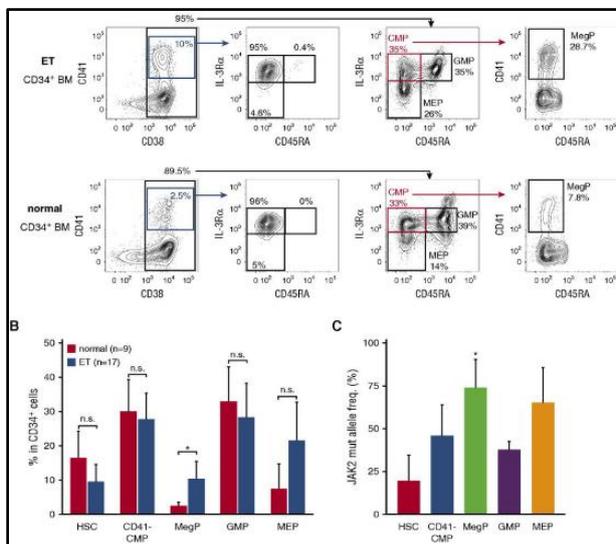


Figure 89 : Hématopoïèse de la TE

(Miyawaki et al., *Blood*, 2017)

Les MegP sont significativement augmentés chez les patients TE par rapport aux sujets normaux. Les progéniteurs communs MEP sont aussi observés en plus grand nombre, mais il n'y a pas de différence statistique par rapport aux témoins. Durant la mégacaryopoïèse, la VAF de V617F est augmentée selon un gradient depuis les CSH jusqu'aux progéniteurs possédant le potentiel mégacaryocytaire (MegP et MEP), avec la VAF la plus élevée chez les MegP.

Ces deux arguments de l'étude suggèrent donc une expansion importante des MegP et des MEP, constituant une preuve indirecte de l'amplification et du lignage mégacaryocytaire précoce des CSH mutées JAK2 V617F dans l'hématopoïèse de la TE.

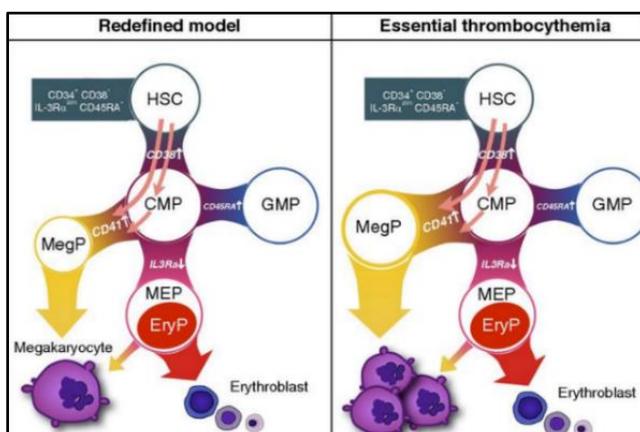


Figure 90 : Architecture de l'hématopoïèse de la TE

(Miyawaki et al., *Blood*, 2017)

Dans l'hématopoïèse de la TE, la mégacaryopoïèse est engagée de manière très précoce, avec l'amplification de la voie by-pass mégacaryocytaire via les CMP CD41+ (MegP). Cette voie coexiste avec la voie de différenciation érythro-mégacaryocytaire classique via les MEP et participe aux mécanismes de la thrombocytose de la TE.

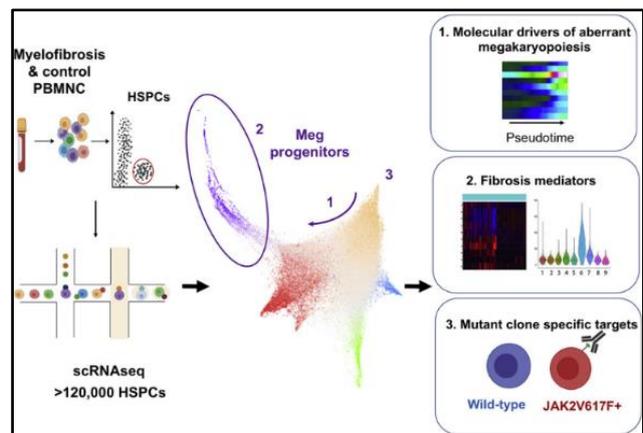
### VI.7.2.2 Architecture de l'hématopoïèse de la myélofibrose

À l'instar du modèle d'architecture de l'hématopoïèse décrit dans la TE par Miyawaki et al., une observation similaire a été faite dans la MFP avec l'étude *single-cell* de Psaila et al. (2020) (241), analysant le sang d'aphérèse de donneurs et le sang périphérique de patients atteints de MFP.

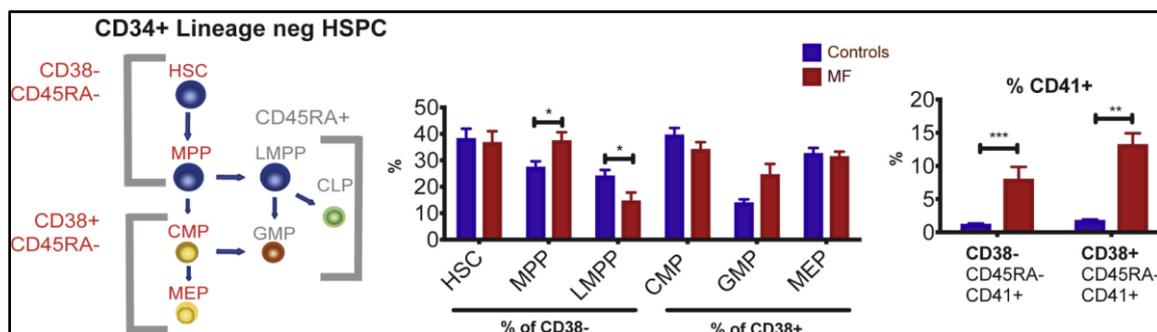
Les résultats de l'analyse cytométrique des lignages des CSPH ( $CD34^+CD38^-$ ) montrent un biais vers la myélopoïèse, et notamment vers la mégacaryopoïèse, au détriment de la lymphopoïèse dans l'architecture hématopoïétique des patients atteints de MFP muté JAK2V617F.

**Figure 91 : Étude *single-cell* de l'hématopoïèse concernant la MFP (Psaila et al., *Molecular Cell*, 2020)**

La reconstruction du lignage hématopoïétique de la MFP par *single-cell* révèle un biais vers une voie d'engagement mégacaryocytaire précoce, une forte expression des gènes impliqués dans la fibrose, ainsi que l'identification de marqueurs aberrants dans les CSPH mutées JAK2 V617F.

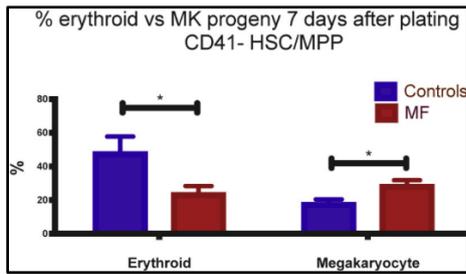


Comparé aux sujets sains, le taux de MPP ainsi que des CSPH exprimant le marqueur mégacaryocytaire ( $CD41^+$ ) est significativement plus élevé, tandis que le taux de LMPP est plus faible. Chez les patients avec MFP, le potentiel mégacaryocytaire des CSPH  $CD41^-$  est également plus important *in vitro* alors que leur potentiel érythroïde est significativement réduit.



**Figure 92 : Comparaison de la répartition des CSPH chez les patients atteints de MFP et les sujets sains (Psaila et al., *Molecular Cell*, 2020)**

L'analyse *single-cell* par CMF montre une réduction significative des LMPP et une augmentation des MPP, concomitante à un biais vers un potentiel mégacaryocytaire chez les patients atteints de MFP (avec une majoration de l'expression de  $CD41^+$  par les CSPH  $CD34^+$ ).

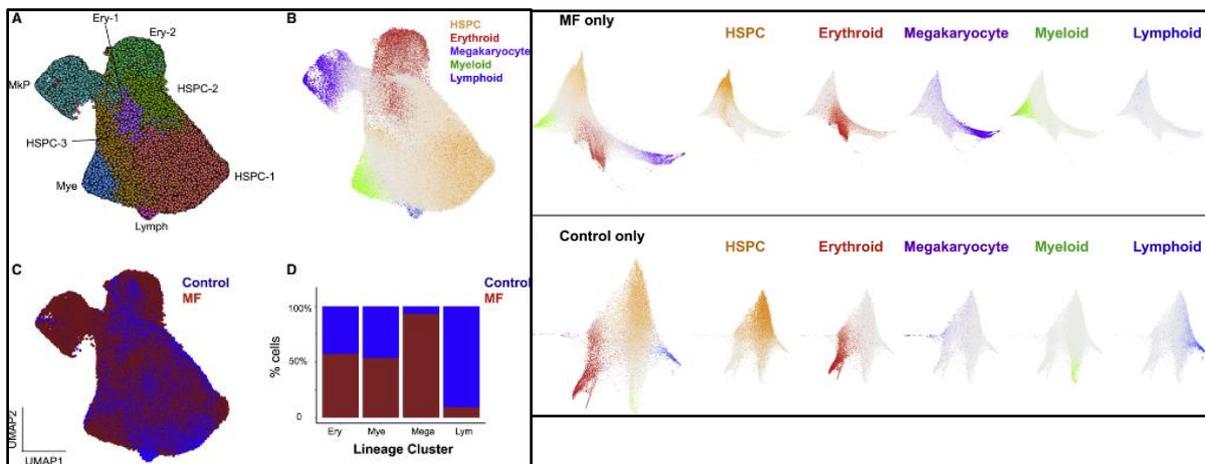


**Figure 93 : Culture clonogénique des différentes CSPH CD41<sup>-</sup>**

(Psaila et al., *Molecular Cell*, 2020)

Comparée aux donneurs sains, le potentiel mégacaryocytaire est significativement plus élevé, tandis que le potentiel érythroïde est réduit chez les CSPH CD34<sup>+</sup>CD41<sup>-</sup> dans la MFP.

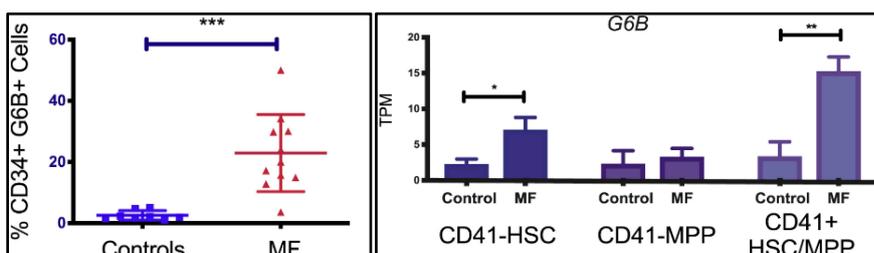
Par ailleurs, l'analyse *single-cell* transcriptomique révèle que le profil génétique des CSPH (transcriptional lineage priming) orienté vers la lignée mégacaryocytaire est majoré, alors que celui des cellules exprimant un potentiel lymphocytaire est plus faible.



**Figure 94 : Architecture de l'hématopoïèse analysée *single-cell* transcriptomique des CSPH chez les patients atteints de MFP** (Psaila et al., *Molecular Cell*, 2020)

L'analyse *single-cell* transcriptomique révèle une expression majeure des gènes associés au lignage mégacaryocytaire et une trajectoire de différenciation mégacaryocytaire accrue chez les patients atteints de MFP, comparativement aux sujets témoins.

Enfin, les CSPH mutées JAK2 V617F de MFP expriment génétiquement et phénotypiquement plus fortement le G6B de la lignée mégacaryocytaire. Parmi plusieurs gènes associés au lignage mégacaryocytaire (ITGA2B, VWF, SELP, G6B), seul G6B est démontré comme significativement plus exprimé. Cela suggère que G6B peut être une nouvelle cible thérapeutique potentielle dans la recherche de traitements pour la MFP.



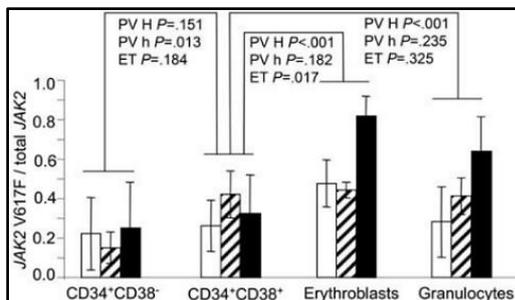
**Figure 95 : Expression phénotypique et transcriptionnelle de G6B des CSPH CD34<sup>+</sup> CD41<sup>+</sup> et CD41<sup>-</sup> dans la MFP** (Psaila et al., *Molecular Cell*, 2020)

L'analyse *single cell* CMF et transcriptomique montre l'expression plus marquée de G6B dans les CD34<sup>+</sup>.

### VI.7.3 Caractérisation phénotypique et clonale de l'hématopoïèse des SMP

Comme les CSPH de l'hématopoïèse physiologique (242) et de celles des LAM (243), les CSH et les progéniteurs immatures des SMP résident aussi dans les fractions CD34+CD38- et CD34+CD38+ des CD34+ (244) (245).

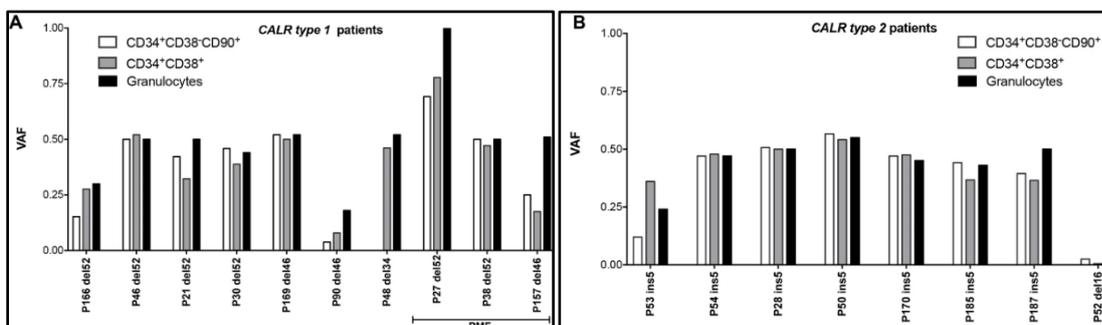
En étudiant l'hématopoïèse et le compartiment CSPH des SMP phi-, les 3 études (Dupont et al. 2007 (181), Angona et al., 2016 (246), El-Khoury et al. 2020 (247)) et ont mise en évidence qu'au cours de la myélopoïèse, l'effet de clonalité est très différent selon la mutation motrice acquise (CALR versus JAK2) dans les SMP phi-. La mutation JAK2 V617F a été démontrée dans les études fonctionnelles des CSPH humaines de Dupont et al. comme ayant un effet clonal faible au niveau du compartiment immature CSPH. Elle présente en revanche un effet clonal plus tardif au niveau des précurseurs et des cellules matures au cours de la différenciation myéloïde (181). De plus, ce gradient de JAK2 V617F (CSH < GMP < progéniteurs mégacaryocytaires et érythrocytaires) a également été observé de manière similaire dans l'étude *single-cell* de Van Egeren et al (237). Cela montre que la mutation JAK2 V617F peut induire un biais de différenciation érythro-mégacaryocytaire dans l'hématopoïèse des SMP.



**Figure 96 : Effet clonal de JAK2 V617F au cours de la différenciation des CSPH (Dupont et al., *Blood*, 2007)**

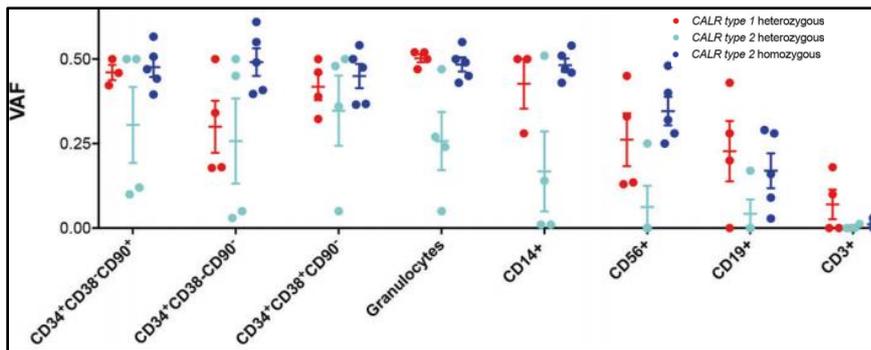
La VAF de JAK2 V617F est plus basse dans les CSH et les progéniteurs dans la PV et la TE. Elle augmente au cours de la granulopoïèse et de l'érythropoïèse. Elle est significativement plus élevée dans les granulocytes et les érythroblastes.

À la différence de la mutation JAK2 V617F, les deux types de mutations de CALR confèrent un avantage clonal plus important au compartiment des CSPH CD34+CD38-, qui se propage ensuite aux autres lignées myéloïde (247) .



**Figure 97 : Effet clonal des mutations CALR sur l'hématopoïèse des SMP (El-Khoury et al., *Oncogene*, 2020)**

Dans l'étude de El-Khoury et al., la VAF de la mutation CALR est comparable dans les trois compartiments (les CSH CD34+CD38-, les progéniteurs CD34+CD38+ et les granulocytes) pour les deux types de mutation de CALR.



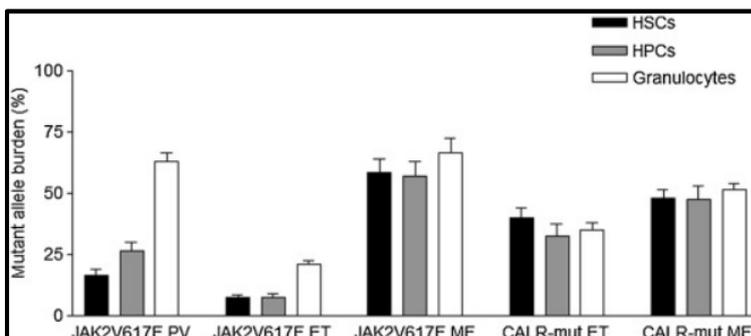
**Figure 98 : Effet de la clonalité des 2 types de mutation CALR (El-Khoury et al., *Oncogene*, 2020)**

Les patients mutés CALR de type 1 hétérozygotes présentent des VAF similaires à celles des patients homozygotes CALR de type 2 dans les CSPH et les cellules différenciées. En revanche, les patients hétérozygotes CALR de type 2 présentent une VAF similaire à celle des deux autres groupes dans les progéniteurs, mais des VAF significativement plus faibles dans les cellules différenciées.

Angona et al. (2016) montrent que la clonalité varie en fonction de la mutation motrice acquise (JAK2 V617F versus CALR) au cours de la phase chronique de la TE et de la PV (246).

Chez les patients atteints de TE, la VAF des patients porteurs de la mutation CALR est significativement plus élevée que celle des patients JAK2 V617F au cours de la granulopoïèse. Dans le compartiment des CSPH, la charge allélique des patients mutés CALR est également significativement plus élevée que celle des patients mutés JAK2 (CSH : 39,9 % vs 7,5 %,  $p < 0,001$  ; CPH : 32,7 % vs 7,7 %,  $p < 0,001$ ). En comparaison avec les patients atteints de MF, la VAF CALR des patients atteints de TE est similaire à celle observée chez les patients atteints de MF dans les CSPH et les granulocytes.

Concernant l'effet de JAK2 V617F sur l'hématopoïèse des trois SMP, son effet clonal est plus marqué sur la myélopoïèse dans la PV que dans la TE, aussi bien dans les compartiments immatures que dans les cellules matures. Angona et al. ont également observé que la charge allélique JAK2 V617F est plus élevée dans les CSPH des patients atteints de MF par rapport à celles des patients atteints de TE et de PV.

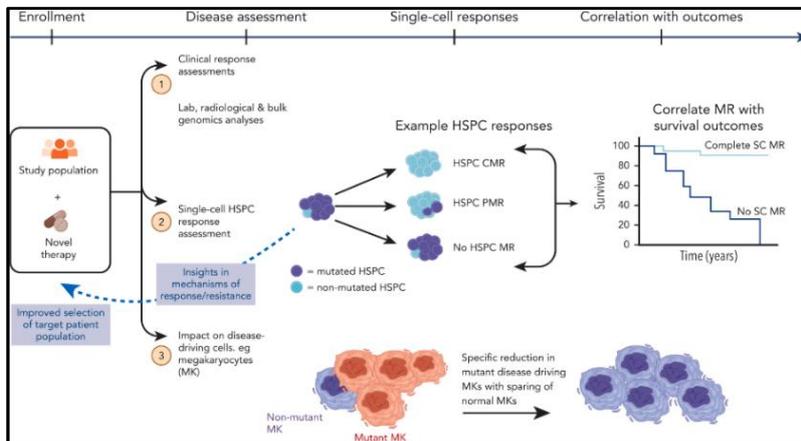


**Figure 99 : Caractérisation moléculaire au cours de la myélopoïèse des SMP (Angona et al., *Leukemia*, 2016)**

L'effet de clonalité de la mutation CALR sur l'hématopoïèse est comparable entre la TE et la MF. Il est toutefois significativement plus important que celui de la mutation JAK2 dans la TE.

## VI.8 Single-cell et mécanisme thérapeutique des SMP phi-

L'application des techniques d'analyse *single-cell* est actuellement l'un des moyens les plus efficaces pour évaluer et comprendre les mécanismes de réponse thérapeutique, ainsi que pour étudier l'hématopoïèse des SMP (235).

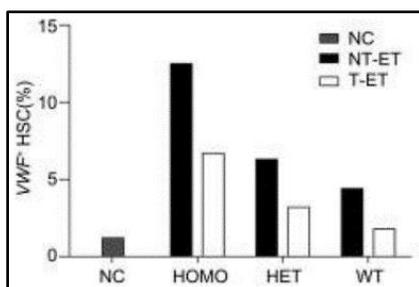


**Figure 100 : Application de l'analyse *single-cell* dans la réponse thérapeutique des SMP (O'Sullivan., *Blood*, 2023)**

Lors d'essais thérapeutiques, les techniques d'analyse *single-cell* permettent d'étudier les CSPH et l'hématopoïèse des SMP sous différents aspects (génomique, phénotypique, fonctionnel), dans le but d'évaluer et de comprendre les mécanismes de la réponse thérapeutique (235).

### V.8.1 La réponse à l'interféron des SMP

Tong et al. (2021) indique que, sous l'effet de l'IFN- $\alpha$ , le clone de CSH JAK2 V617F primé MK est significativement réduit chez les patients atteints de TE traités, par rapport aux patients non traités, en particulier chez les patients homozygotes (240).

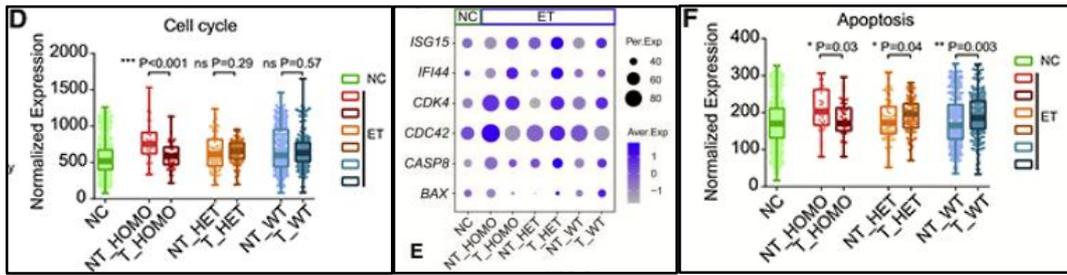


**Figure 101 : Réponse à l'IFN dans la TE mutée JAK2 V617F**

(Tong et al, *Cell Stem Cell* 2021)

L'analyse *single-cell* montre une réduction significative des CSH à potentiel mégacaryocytaire chez les patients atteints de TE avec la mutation JAK2 V617F. Cette réduction est d'autant plus marquée chez les patients homozygotes.

Avec les résultats de l'analyse *single-cell*, l'auteur constate un mécanisme de réponse à l'IFN- $\alpha$  chez les patients atteints de TE traités. Il est probable qu'une augmentation des mécanismes d'apoptose, ainsi qu'une mise en quiescence des CSH chez les patients JAK2 hétérozygotes, soient à l'origine de la diminution du taux de CSH primées MK chez les patients traités par IFN- $\alpha$ .



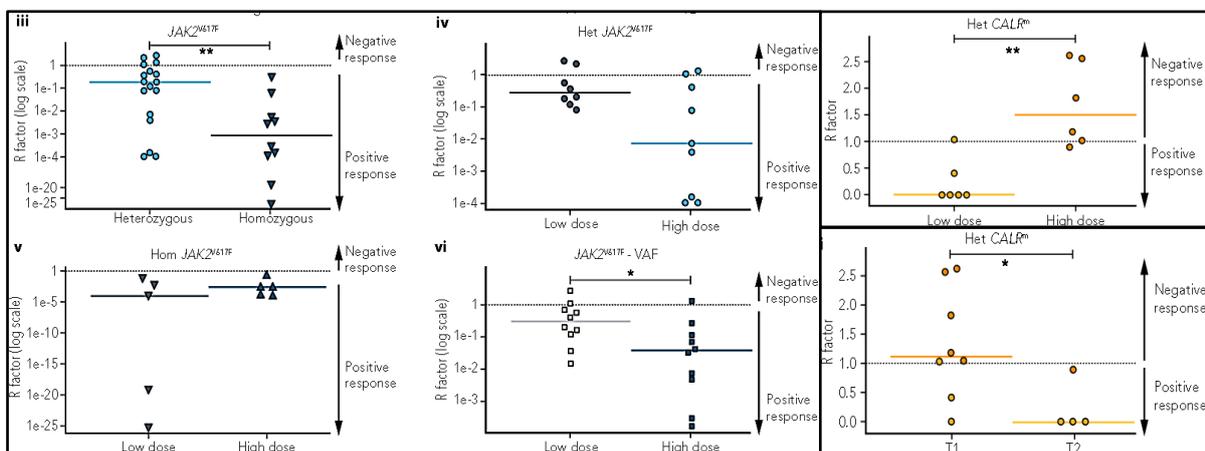
**Figure 102 : Réponse à l'IFN, apoptose et cycle cellulaire chez les patients TE traités (Tong et al, Cell Stem Cell, 2021)**

L'analyse *single-cell* transcriptomique révèle que les gènes impliqués dans l'apoptose et ceux liés à la signalisation cellulaire de l'IFN sont surexprimés chez les patients atteints de TE sous traitement par IFN, par rapport aux patients non traités. Concernant les gènes du cycle cellulaire, leur expression est significativement réprimée chez les patients TE homozygotes pour la mutation JAK2 V617F sous traitement, tandis qu'aucune différence n'est observée chez les patients hétérozygotes et les variants de JAK2. (ISG15, IFI44 : gènes de signalisation cellulaire pour l'IFN ; CASP8, BAX : gènes impliqués dans l'apoptose ; CDK4, CDC42 : gènes impliqués dans le cycle cellulaire).

### V.8.2 La réponse des SMP à l'IFN dépend de la mutation motrice et de la dose administrée

L'étude de cohorte de suivi longitudinal menée par Mosca et al. en 2021 sur les SMP et le traitement par IFN apporte des éléments clés sur l'efficacité et les mécanismes de réponse à ce traitement (248). On observe un meilleur taux de réponse au traitement chez les patients JAK2 homozygotes par rapport aux hétérozygotes, ainsi que chez les patients porteurs de la mutation CALR de type 2 par rapport à ceux ayant la mutation CALR de type 1. Sous IFN à haute dose, la VAF diminue chez la plupart des patients mutés JAK2. La réponse est également meilleure chez les patients JAK2 hétérozygotes, mais aucune différence significative n'est observée en fonction de la dose chez les patients JAK2 homozygotes. À l'inverse, une forte dose d'IFN entraîne une réponse moins favorable chez les patients mutés CALR. Par conséquent, on peut supposer qu'un traitement à base d'IFN à faible dose devrait être privilégié chez les patients CALR de type 2 et JAK2 homozygotes, tandis qu'une dose élevée pourrait améliorer la réponse chez les patients JAK2 hétérozygotes.

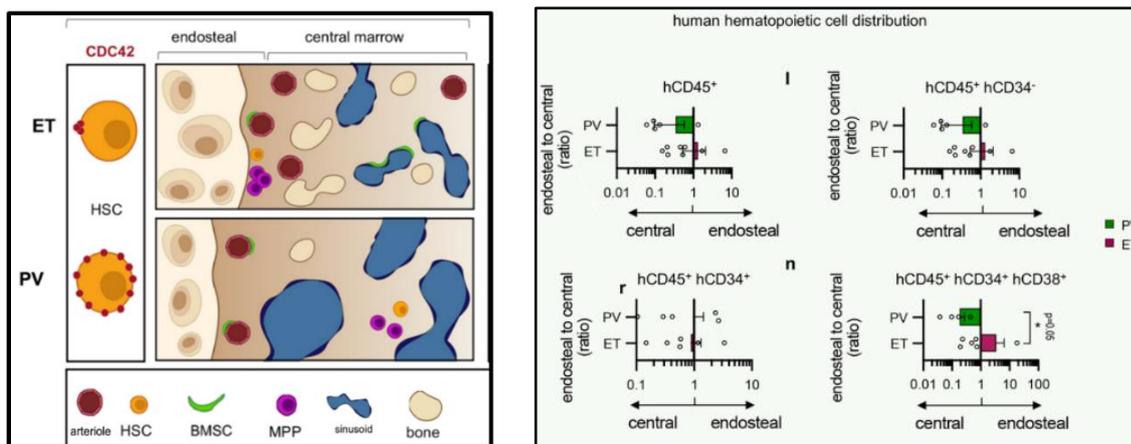
**Figure 103 : Réponse à l'IFN en fonction des mutations motrices et de la zygote (Mosca et al., Blood, 2021)**



## VI.9 Le microenvironnement pro-inflammatoire et l'hématopoïèse de SMP

### VI.9.1 Le microenvironnement médullaire et les CSH de SMP

Si les facteurs extrinsèques de l'hétérogénéité des CSH, tels que le microenvironnement médullaire, jouent un rôle essentiel dans l'hématopoïèse physiologique, leur implication dans l'hématopoïèse pathologique est également questionnée dans les SMP. Grockowiak et al. (2023) ont trouvé que la répartition des CSH dans la moelle osseuse diffère significativement entre les patients atteints de TE et de PV mutés JAK2 V617F. Tandis que les CSH de la TE se rapprochent des artérioles et des capillaires endostéaux, celles de la PV s'éloignent des travées osseuses et des artérioles pour se retrouver plus fréquemment dans les espaces périsinusaux, au centre de la moelle osseuse. Les capillaires sinusoides sont également plus dilatés dans la PV que dans la TE. Cette différence peut s'expliquer par l'expression polaire de la protéine CDC42, impliquée dans la régulation du cytosquelette, la mobilité, la migration et l'adhésion cellulaire. Elle est plus marquée chez les CSH de TE, alors que la polarité de CDC42 est perdue pour les CSH des patients atteints de PV (249).



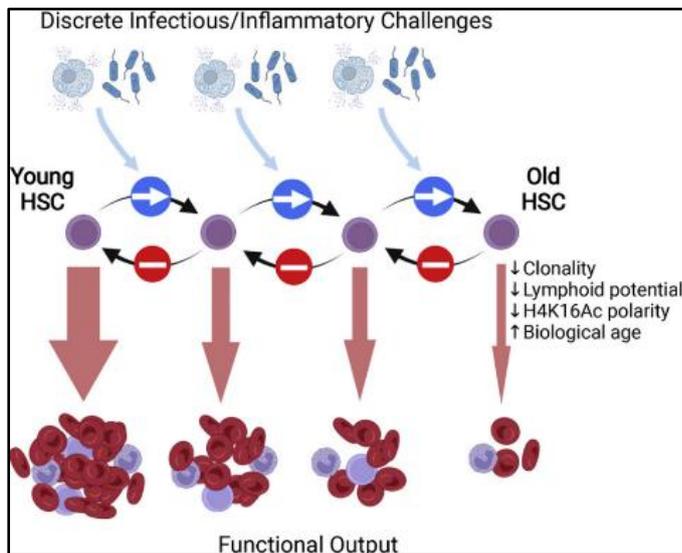
**Figure 104 : Répartition des CSH dans la moelle osseuse dans la TE et la PV (Grockowiak et al., Nature, 2023)**

En comparaison avec la TE : les CSH de la PV se retrouvent souvent proches des capillaires sinusoides et s'éloignent des artérioles et de la membrane endo-osseuse. À l'inverse, les CSH de la TE se retrouvent proches de la zone endostéale et des artérioles, et loin des capillaires sinusoides. Cela peut s'expliquer par la différence d'expression polaire de CDC42 entre les CSH de la PV et celles de la TE.

### VI.9.2 La condition inflammatoire et l'hématopoïèse de SMP

L'exposition à des conditions inflammatoires entraîne une altération du potentiel souche, une diminution de la capacité d'auto-renouvellement et l'épuisement du pool de CSH murines, selon Bogeska et al. (226). Il est étrangement observé que les cytokines pro-inflammatoires, telles que l'IL-1 et le TNF, sont souvent retrouvées à des taux plus élevés dans le sang périphérique et la moelle osseuse des patients atteints de SMP, ainsi que dans les modèles murins (74)

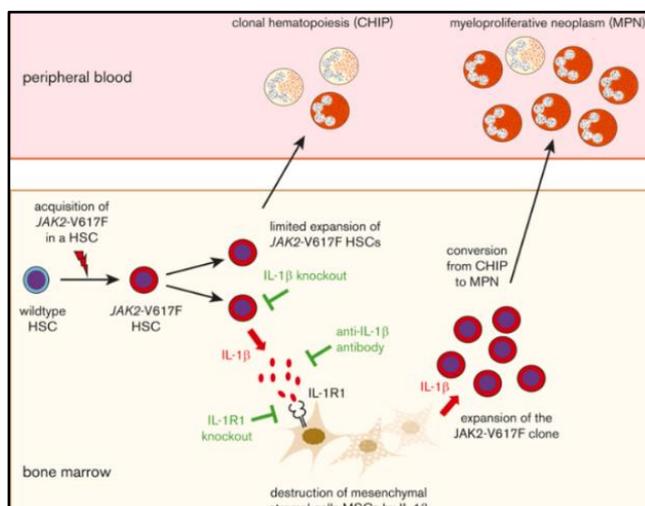
(250) (251) (252). Cela suggère que, dans les SMP, les CSH peuvent associer divers mécanismes afin de favoriser leur survie et leur prolifération dans un environnement médullaire pro-inflammatoire.



**Figure 105 : Le potentiel des CSH murines est réduit avec l'inflammation (Bogeska et al., *Cell Stem Cell*, 2022)**

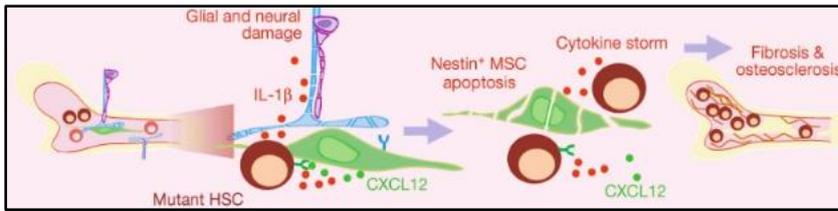
Chez la souris, Bogeska et al. montrent que l'exposition récurrente aux inflammations et aux infections est à l'origine de la perte progressive de la capacité d'auto-renouvellement à long terme ainsi que de l'attrition du pool de CSH. L'inflammation entraîne un vieillissement accéléré des CSH chez la souris. Les CSH murines soumises à un conditionnement inflammatoire montrent des caractéristiques comparables à celles des CSH humaines âgées, notamment une hématopoïèse moins efficace et une perte de potentiel lymphoïde au profit du potentiel myéloïde.

Dans les modèles murins (Rai et al., 2019 ; Rahman et al., 2022), il a été démontré que les CSH mutées JAK2 V617F sécrètent de l'IL-1 à un taux bien plus élevé que les CSH non mutées, mettant en évidence son rôle régulateur et instructif dans l'initiation de la maladie. Dans un environnement pro-inflammatoire, caractérisé par des taux élevés de cytokines telles que le TNF $\alpha$  et l'IL-1, le clone JAK2 V617F muté acquiert un avantage sélectif accru (74) (251) (253) (254).



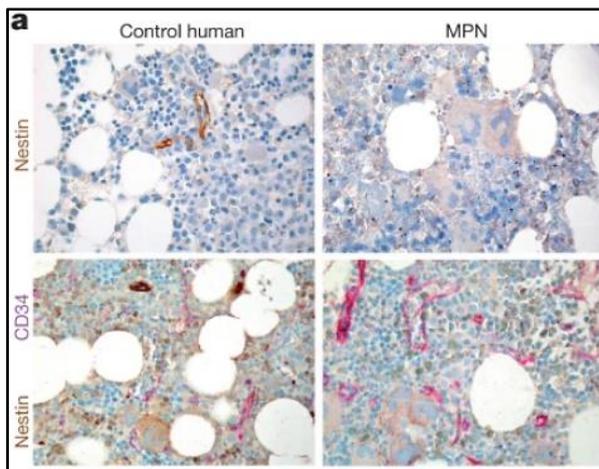
**Figure 106 : Rôle de l'IL-1 et expansion clonale des CSH murines dans les SMP (Rai et al., *Blood. Adv.*, 2024)**

L'IL-1 peut remanier le microenvironnement médullaire et créer ainsi une condition favorable à l'expansion clonale précoce des CSH mutées et à la progression de CHIP vers un SMP.



**Figure 107 :** Les CSH mutées sécrètent de l'IL-1, induisant la destruction neuronale et l'apoptose des cellules souches stromales (Arranz et al., *Nature*, 2014). La destruction des neurones régulateurs et l'apoptose des cellules souches mésenchymateuses, induites par l'IL-1 et l'orage cytokinique, sont à l'origine de la progression de la myélofibrose.

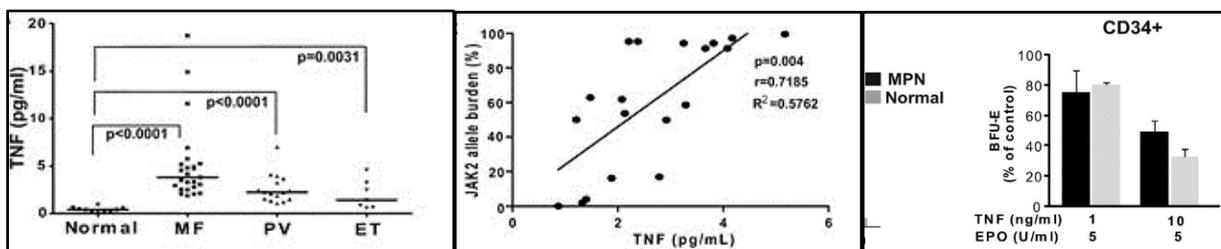
Les travaux de Arranz et al. (2014) et Rahman et al. (2022) soulignent l'implication de l'IL-1 dans la progression myélofibrotique des SMP phi- (74) (253). Arranz et al. (2014) montrent que l'IL-1 entraîne la destruction des cellules gliales et des neurones régulateurs de la niche hématopoïétique, ainsi que l'induction de l'apoptose des cellules souches stromales (255). À long terme, ce mécanisme favorise progressivement le développement de l'ostéosclérose et de la fibrose médullaire, contribuant ainsi à l'évolution des SMP phi- vers la myélofibrose.



**Figure 108 :** Moelle osseuse de patients atteints de SMP montrant une réduction significative des cellules souches stromales (Arranz et al., *Nature*, 2014)

Les cellules stromales mésenchymateuses (Mesenchymal Stem Cells) sont marquées Nestin+ en immunohistochimie (coloration brune). L'expansion de l'endothélium vasculaire est marquée par l'anti-CD34 en immunohistochimie (coloration rose).

Fleischman et al. ont trouvé que le taux de TNF sanguin est significativement plus élevé dans les trois SMP phi- et qu'il augmente de manière proportionnelle à la VAF de JAK2 (252).



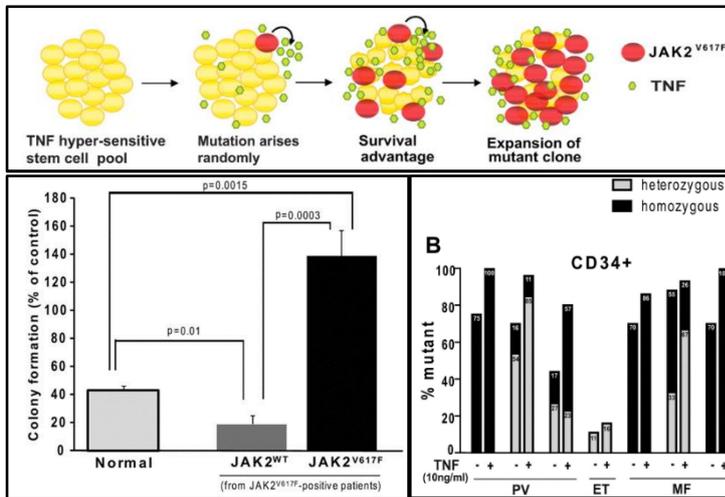
**Figure 109 :** Corrélation entre le TNF et la VAF de JAK2 et la résistance des CSPH CD34+ mutées à la suppression par le TNF (Fleischman et al., *Blood*, 2011)

A : Comparé aux sujets normaux, le taux sanguin de TNF est significativement plus élevé dans la TE, la PV et la MF.

B : Relation linéaire entre le taux sanguin de TNF et la VAF de JAK2 V617F.

C : Résistance à la suppression induite par le TNF des CSPH CD34+ mutées JAK2 V617F lors des épreuves fonctionnelles.

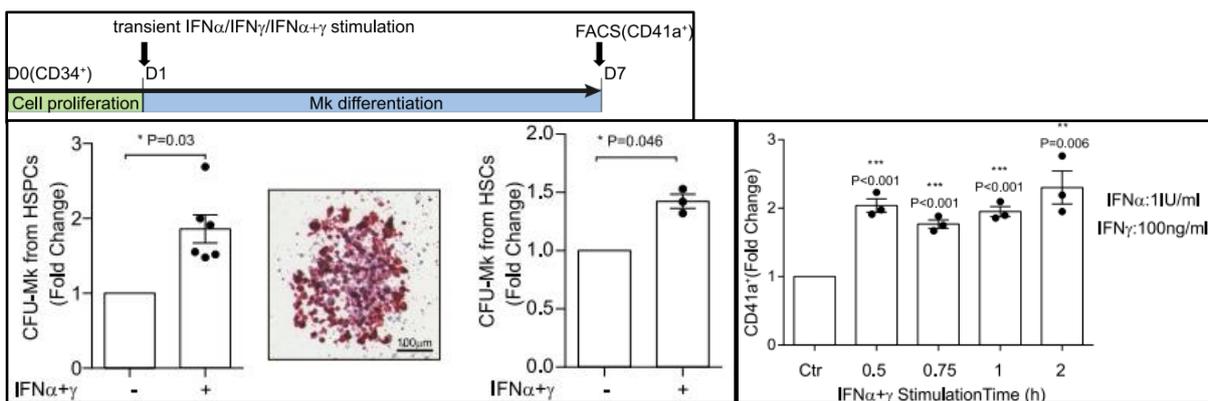
Lors des tests de culture fonctionnels, les CSPH CD34+ mutées JAK2 V617F sont non seulement résistantes au TNF, mais aussi hypersensibles à cette cytokine. Cela montre que, dans les SMP, l'IFN peut non seulement conférer un avantage de survie aux clones mutés JAK2 V617F mais aussi favoriser leur expansion par hypersensibilité aux cytokines (252).



**Figure 110 : Hypersensibilité au TNF et avantage clonal des CSPH dans les SMP (Fleischman et al., *Blood*, 2011)**

À faible dose, le TNF stimule la croissance des colonies de CD34+ chez les patients atteints de SMP phi-, en particulier les progéniteurs homozygotes pour JAK2 V617F.

Chez l'homme, Tong et al. observent que les patients atteints de TE et de PV porteurs de la mutation JAK2 V617F présentent des CSH exprimant davantage de marqueurs mégacaryocytaires (CD41a<sup>+</sup>) et une hypersensibilité à la stimulation par l'IFN. Autrement dit, l'IFN stimule la prolifération ainsi que la différenciation mégacaryocytaire des CSH mutées (240).



**Figure 111 : Hypersensibilité aux IFN ( $\alpha$  et  $\gamma$ ) des CSPH primées mégacaryocytaires (Tong et al., *Cell Stem Cell*, 2021)**

Durant les épreuves clonogéniques, l'expression et le potentiel mégacaryocytaire (CD41) des CSPH sont induits très tôt lorsqu'ils sont mis en culture avec de l'IFN. Cela suggère que l'IFN majore le potentiel et la différenciation mégacaryocytaire des CSPH CD34+ CD41+. Tong et al. montrent aussi que les CSPH CD41+ génèrent spontanément des colonies mégacaryocytaires (CFU-MK), et la croissance de ces colonies est significativement plus importante sous l'effet de l'IFN.

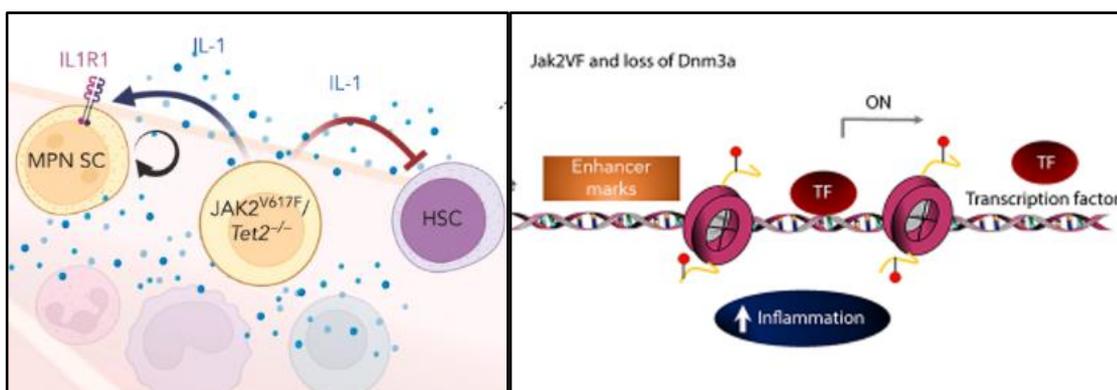
Au final, les CSH mutées peuvent utiliser plusieurs mécanismes pour s’auto-entretenir dans un environnement pro-inflammatoire et favoriser le développement de l’hématopoïèse clonale des SMP. Parmi eux, on peut citer :

1- La sécrétion d’IL-1 et de TNF par les cellules mutées leur conférant un avantage de survie au détriment des CSH normales. Elle permet ainsi d’amplifier l’expansion clonale, ainsi que l’initiation et le développement du SMP (73) (251) (256) (257).

2- La collaboration de mutations additionnelles. Chez la souris, Jacquelin et al. (2018) ont mis en évidence que la coopération entre les mutations de perte de fonction de DNMT3A et le gain de fonction de *JAK2* amplifie la signalisation des voies inflammatoires par l’IFN et accélère la progression myélofibrotique du SMP (199), Hormaechea et al. (2021) ont prouvé que l’infection et l’inflammation peuvent induire une expansion clonale des CSH mutées DNMT3A en favorisant la voie de signalisation à l’IFN, ce qui confère aux clones mutés une résistance aux environnements inflammatoires (258).

3- La surexpression du gène *DUSP1* dans les CSH mutées *JAK2-V617F* (Dual Specificity Protein Phosphatase 1), démontrée par Stetka et al. Elle leur donne une protection contre les impacts de l’inflammation et les dommages génétiques, favorisant ainsi la survie et la prolifération chronique des CSH mutées (259).

Ces observations apportent une preuve solide que les CSH mutées peuvent combiner différents mécanismes et stratégies pour obtenir un avantage de survie dans les conditions pro-inflammatoires des SMP.



**Figure 112 : L’implication des mécanismes de l’inflammation dans le SMP**

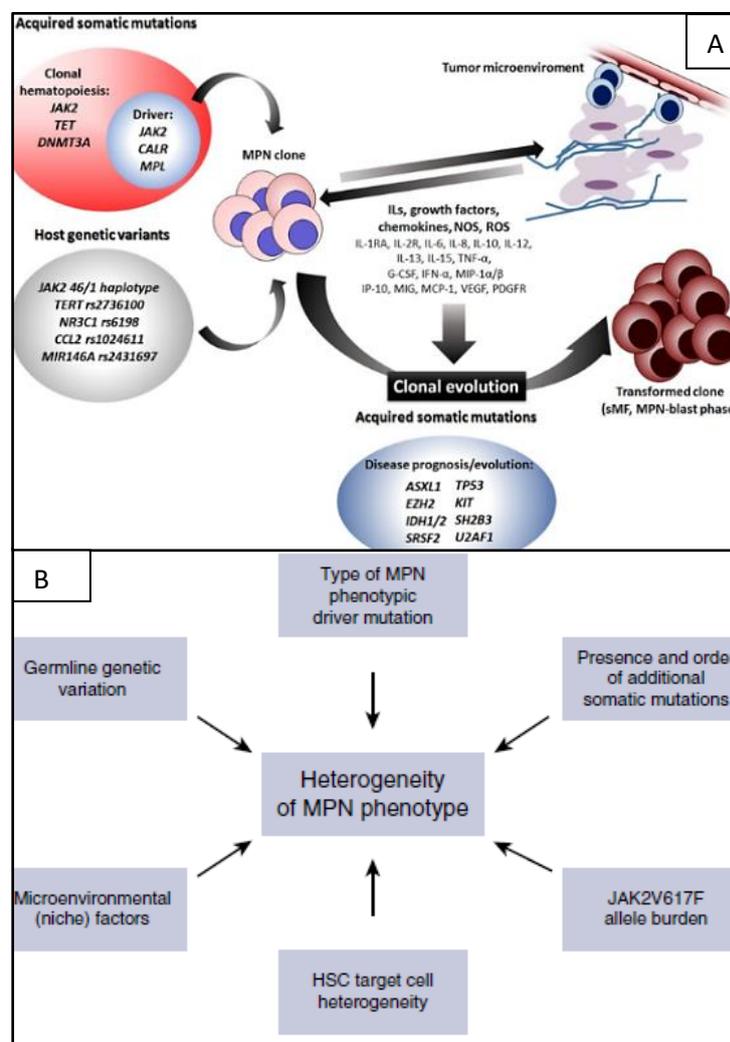
A : Les CSH du clone muté *JAK2 V617F* sécrètent de l’IL-1 et de l’IFN. Ces deux cytokines confèrent un avantage de prolifération aux autres CSH mutées exprimant les récepteurs de l’IL-1, au détriment des CSH non mutées (Zhao et al., *Blood*, 2023).

B : L’altération de la fonction de méthylation de l’ADN due à la mutation DNMT3A, ainsi que le gain de fonction de *JAK2 V617F*, accélèrent la différenciation et la prolifération dans la condition inflammatoire (Jacquelin et al., *Blood*, 2018).

## VI.10 Conclusion du chapitre V

Au total, il est probable que les facteurs de prédisposition, les mutations somatiques (177) (212) (213) (216), l'environnement médullaire, les mécanismes de l'inflammation (73) (74,253) (259) ainsi que le vieillissement coopèrent à l'initiation, au développement et à l'évolution naturelle des SMP.

D'un côté, ils accélèrent la conversion d'une hématopoïèse clonale en SMP et favorisent le risque de transformation hématologique. De l'autre, ils sont à l'origine de l'hétérogénéité phénotypique et moléculaire ainsi que du caractère continu des trois entités des SMP phi- (PV, TE et MFP) (239) (256).



**Figure 113 : Facteurs cyto-génétiques participant au développement et à l'hétérogénéité phénotypique des SMP phi-**

**A (Masselli et al., *Cells*, 2020) B (Mead et al., *Blood*, 2017)**

Les différents déterminants de l'hématopoïèse (mécanismes génétiques, moléculaires ainsi que microenvironnementaux) contribuent ensemble au continuum et à la complexité phénotypique et biomoléculaire des SMP, ainsi qu'à leur développement et à leur progression.

## VII. La place de la CMF dans les SMP phi-

L'immunophénotypage par cytométrie de flux permet l'identification, le dénombrement et la caractérisation des cellules hématopoïétiques. Il constitue donc un outil puissant et précieux dans le diagnostic, la classification et le suivi des hémopathies. La grande majorité des études de CMF sur les hémopathies myéloïdes se concentre plutôt sur son utilité dans les SMD et les LAM.

À ce jour, la CMF n'est pas recommandée pour le diagnostic et le suivi des SMP, mais différentes études démontrent qu'elle peut être une aide précieuse dans diverses démarches diagnostiques et dans la recherche. En effet, son efficacité est prouvée dans l'évaluation des SMP, y compris la détection, la quantification et la caractérisation précoce des blastes circulants et médullaires (260) (261) (262) (263) la caractérisation des anomalies monocytaires (264) et la stratification pronostique des SMP (265) comme le tableau ci-dessous :

**Tableau 9 : Les études de cytométrie en flux et leur rôle dans les SMP et SMP/SMD**

Etudes et référence	Résultat et /ou Interprétations	Utilité clinique et recherche
<b>Passamonti et al., <i>Haematologica</i>, 2003 (263)</b>	Le taux de CD34+ est significativement plus élevé dans la MFP liée aux métaplasies myéloïdes.	La numération des CD34+ sanguins permet d'argumenter le diagnostic de la MFP avant la BOM ou en absence de celle-ci.
<b>Ouyang et al., <i>Cytometry</i>, 2014 (260)</b>	Des altérations phénotypiques, soit dans les cellules CD34+, soit dans les cellules myélomonocytaires, ont été détectées dans 99 % des SMP. Les anomalies cytométriques étaient plus fréquemment observées dans la MF que dans la PV et la TE, mais aucune différence n'a été notée entre la MFP et la myélofibrose secondaire.	Les altérations phénotypiques sont significativement plus marquées en cas de blastose sanguine et médullaire. Cela suggère un rôle de la CMF dans le suivi des patients, durant la phase chronique.
<b>Herborg et al., <i>Int. J. Lab. Hematology</i>, 2018 (262)</b>	Les CSH des patients atteints de MF exprime significativement plus de hMICL+ que les CSH des patients atteints de PV et de TE.	En utilisant ce marqueur, il est possible de distinguer de manière fiable la MF de la TE et de la PV, avec une sensibilité de 80 % et une spécificité de 97 %.
<b>Mannelli et al., <i>Am J Hematol</i>, 2022 (265)</b>	La numération des CD34+ par CMF, associée au ratio neutrophile/lymphocyte, permet de catégoriser le risque pronostique des patients atteints de MFP selon le score MFC (0 : bas risque, 1 : intermédiaire, 2 : haut risque).	Ce score est en accord avec les modèles actuels (IPSS et MIPSS) et permet d'augmenter significativement leur performance de stratification.
<b>Bassan et al., <i>Med Oncol</i>, 2022 (264)</b>	Les 3 SMP phi- présentent une fréquence accrue de monocytes aberrants CD56+. Les patients atteints de PV et de TE présentent une fréquence réduite de monocytes CD80/86+.	Les altérations de la fréquence des sous-populations de monocytes et du profil d'expression des marqueurs de surface pourraient contribuer à l'onco-inflammation dans la physiopathologie des SMP.
<b>Liang et al., <i>Clin Exp Med</i>, 2024 (261)</b>	Les granulocytes CD10+ significativement élevés sont associés négativement aux scores pronostiques (IPSS et DIPSS) des patients atteints de MFP.	Les granulocytes CD10+ pourraient être utilisés dans le pronostic des patients atteints de MFP. L'augmentation des granulocytes naïfs de la moelle osseuse et la diminution des granulocytes matures chez les patients atteints de MFP peuvent être associées à un mauvais pronostic.

## VIII. ETUDE

### VIII.1 Objectifs de la thèse

À l'instar des études sur l'hématopoïèse et de la recherche sur les CSPH, qui ont permis de progresser dans la compréhension physiopathologique et thérapeutique des SMP, mon objectif de travail de thèse est de décrire l'architecture de l'hématopoïèse des SMP phi- grâce à l'analyse par la CMF des CSPH CD34+ chez les patients diagnostiqués SMP afin de mieux connaître leur architecture hématopoïétique et phénotypique.

### VIII.2 Patients

Les patients ont été pris en charge au CHU de Toulouse et à l'IUCT entre 2017 et 2025, dans le cadre d'un bilan diagnostique, d'un suivi, ou d'une suspicion de syndrome myéloprolifératif. Un total de 251 patients a été inclus dans une étude cytophénotypique portant sur l'architecture de l'hématopoïèse, avec 265 examens de moelle osseuse réalisés par cytométrie en flux au laboratoire d'hématologie de l'IUCT.

Parmi les 251 patients inclus, on compte 160 hommes (H) et 91 femmes (F), soit un ratio H/F de 1,77. Les diagnostics établis sont les suivants :

#### **Patients avec une néoplasie myéloproliférative (NMP) selon la classification de l'OMS 2022**

- 78 patients sont diagnostiqués avec un SMP phi- (ratio H/F = 2), dont 18 patients TE, 11 patients PV et 49 patients MF.
- 86 patients avec une LMC (ratio H/F = 1,46).
- 10 patients avec une LMC atypique (LMCa, ratio H/F = 8).
- 5 patients de sexe masculin avec une leucémie chronique à neutrophiles (LCN).
- 2 patients de sexe masculin diagnostiqués d'un néoplasme myéloïde/lymphoïde avec éosinophilie et fusions de gènes de tyrosine kinase (MLN-TK).

#### **Patients diagnostiqués avec un SMP/SMD**

- 18 patients avec un SMP/SMD (ratio H/F = 3,5) : 9 SMP/SMD-SC-T et 9 SMP/SMD inclassable.
- 35 patients avec une LMMC proliférative (LMMC-p, ratio H/F = 1,9).

**Les 20 autres patients inclus constituent un groupe réactionnel**, comprenant présentant syndrome inflammatoire ou un syndrome hyperéosinophilique systémique (ratio H/F = 0,8).

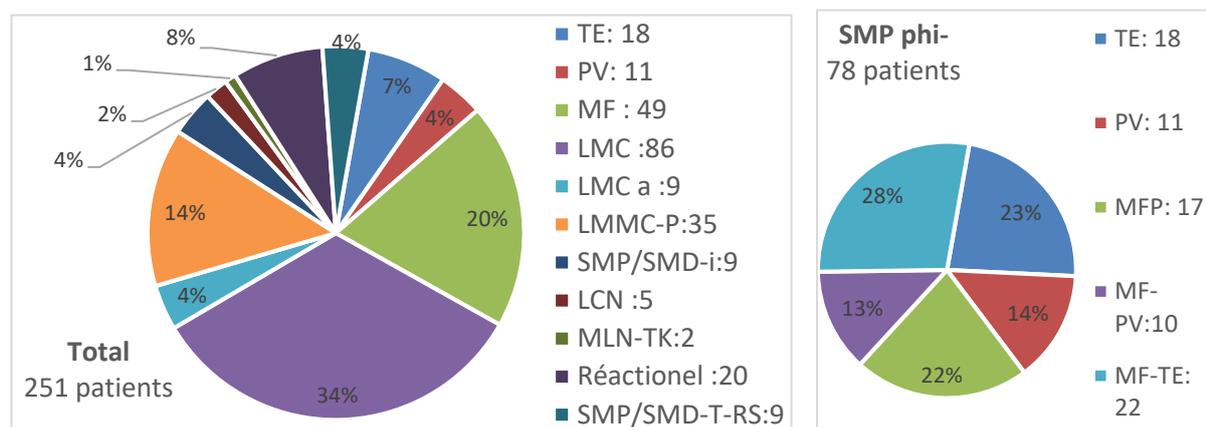
L'ensemble des données cliniques (l'âge, le sexe, le diagnostic, les complications vasculaires et la splénomégalie, etc.) et des résultats biologiques (la NFS, les analyses immunophénotypiques, biomoléculaires et cytogénétiques, le myélogramme et /ou la BOM)

des patients sont collectées et analysées de manière rétrospective sur la base de données des patients du CHU de TOULOUSE et de l'IUCT entre 2017 et 2025, grâce aux différents moyens et outils informatiques tels que MOLIS, ORBIS, TRACKCARE, KALUZA .

L'âge médian est de 69,4 ans et l'âge moyen de 65 ans (de 5,6 à 93 ans) pour l'ensemble des patients de la cohorte. Pour les patients atteints de SMP phi-, l'âge médian et l'âge moyen des patients sont respectivement de 71,3 ans et 67 ans (de 5,6 ans à 91,7 ans).

Trois cas pédiatriques de la TE ont été identifiés : deux garçons de 5 ans et 16 ans, une fille de 9 ans au stade pré-myélofibrose. De plus, un cas de la PV a été diagnostiqué chez un jeune patient de 24 ans. La composition des sous-groupes de la cohorte et leur caractérisation générale sont détaillées dans le tableau de synthèse des patients ci-dessous :

**Figure 114 : Composition des groupes et des sous-groupes de l'étude**



**Tableau 10 : Caractérisation générale des groupes et sous-groupes de patients**

Patients et groupe	Patients	Analyses	Age moyen (min-max)	H/F (ratio)	Splénomégalie	
<b>Cohorte totale</b>	251	264	65 (5,6-93,6)	160/91(1,76)	NA	
<b>LMC</b>	86	86	61 (16,9-93,4)	51/35 (1,46)	NA	
<b>LMC atypique</b>	9	11	68 (62,1-87,6)	8/1 (8)	4 (44%)	
<b>SMP phi-</b>	78	84	67 (5,6-91,7)	52/26 (2)	44 (57%)	
<b>MF</b>	49	56	69 (8,2-86,3)	31/18 (1,7)	38 (76%)	
<b>PV</b>	11	11	63 (24,6-78,9)	7/4 (1,8)	2 (18%)	
<b>TE</b>	18	18	64 (5,6-91,7)	14/4 (3,5)	4 (22%)	
<b>LMMC</b>	<b>LMMC-P</b>	35	36	73 (48-93,6)	23/12 (1,9)	16 (46%)
	<b>LMMC-1</b>	18	19	72 (48-93,6)	12/6 (2)	5 (28%)
	<b>LMMC-2</b>	17	17	79 (56-87)	11/6 (1,8)	11(65%)
<b>SMP/SMD-T-RS</b>	9	9	70 (39,7-88)	2/7 (0,3)	1 (11%)	
<b>SMD/SMP -U</b>	8	9	71 (61-82)	8/0 (na)	4 (44%)	
<b>LCN</b>	5	5	53 (63,4-87,8)	5/0 (na)	2 (40%)	
<b>Réactionnel</b>	20	21	57 (11,7-83,1)	9/11(0,8)	0 (0%)	
<b>MLN-TK</b>	2	2	65 (52,5-54,4)	2/0 (na)	0 (0%)	

## VIII.3 Méthodes

### VIII.3.1 Cytométrie en flux multiparamétrique et immunophénotypage

Protocole d'analyse en cytométrie de flux au laboratoire d'hématologie de l'IUC-T Oncopole

#### Cytomètre

Le laboratoire d'hématologie de l'IUC-T Oncopole utilise le cytomètre en flux Navios™ EX 10 Colors/3 Lasers de Beckman Coulter® pour l'analyse des échantillons.

#### Préparation des échantillons

Un maximum de 2 millions de cellules médullaires vivantes est mis en contact avec un mélange d'anticorps couplés à des fluorochromes pendant 15 minutes à l'abri de la lumière.

#### Panels et anticorps

**Tableau 11 : Les anticorps ainsi que les fluorochromes utilisés dans le panel HSPC sont :**

<i>Anticorps</i>	<i>Fluoro-chrome</i>	<i>Clone</i>	<i>Fournisseur</i>	<i>Référence</i>	<i>Volume (µL) / tests</i>
CD34	BV421	581	Becton Dickinson	562577	2
CD38	PECy7	HB-7	Becton Dickinson	335825	2
CD45	KO	J33	Beckman Coulter	B36294	2
CD45RA	APCH7	HI100	Becton Dickinson	560674	2
CD133	APC	AC133	Miltenyi	130-090-826	2
CD135	PE	4G8	Becton Dickinson	558996	10

#### Après l'incubation, les étapes suivantes sont réalisées :

1. Centrifugation des échantillons pendant 5 minutes à 1500 tours/minute.
2. Lyse des globules rouges par ajout de 2 mL de tampon de lyse BD FACS Lysing 1X au culot cellulaire.
3. Nouvelle incubation pendant 15 minutes à température ambiante et à l'abri de la lumière.
4. Seconde centrifugation pendant 5 minutes à 1500 tours/minute.
5. Lavage du culot cellulaire dans les mêmes conditions.
6. Remise en suspension du culot dans 250 µL de Cell Wash.

## Analyse par cytométrie de flux

Les échantillons marqués sont analysés sur le cytomètre NAVIOS (Beckman Coulter) équipé de 10 couleurs et 3 lasers :

- 405 nm (40 mW)
- 488 nm (22 mW)
- 638 nm (25 mW)

Un minimum de 40 000 événements est acquis pour chaque échantillon. L'analyse des données est réalisée à l'aide du logiciel Kaluza.

### VIII.3.2 Logiciels Kaluza

Le logiciel Kaluza est utilisé pour le traitement des données brutes issues du cytomètre. Il permet également l'affichage des différents graphiques ainsi que le paramétrage des analyses.

#### Réglages et Compensation du Signal de Fluorescence

L'analyse non supervisée nécessite plusieurs étapes préliminaires :

**-Sélection des cellules d'intérêt** : L'ensemble des cellules de l'échantillon est pris en compte afin d'éviter l'exclusion de la population cible tout en éliminant les débris cellulaires.

**-Identification des singulets** : Les doublets et agrégats cellulaires sont exclus pour ne conserver que les singulets.

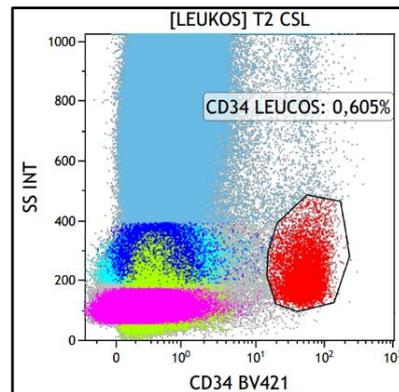
**-Vérification des paramètres de compensation** : Conformément aux prérequis, les données brutes (répertoires « Raw »), issues de patients (Diag ou FU) ou de moelles normales (NBM), doivent systématiquement être vérifiées pour s'assurer de l'exactitude des paramètres de compensation de fluorescence.

### VII.3.2 Phénotype CSL et stratégie de fenêtrage (gating) des CSPH CD34+

Premièrement, les deux paramètres, à savoir l'index de SS INT et l'expression du marqueur CD34, permettent de cibler les leucocytes CD34+.

**Figure 115 : Fenêtrage des leucocytes CD34+ en CMF**

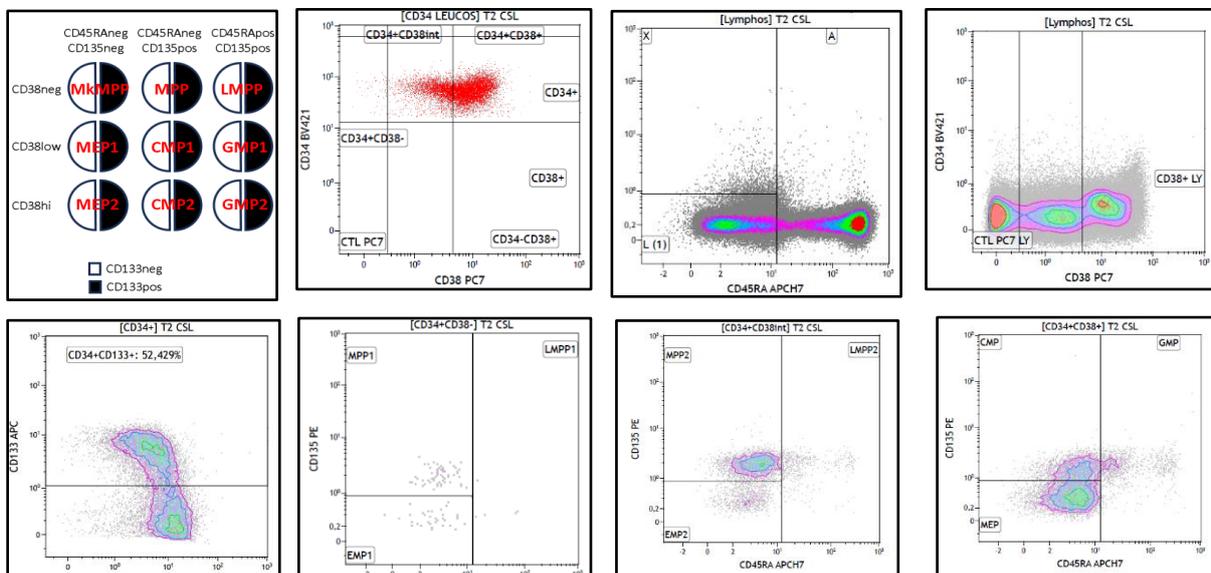
Les CSPH sont CD34+ fort avec SS INT faible ou intermédiaire



Deuxièmement, les lymphocytes sont connus pour leur expression très variable des différents marqueurs. Ils servent de modèle pour définir les seuils de négativité/positivité des marqueurs CD38, CD45RA et CD135 des CD34+. Grâce aux fenêtrages du CD38, CD45RA, CD135 et CD133, nous pouvons séparer l'ensemble des sous-populations de CSPH CD34+.

Le marqueur CD38 permet de classer les CD34+ en trois grandes populations de différents degrés de maturation : CD34+ CD38- (souche), CD34+ CD38+ intermédiaire (progéniteur immature) et CD34+ CD38+ fort (progéniteur mature). Par ailleurs, les marqueurs CD45RA, CD135 et CD133 sont utilisés dans le fenêtrage pour classer les différents progéniteurs comme suit :

**Figure 116 : Exemple de stratégie de fenêtrage (gating) des CSPH chez une patiente de 76 ans de la cohorte atteinte de la myélofibrose primitive**



## VIII.4 Résultats

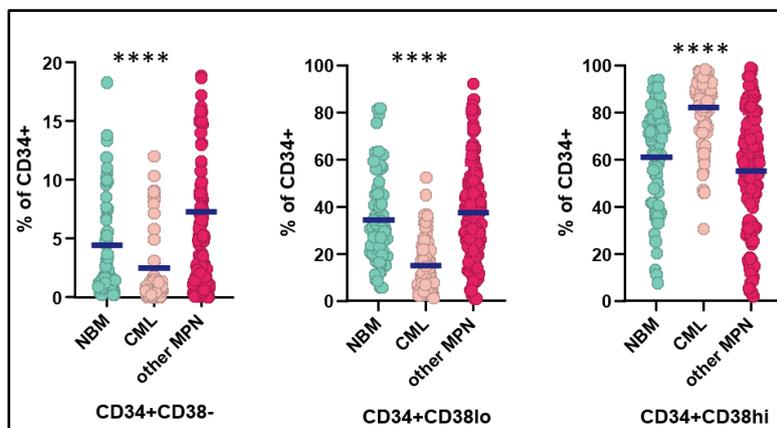
### VIII.4.1 Les cellules souches hématopoïétiques et les progéniteurs des néoplasies myéloproliférative (NMP)

La comparaison de la répartition des trois compartiments (CD38-, CD38 faible, CD38 fort) des CSPH CD34+ par CMF des trois grands groupes de patients de la cohorte (groupe des témoins, groupe des LMC, groupe des NMP autres que la LMC) montre que :

-Le taux des deux compartiments CD34+ plus immatures, dont les CSPH (CD34+CD38-) et les progéniteurs immatures (CD34+CD38 faible), dans le groupe des patients LMC est significativement plus réduit par rapport à celui des groupes des témoins et des autres NMP.

-À l'inverse, les taux des progéniteurs CD34+CD38+ sont significativement plus élevés par rapport au groupe témoin et au groupe des autres NMP non LMC.

Dans le groupe des patients LMC, on observe une augmentation des progéniteurs hématopoïétiques CD34+ avec une forte expression de CD38 (CD38 fort), ce qui indique une accumulation des progéniteurs matures, plus différenciés ou plus engagé dans l'hématopoïèse par rapport aux groupes des témoins (NBM) et aux autres NMP.



**Figure 117 : Comparaison de la répartition des CSPH CD34+ entre les trois groupes de patients (LMC, NMP non LMC et les témoins)**

CD34+CD38- : Diminution significative du taux de CSH (CD34+CD38-) dans le groupe des patients LMC

CD34+CD38lo : Diminution significative du taux des CD34+CD38 faible dans le groupe des patients LMC

CD34+CD38hi : Augmentation significative des CD34+CD38 fort dans le groupe des patients LMC

#### Abréviations

CD34+CD38- : Les CSH CD34+CD38-

CD34+CD38lo : Les progéniteurs CD34+CD38 faible

CD34+CD38hi : Les progéniteurs CD34+CD38 fort

NBM : Sujets témoins normaux

CML : Groupe de la LMC atypique

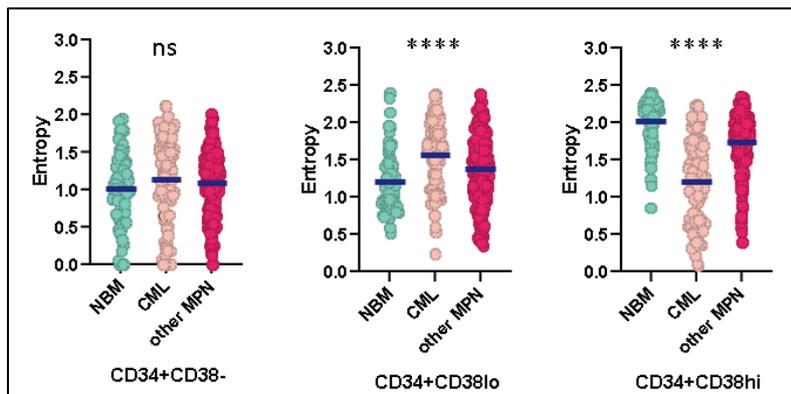
Other MPN : Autres groupes de patients atteints de SMP

\*\*\*\* : Différence statistiquement significative

## VIII.4.2 Hétérogénéité des sous populations des CSPH

L'hétérogénéité des CSPH est un caractère de l'hématopoïèse physiologique. C'est pour cette raison que nous cherchons à explorer cette hétérogénéité chez le groupe LMC et les patients NMP non LMC, en la comparant à celle observée dans un groupe témoin.

L'entropie est un paramètre permettant d'évaluer l'hétérogénéité d'un ensemble de population. Une entropie basse signe un ensemble composé d'une population majoritaire et une entropie élevée caractérise un ensemble composé de nombreuses populations de taille comparable. Chez tous les groupes de NMP de la cohorte dont la LMC (86 patients) et les autres NMP non LMC, la comparaison avec le groupe témoin (58 patients sans hémopathie et 20 patients du groupe réactionnelle) révèle une augmentation significative de l'entropie des progéniteurs CD34+ CD38+ faible, tandis que l'entropie des CD34+ CD38+ fort diminue. Par contre, on n'observe pas de différence significative de l'entropie des CSH (CD34+ CD38-) entre les différents groupes, y compris la LMC, les néoplasies myéloprolifératifs (autre que la LMC) et le groupe témoin.



**Figure 118 : Hétérogénéité des CSPH CD34+ dans les 3 groupes (la LMC, NPM non LMC et les sujets témoins)**

L'indice d'entropie permettant d'évaluer la variabilité ou l'hétérogénéité de la répartition des trois sous-populations des CD34+ (CD38-, CD38 faible, CD38 fort) montre que :

- Dans les CD34+CD38- : aucune différence significative n'est observée entre les trois groupes
- Dans les CD34+CD38 faible : une augmentation de l'hétérogénéité est observée dans tous les NMP
- Dans les CD34+CD38 fort : l'hétérogénéité des CD34+CD38- est moins marquée dans tous les NMP

### Abréviations

NBM : Sujets témoins

CML : Groupe de la LMC atypique

Other MPN : Autres groupes de patients atteints de SMP

\*\*\*\* : Différence statistiquement significative

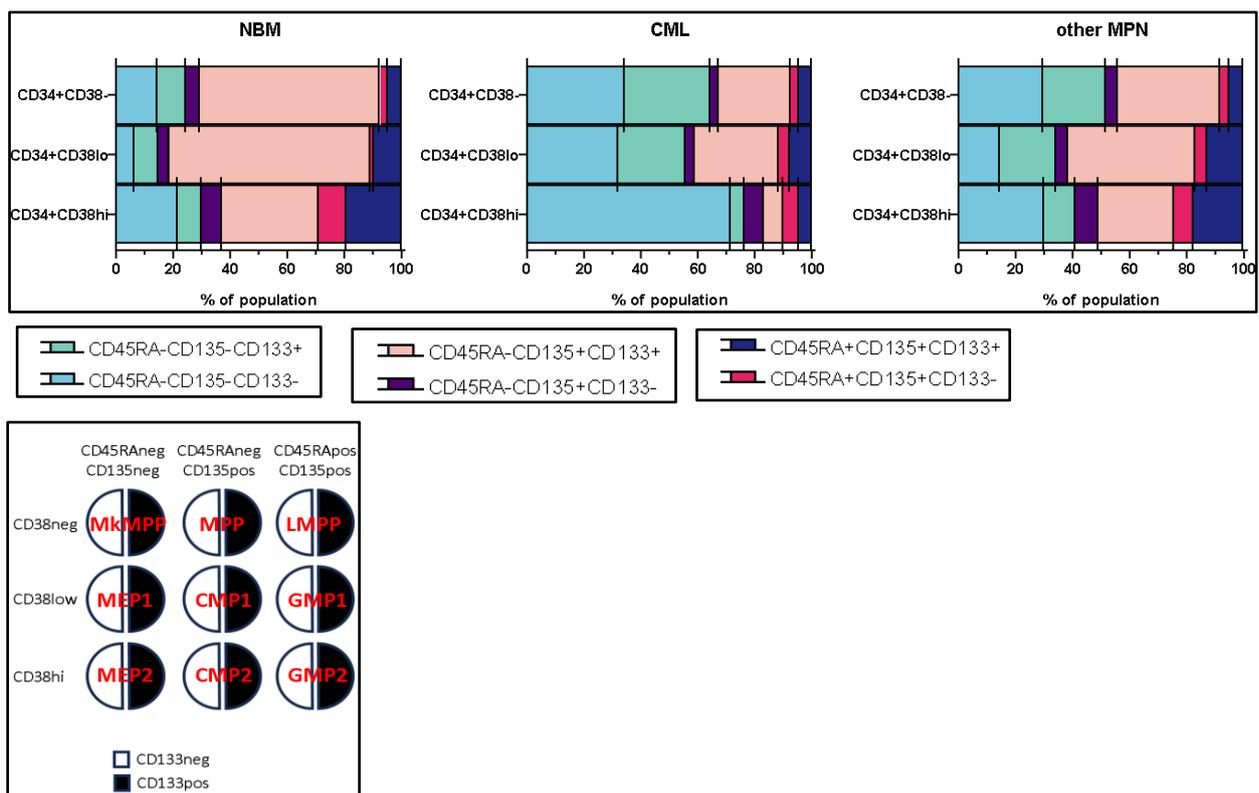
### VIII.4.3 L'architecture de l'hématopoïèse des MPN (autres que LMC)

Les valeurs d'entropie suggèrent que, contrairement à la LMC, l'architecture de l'hématopoïèse des NMP (autres que LMC) est très hétérogène.

L'architecture des moelles normales s'articule autour des MPP CD133+ puis des CMP1 CD133+, largement majoritaires dans les compartiments souche (CD34+CD38-) et progéniteur immature (CD34+CD38+ faible).

Le compartiment progéniteur mature (CD34+CD38+ fort) des NBM se caractérise par une hétérogénéité des sous-populations (entropie haute). Les LMC ont une architecture unique avec une large prédominance de l'axe MkMPP-MEP1-MEP2 CD133-.

Les autres NMP sont différents des NBM mais présentent un profil moins tranché que les LMC. Ceci nous pousse à étudier l'architecture des différentes entités composant cette catégorie.



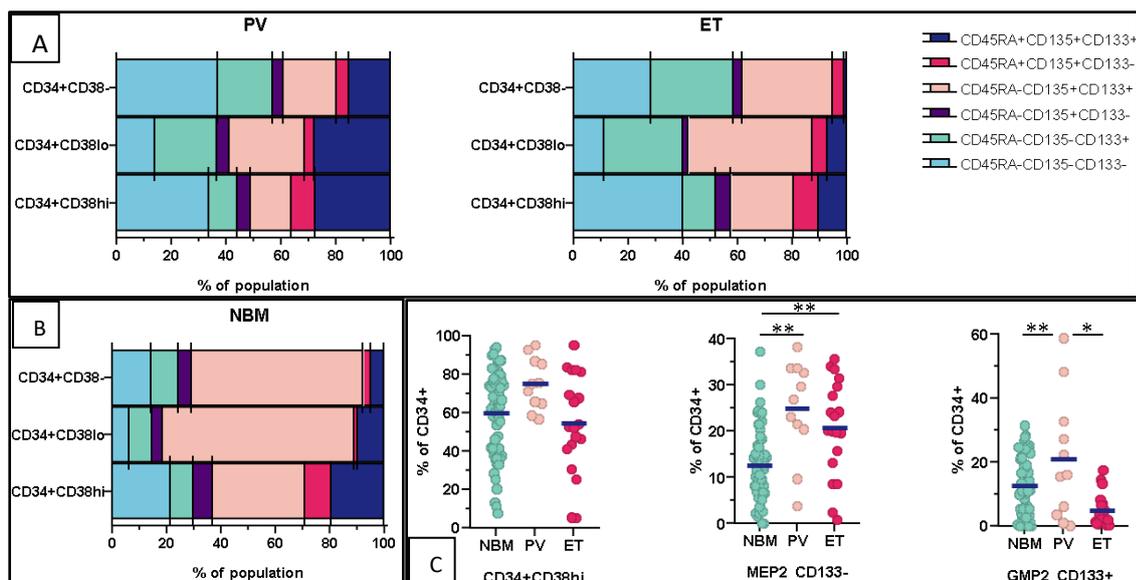
**Figure 119 : Répartition des CSPH CD34+ dans l'hématopoïèse des 3 groupes (LMC, NMP non LMC et le groupe des témoins)**

Analyse de CSPH CD34+ par CMF entre les différents groupes de patients de la cohorte montre une hétérogénéité dans la distribution dans les 3 sous-populations CD34+. L'architecture de l'hématopoïèse des NMP (autres que LMC) est très hétérogène.

### VIII.4.3.1 Thrombocytémie essentielle et la polyglobulie de Vaquez

L'analyse par immunophénotypage de la répartition des CSPH CD34+ dans la moelle osseuse des patients atteints de thrombocytémie essentielle (18 patients), de polyglobulie de Vaquez (11 patients) et du groupe témoin (58 patients sans hémopathie+20 patients du groupe réactionnelle) montre que la proportion des progéniteurs immatures CD34+ CD38+ fort est similaire et comparable entre les trois groupes.

Parmi les progéniteurs CD34+CD38+, on observe une augmentation significative des progéniteurs érythro-mégacaryocytaires MEP2 CD133- (CD34+CD38+CD45RA-CD135-CD133-) dans les groupes de patients TE et PV, comparée au groupe témoin. Le taux des progéniteurs granulo-monocytaires GMP2 CD133+ (CD34+CD38+CD45RA+CD135+CD133+) est, quant à lui, significativement plus élevé chez les patients PV par rapport aux deux autres groupes.



**Figure 120 : Comparaison du taux des progéniteurs CD34+CD38 fort, les MEP et GMP entre les groupes (la TE, la PV et les témoins)**

A et B : Répartition et composition des sous-populations CD34+ CD38-, CD38 faible, CD38 fort du groupe TE et groupe PV et les témoins

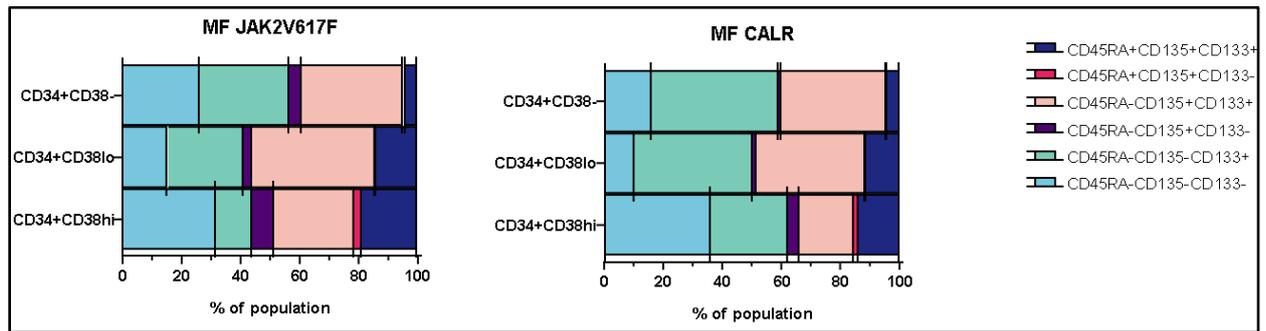
C : Les patients des 2 groupes de la TE et de la PV présentent un taux de des MEP2 significativement plus élevé que le groupe témoins. Les GMP CD133+ sont plus bas dans la TE tandis qu'ils sont plus élevés dans la PV par rapport aux témoins

MEP2 CD133- : progéniteurs érythro-mégacaryocytaires CD133-

GMP2 CD133+ : progéniteurs granulo-monocytaires CD133+

(\*), (\*\*): Différence statistiquement significative

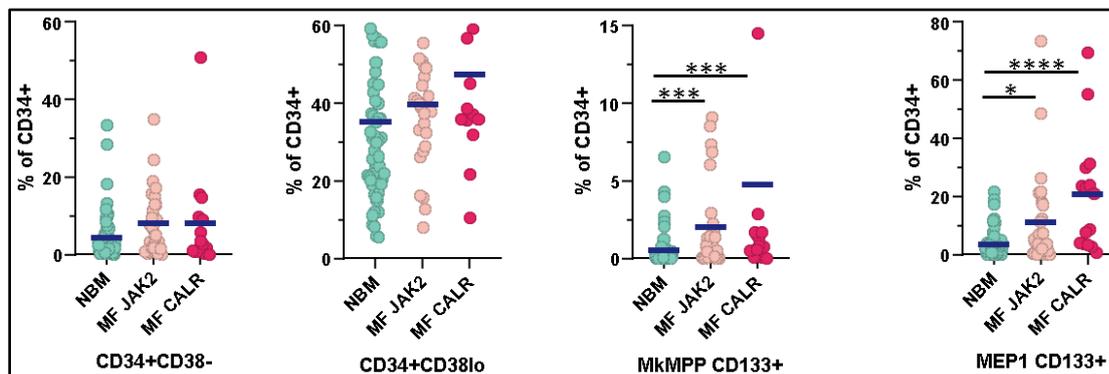
### VIII.4.3.2 La myélofibrose avec les mutations CALR et JAK2V617F



**Figure 121 : Répartition des 3 sous-populations des CD34+ concernant les groupes MF-CALR et MF JAK2V617F**

L'analyse des patients atteints de myélofibrose (49 patients) par CMF montre que les proportions des progéniteurs pluripotents biaisés mégacaryocytaires CD133+ (Mk-MPP CD133+) et les progéniteurs immatures érythro-mégacaryocytaires CD133+ (MEP1 CD133+) sont significativement plus élevées, aussi bien chez les patients porteurs de la mutation JAK2 V617F (29 patients) que chez ceux présentant une mutation de CALR (16 patients).

Pour le compartiment des CSPH CD34+, on observe l'absence de différences significatives pour les taux des CSH CD34+ CD38- et des progéniteurs immatures CD34+ CD38 faibles entre les patients atteints de myélofibrose mutée CALR et mutée JAK2 et les témoins.



**Figure 122 : Comparaison des proportions de CSPH entre les groupes (MF et témoins)**

Les proportions des CD34+ CD38- et faible sont similaires entre les sous-groupe MF CALR, MF JAK2 V617F et les témoins. La comparaison des taux de CSPH entre les sous-groupes de myélofibrose présentant la mutation JAK2 V617F ou CALR, et les patients témoins montrent une augmentation significative des MkMPP CD133+ et des MEP1 CD133+ dans la MF.

- (\*), (\*\*), (\*\*\*) : Différence statistiquement significative
- MF JAK2 : Sous-groupe des patients myélofibrose muté JAK2
- MF CALR : Sous-groupe des patients myélofibrose muté CALR
- NBM : Groupe des témoins
- MkMPP : Progéniteurs pluripotents mégacaryocytaires CD133+
- MEP1 CD133+ : Progéniteurs érythro-mégacaryocytaires CD133+

## VIII.4.4 Complications vasculaires et splénomégalie des patients SMP phi-

### VIII.4.3.1 Splénomégalie

Dans notre cohorte, la splénomégalie concernant 57% des patients atteints de SMP phi-, elle est plus fréquente dans la myélofibrose primitive (MFP, 78 % des patients).

En comparaison, elle est observée chez seulement 18 % des patients atteints de PV et 22 % des patients atteints de TE.

### Thrombose et hémorragie

Les complications thrombotiques sont observées chez 28 patients atteints de SMP phi-, soit 35 % des cas :

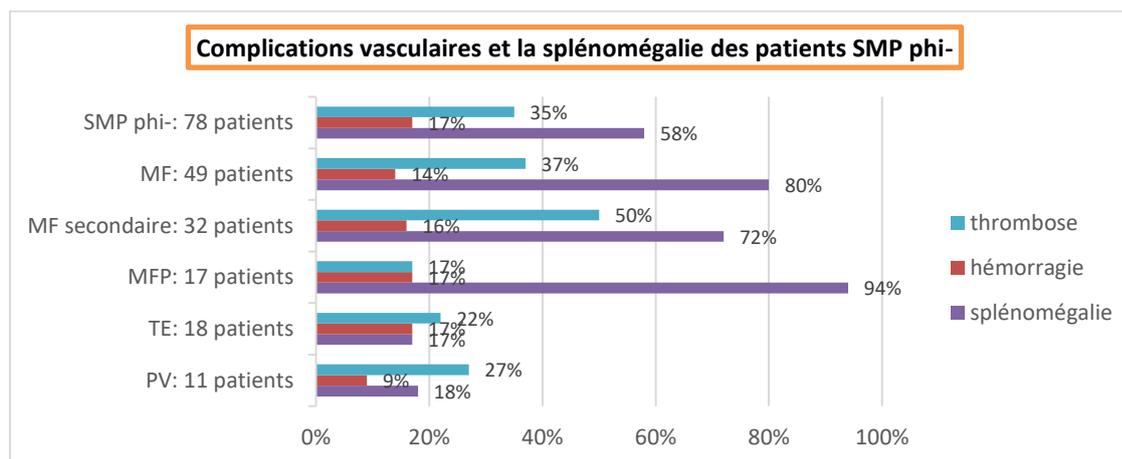
- 15 patients (19 %) ont présenté des événements de thrombose artérielle (AVC ischémique/AIT, syndrome coronarien, infarctus du myocarde, AOMI/ischémie aiguë).
- 16 patients (20 %) ont présenté des thromboses veineuses (TVP, EP, infarctus splénique).

Les complications hémorragiques concernent 14 patients (17,8 %) (saignements cutanéomuqueux, syndrome de Willebrand acquis, AVC hémorragique, rupture de rate).

- 3 cas pédiatriques (2 TE et 1 MF post TE au stade pré-fibrotique) présentent un syndrome de Willebrand acquis.

La splénomégalie et les complications vasculaires des SMP phi- sont détaillé ci-dessous :

**Figure 123 : La splénomégalie et les complications vasculaires des SMP phi-**



**Tableau 12 : Complications vasculaires, de la splénomégalie des patients SMP phi-**

Hémopathies	Patients	Thrombose	Splénomégalie	Complication hémorragique	
SMP phi -	78	28	45	14	
PV	11	3	2	1	
TE	18	7	4	4	
MF	49	18	39	7	
MF (49)	MF 2ère	32	16	23	5
	MFP	17	2	16	7

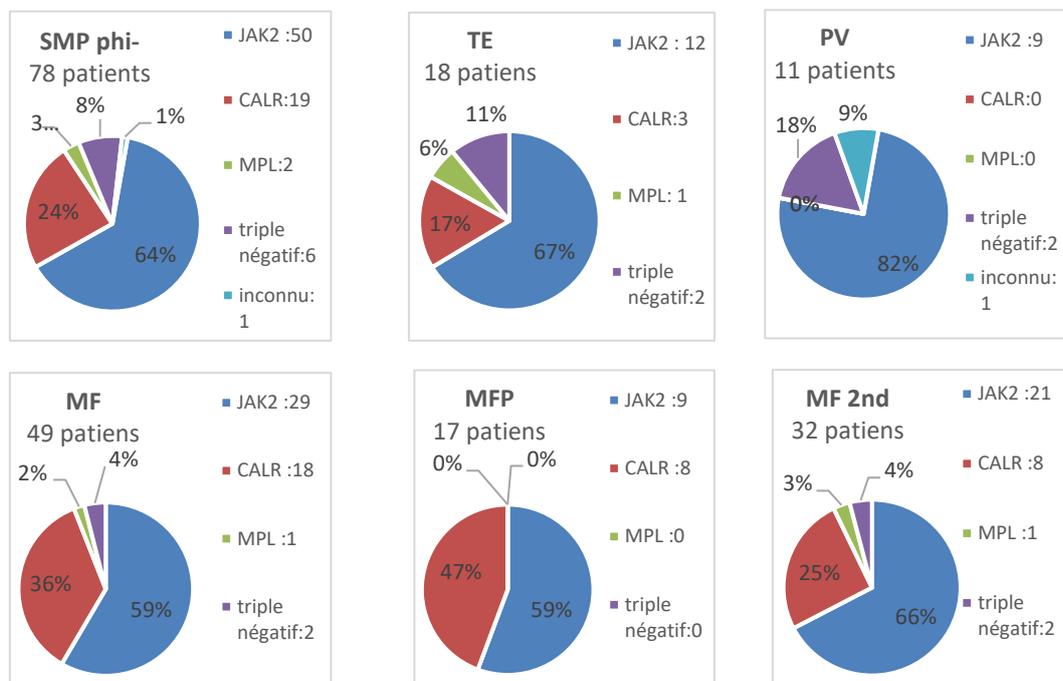
## VIII.4.5 Mutation somatique des patients SMP phi- du cohorte

### VIII.4.5.1 Mutations motrices de SMP phi-

Concernant les mutations motrices des SMP phi-, 71 patients sur 78, soit 91 %, présentent une mutation motrice, avec une prédominance de JAK2 V617F (présente dans 50 cas, soit 64 %). La mutation de CALR est retrouvée chez 18 patients et elle concerne uniquement ceux atteints de TE (3 patients sur 18, soit 17 % mutés) et de MF (18 patients sur 49, soit 37 % mutés). Un seul cas de TE (1 patient sur 18) et un seul cas de MF (1 patient sur 43) présentent la mutation de MPL.

La composition des mutations motrices des différents sous-groupes de SMP phi- est détaillée comme suit :

**Figure 124 : Répartition des mutations motrices des patients SMP phi- des patients de la cohorte**



**Tableau 13 : Synthèse des mutations motrice des SMP phi- des patients**

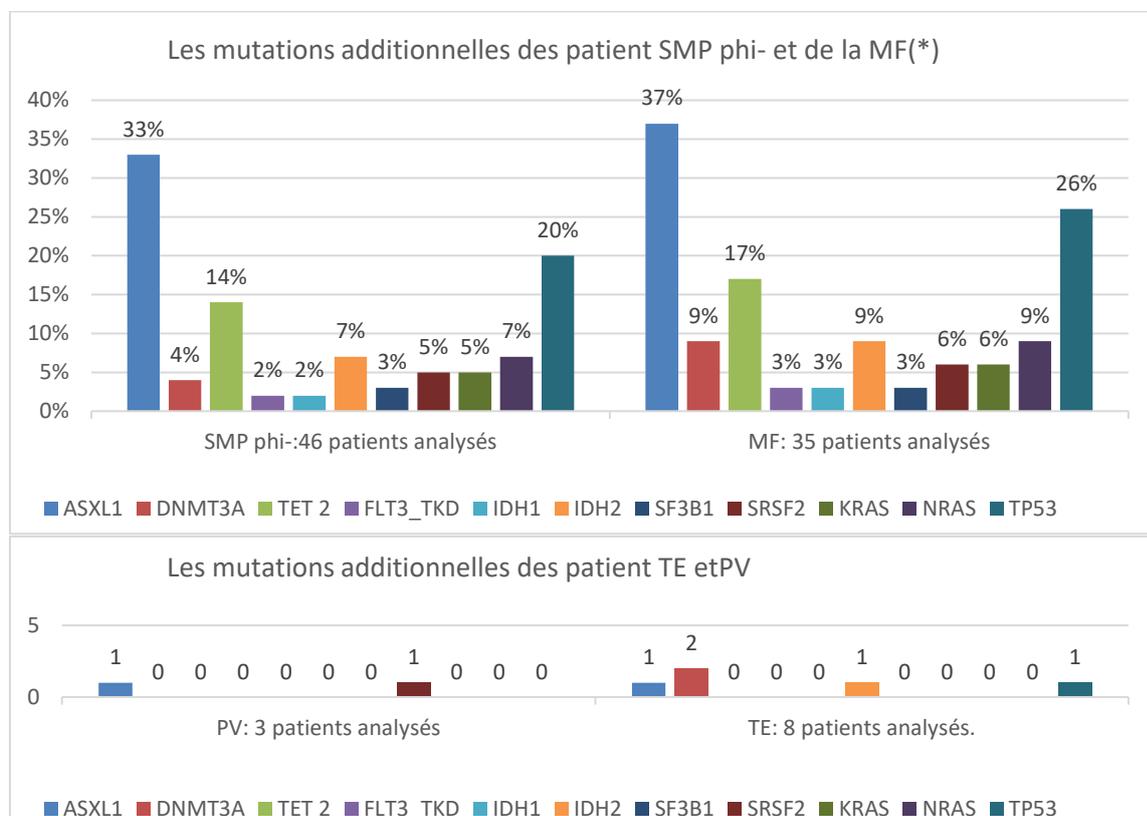
	N	JAK2	CALR	MPL	Triple négatif	inconnu	Cytogénétique anormal	
<b>SMP phi-</b>	78	50	19	2	6	1	30	
<b>PV</b>	11	9	0	0	2	1	3	
<b>TE</b>	18	12	3	1	2	0	7	
<b>MF</b>	49	29	16	1	2	0	20	
<b>MF</b>	<b>Secondaire</b>	32	21	8	1	2	0	14
	<b>MFP</b>	17	9	8	0	0	0	6

### VIII.4.5.2 Mutations somatiques additionnelles des patients SMP phi-

Les mutations somatiques additionnelles sont également fréquentes. Chez 46 patients ayant bénéficié d'analyses biomoléculaires, 28 patients (60%) présentent au moins une mutation somatique additionnelle et 19 patients (41%) en présentent au moins deux. Les mutations de l'ASXL1 et de TP53 sont les plus fréquentes. On observe 33 % (15 patients mutés sur 46 testés) mutés pour ASXL1 et 20 % (8 patients mutés sur 40 testés) mutés pour le TP53. Dans les groupes TE et PV, on observe très peu de mutations additionnelles, alors qu'elles sont beaucoup plus fréquentes chez les patients atteints de myélofibrose.

La répartition des mutations additionnelles chez les patients SMP phi- est décrite comme suit :

**Figure 125 : Les mutations additionnelles des patient SMP phi-**



(\*) Selon donnée : nombre patients muté/ nombre testé (tableau 14)

**Tableau 14 : Mutations additionnelles des patients SMP phi-**

Mutations	ASXL1	DNMT3A	TET2	FLT3_TKD	IDH1	IDH2	SF3B1	SRSF2	KRAS	NRAS	TP53	NPM
<b>SMP phi-</b>	15/46	2/46	5/37	1/46	1/46	3/46	3/42	2/42	2/41	3/41	8/40	0/44
<b>TE</b>	1/8	2/8	0/6	0/8	0/8	0/8	1/7	0/7	0/6	0/6	1/6	0/6
<b>PV</b>	1/3	0/3	0/2	0/3	0/3	0/3	1/3	0/3	0/3	0/3	0/2	0/3
<b>MF</b>	13/35	3/35	5/29	1/35	1/35	3/35	1/36	2/32	2/32	3/32	8/31	0/33

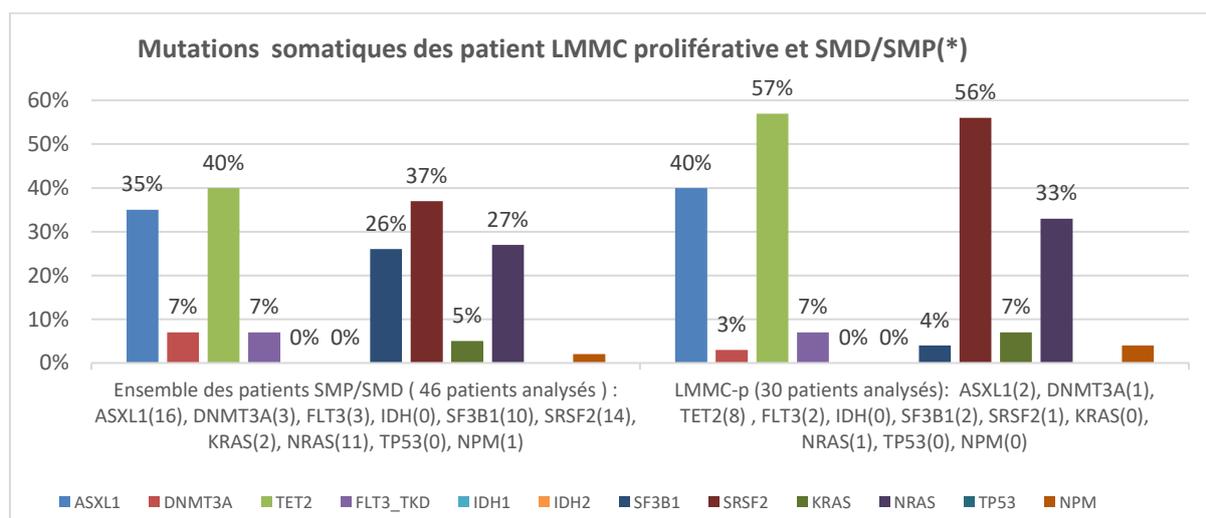
### VIII.4.5.3 Mutations somatiques des groupes de syndrome myéloproliférative/ myélodysplasique (SMP/SMD)

Chez les patients avec SMP/SMD de la cohorte, les mutations somatiques sont fréquentes. Chez 46 patients ayant les examens biomoléculaires, 45 patients (98%) présentent au moins une mutation somatique parmi les mutations *ASXL1*, *DNMT3A*, *TET2*, *FLT3-TKD*, *IDH1*, *IDH2*, *SF3B1*, *SRSF2*, *KRAS*, *NRAS*, *TP53*, *NPM*.

Les mutations les plus fréquemment observées chez ces patients sont *ASXL1*, *TET2*, *SF3B1*, *SRSF2*, *NRAS* respectivement de (35%, 40%, 26%, 37%, 27%). Ces mutations sont notamment plus présentes dans la LMMC (40%, 57%, 4%, 56%, 33% respectivement).

Concernant 9 patients du groupe SMP/SMD-SC-T, 8/9 patients présentent une mutation de *SF3B1*.

**Figure 126 : Répartition des mutations somatiques des patients SMP/SMD de la cohorte**



(\*\*) Les taux des mutations somatiques = nombre patients mutés sur nombre de patients testés, selon le tableau 9

**Tableau 15 : Anomalies biomoléculaires de la SMP/SMD (Tous SMP/SMD, LMMC, SMD-i, SMP/SMD T-RS)**

### Annexe 2 : Fréquence des mutations observé dans les groupes SMP/SMD

	ASXL1	DNMT3A	FLT3_TKD	TET2	IDH1, IDH2	SF3B1	SRSF2	KRAS	NRAS	TP53	NPM
SMD/SMP	16/46	3 /46	3/ 46	10/25	0/46	10/38	14/38	2/41	11/41	0/32	1/45
LMMC-P	12/30	1/30	2/30	8/14	0/30	1/23	13/23	2/27	9/27	0/19	1/28
SMP/SMD-i	2/8	1/8	1/8	2/12	0/8	2/8	1/7	0/8	1/8	0/8	0/7
SMD/SMP-RS-T	2/9	1/9	0/9	0/6	0/9	8/9	0/9	0/6	1/6	0/6	0/9

## VIII.5. Discussion

De nombreuses études se sont intéressées à l'architecture de l'hématopoïèse physiologique et leucémique, tandis que celles portant sur les CSPH et l'hématopoïèse dans les syndromes myéloprolifératifs Philadelphia négatif (SMP phi-) restent encore rares. On peut citer, à titre d'exemple, les travaux de Miyawaki et al. (2017) (53) , Psaila et al. (2020) (241), Ivanov et al. (2023) (245) et Benlabiodet al. (2025) (193).

Notre étude rétrospective, fondée sur des analyses des CSPH de la moelle osseuse des patients atteints de SMP phi-, s'intéresse à ces axes de recherche concernant l'architecture de l'hématopoïèse des SMP phi-.

### VIII.5.1 Les CSPH CD34+

Les CSPH de l'hématopoïèse normale sont très hétérogènes sur les plans phénotypiques, génétiques et fonctionnels. Il est en effet incontestable que cette notion d'hétérogénéité des CSPH et de l'hématopoïèse physiologique est largement étayée par de nombreuses études. Notre étude met en évidence ce caractère hétérogène, présent dans l'architecture des CSPH, notamment en ce qui concerne la SMP phi-, ainsi que dans l'ensemble des autres groupes de patients NMP non LMC de notre cohorte rétrospective. Par analyse cytométrique des CD34+ de la moelle osseuse des différents groupes de patients SMP de la cohorte, on retrouve l'absence de différence pour le taux de CSH CD34+ CD38-, avec une augmentation des progéniteurs CD34+ CD38 faible/intermédiaire et une diminution des progéniteurs CD34+ CD38 fort dans les groupes de patients SMP non LMC.

La similarité des taux de CSH CD34+ CD38- entre les patients SMP phi- et les sujets témoins a déjà été décrite dans la TE par l'étude de Miyawaki et al., et dans la MF par Psaila et al. Dans notre étude, par rapport aux témoins, on observe l'absence de différence significative pour le taux de CSH pour ensemble des patients NPM non LMC et pour les patients MFP. Cela renforce l'argument que le pool de CSH est conservé dans les NMP, même dans un environnement inflammatoire chronique décrit dans les études précédentes.

### VIII.5.2 Biais de lignage mégacaryocytaire dans l'hématopoïèse de myélofibrose

Les résultats de l'étude *single-cell* de Psaila et al. sur les CSH CD34+ proviennent du sang d'aphérèse de donneurs sains (14 patients) et du sang périphérique de patients atteints de myélofibrose (23 patients) porteurs de la mutation JAK2 V617F. En comparaison, notre étude présente l'avantage d'un effectif plus important. En effet, l'analyse par cytométrie en flux a été réalisée sur la moelle osseuse de 49 patients atteints de myélofibrose, et comparée à un groupe témoin composé de 58 patients sans hémopathie maligne et 20 patients avec des moelles réactionnelles.

Si Psaila et al. (2020) ont observé une augmentation des progéniteurs MPP et MPP-Mk CD41+ chez les patients atteints de myélofibrose (MF) porteurs de la mutation JAK2 V617F, notre analyse montre que les MPP-Mk sont significativement plus nombreux, aussi bien chez les patients porteurs de la mutation JAK2 V617F (29 patients) que chez ceux porteurs de la mutation CALR (16 patients). De façon originale, nous observons que le taux de progéniteurs MEP1 CD133+ est significativement augmenté chez les patients MF porteurs des mutations JAK2 ou CALR.

Comme Psaila et al., qui décrivent un biais de lignage mégacaryocytaire précoce dans l'hématopoïèse des patients atteints de myélofibrose (MF) mutés JAK2 V617F, nous suggérons que la différenciation mégacaryocytaire est favorisée dans la MF, aussi bien chez les patients porteurs de la mutation JAK2 V617F que CALR. Dans notre cohorte, ce biais de différenciation est mis en évidence par l'augmentation significative de deux types de progéniteurs immatures à potentiel mégacaryocytaire : les progéniteurs multipotents primés mégacaryocytaires (MPP Mk) et les progéniteurs érythro-mégacaryocytaires CD133+ (MEP1). Cette population cellulaire de lignée mégacaryocytaire mais exprimant le CD133 reste actuellement peu décrite. Elle est plutôt rare dans l'hématopoïèse normale et pourrait conserver un potentiel multipotent plus important.

Enfin, concernant le pool des CSH CD34+CD38-, comme dans l'étude de Psaila et al., nous n'observons pas de différence significative du taux de CSH entre les patients atteints de myélofibrose primitive (MFP) et les patients témoins. Cela témoigne que le pool CSH pourrait être relativement préservé dans la myélofibrose.

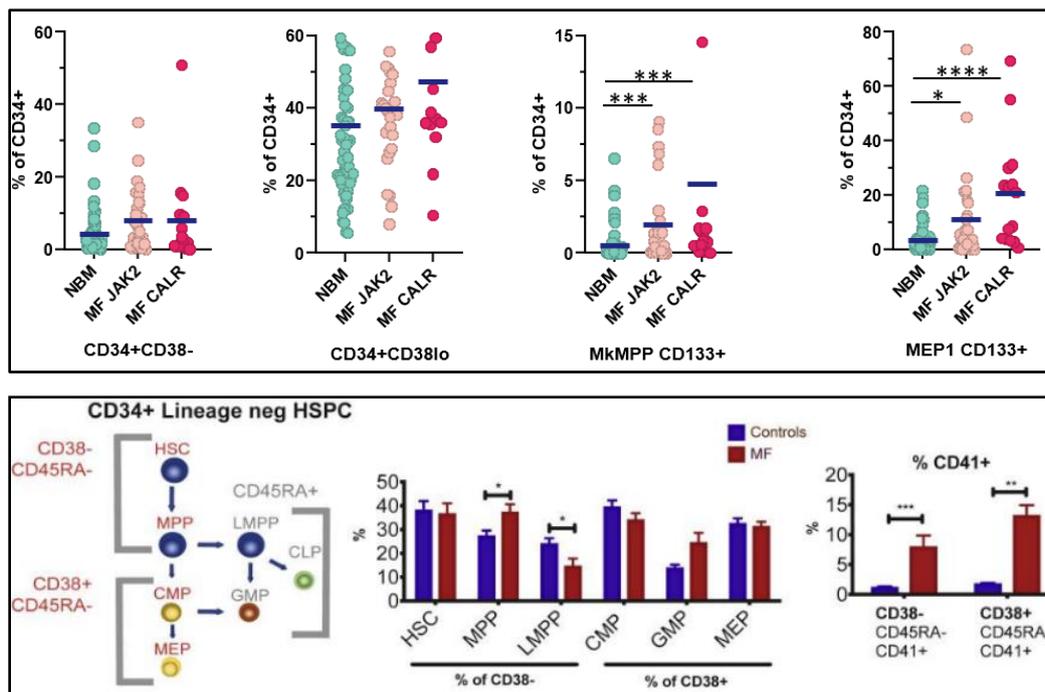


Figure 127 : Les résultat observé chez les patient MF de notre cohorte et dans l'étude de Psaila et al. (2020)

### VIII.5.3 L'amplification de la mégacaryopoïèse dans la TE et la PV

L'étude *single-cell* de Miyawaki et al. concernant l'hématopoïèse des patients atteints de TE (17 patients versus 9 sujets sains) montre une augmentation significative des progéniteurs CMP 41- ainsi qu'une augmentation des MEP, mais il n'y a pas de différence statistiquement significative. Dans notre groupe de TE (18 patients) et notre groupe de PV (11 patients), on observe une augmentation significative des progéniteurs MEP2 CD133<sup>-</sup> par rapport aux témoins. Ces deux observations peuvent servir d'argument supplémentaire pour prouver l'amplification de la mégacaryopoïèse dans la TE et la PV.

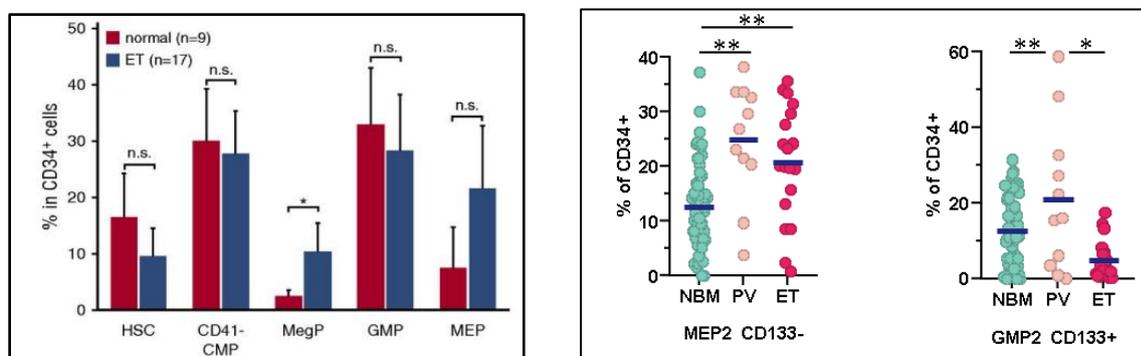


Figure 128 : Les progéniteurs MEP dans la TE de l'étude de Miyawaki et al. et de notre étude

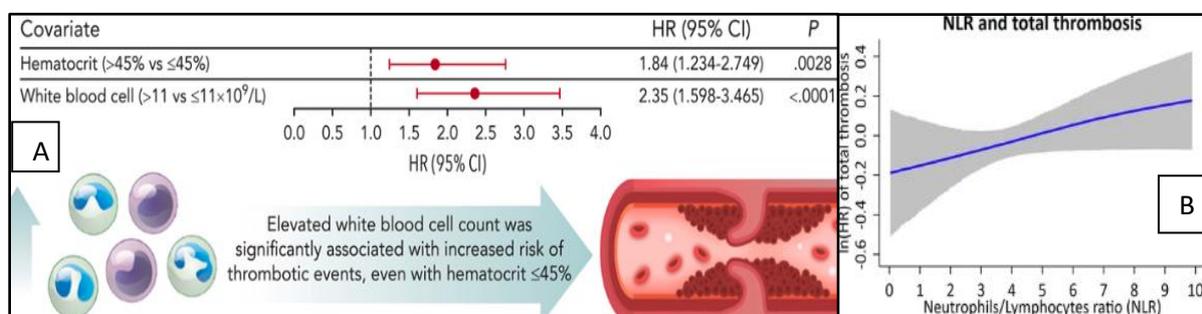
Augmentation des progéniteurs MEP dans la TE observée dans notre étude et celles de Miyawaki et al.

### VIII.5.4 Conditions inflammatoires des SMP phi- et thrombose vasculaire

Dans le but d'analyser la relation entre le syndrome inflammatoire chronique (ou la condition inflammatoire chronique) et le SMP, notamment la survenue de thromboses vasculaires, notre étude est limitée en raison du manque de données biochimiques concernant les marqueurs positifs de l'inflammation, tels que la CRP, le fibrinogène et la ferritine. Malgré l'absence de ces données, nous avons pu utiliser deux autres marqueurs, à savoir l'hyperleucocytose et le ratio neutrophiles/lymphocytes (RNL), en tant qu'indicateurs inflammatoires.

D'ailleurs, le RNL a été identifié dans de nombreuses études, notamment dans une étude à l'échelle de la population américaine menée par Song et al. (2021), comme un marqueur de l'inflammation associé à un surrisque de mortalité et de morbidité (266). Étant donné que la corrélation entre le risque relatif de thrombose vasculaire, le RNL et l'hyperleucocytose > 11 G/L a été démontrée par trois études récentes (Barbui et al., Gerd et al., et Larsen et al., 2024) (122) (129) (130), nous avons également observé une hyperleucocytose et une élévation du RNL chez les patients SMP phi- de notre étude, surtout chez les patients ayant une thrombose vasculaire.

Dans notre étude, chez les patients atteints de SMP phi-, on observe des valeurs moyennes de leucocytes et de RNL élevées, respectivement de 18,06 G/L (IC 95 % : 12,58–30,53) et de 7,65 (IC 95 % : 6,06–9,23). Chez les 29 patients ayant présenté un événement thrombotique (artériel ou veineux), le taux moyen de leucocytes est significativement augmenté, avec une moyenne de 21,56 G/L (IC 95 % : 12,6–30,5) et le ratio RNL moyen chez ces patients thrombosés est de 9,3 (IC 95 % : 5,9–12,6).



**Figure 129 : Risque relatif de thromboses vasculaires selon le NLR et l'hyperleucocytose**

**A :** Le risque relatif de thrombose augmente en présence d'une hyperleucocytose (> 11 G/L) (Gerd et al., *Blood*, 2024).

**B :** L'augmentation du RNL est corrélée proportionnellement à un risque accru de thrombose (Barbui et al., *Nature*, 2024)

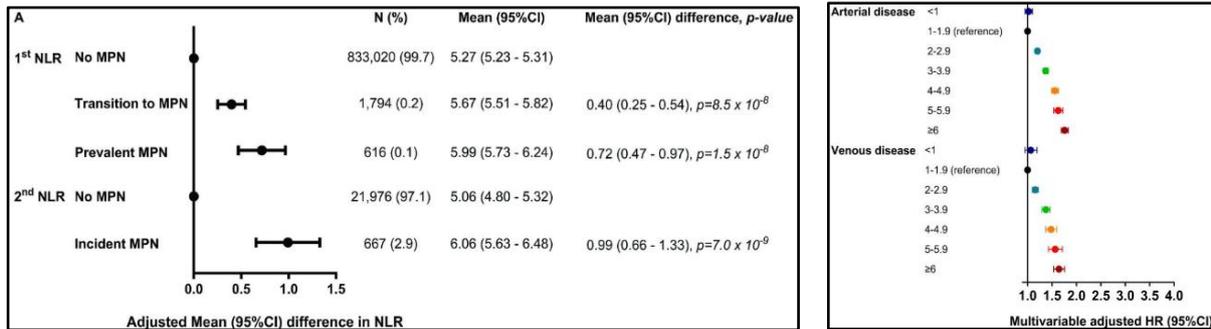


Figure 130 : Étude de la relation entre le ratio NLR et le SMP (Larsen et al., Blood Cancer J., 2024)

Selon une étude à l'échelle de la population danoise, Larsen et al. (2024) montrent que le ratio RNL est significativement plus élevé chez les patients ayant un SMP ou évoluant vers un SMP lors de leur suivi, par rapport aux sujets n'ayant pas de SMP. Augmentation de RNL est d'ailleurs corrélé à augmentation de risque relatif des thromboses vasculaires.

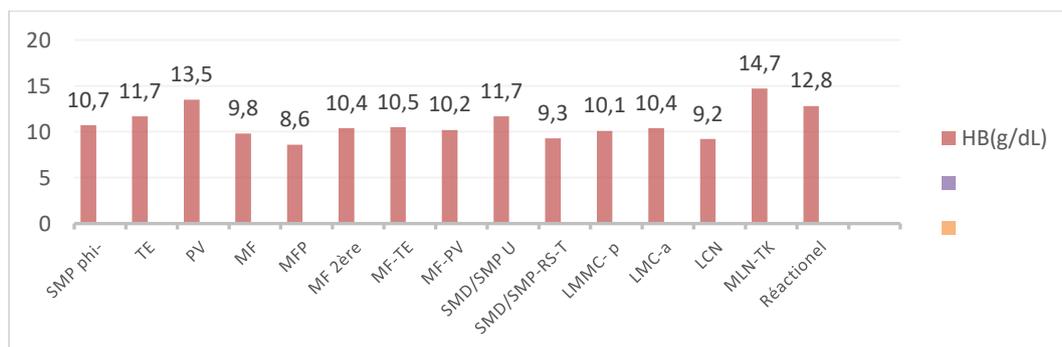
## VIII.5.5 Résultats secondaires

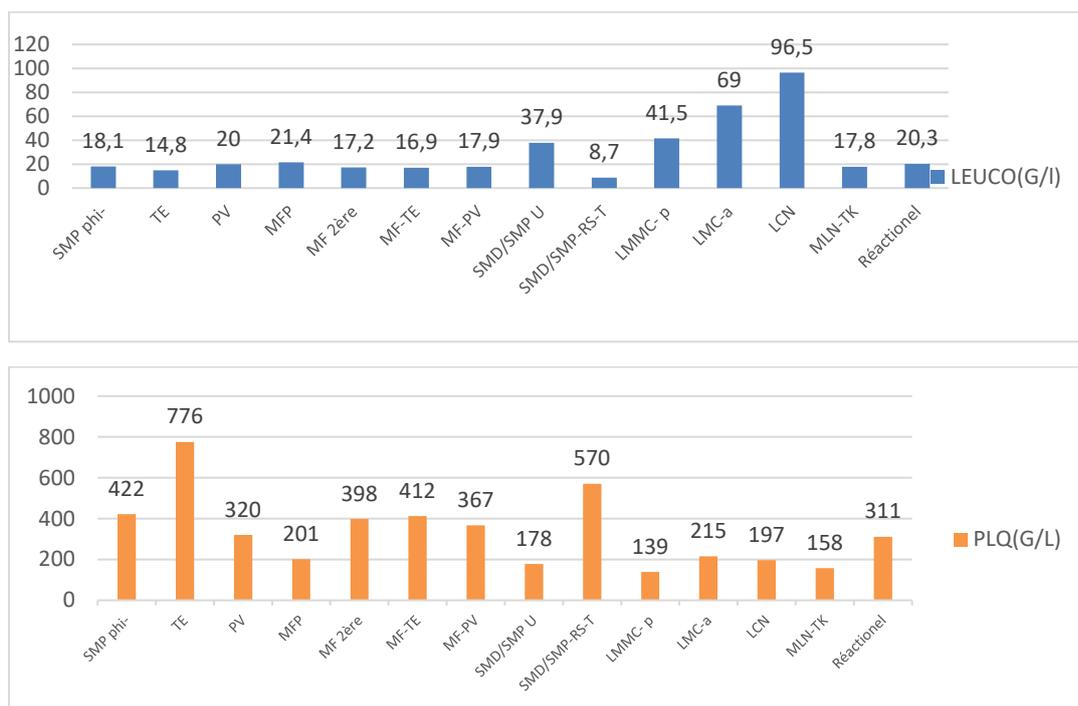
### VIII.5.5.1 Numération et formule sanguine des patients NMP

(La synthèse des valeurs du NFS et du myélogramme de l'ensemble des groupes est détaillée dans la partie annexe (annexe 3 et 4))

Concernant la NFS des patients SMP phi- de notre cohorte, on observe une valeur moyenne d'hémoglobine (Hb) de 10,7 g/dL [IC 95 % : 10,06–11,3], un taux moyen de leucocytes de 18,1 G/L [IC 95 % : 13,9–22,2], et un taux moyen de plaquettes de 422 G/L [IC 95 % : 339–504].

Le groupe des patients atteints de myélofibrose présente le taux moyen d'hémoglobine le plus bas, avec une valeur de 9,77 [IC 95 % : 9,20–10,33] g/dL, tandis que ceux atteints de TE et de PV ont respectivement des valeurs moyennes de 11,73 g/dL [IC 95 % : 10,28–13,18] et 13,52 g/dL [IC 95 % : 12,72–14,31]. La thrombocytose est plus marquée dans le groupe TE, avec une valeur moyenne de 776 G/L [IC 95 % : 545–1007], et de 570 G/l [IC 95 % : 496–643] dans le groupe de SMP/SMD-SC-T.





**Figure 131 : Les valeurs moyennes de NFS des patients NMP**

La synthèse des NFS de l'ensemble des groupes des patients est détaillé dans la partie annexes (annexe 3)

### VIII.5.5.2 L'index de l'anisocytose érythrocytaire (IDR)

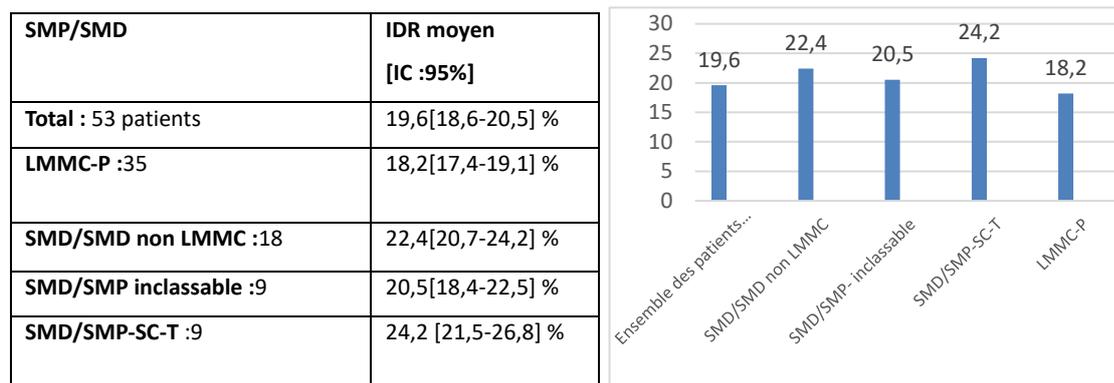
Chez les patients du groupe SMP/SMD, on observe une élévation de l'indice d'anisocytose érythrocytaire (IDR), avec une valeur moyenne de 19,6 [IC 95 % : 18,6–20,5].

Cette augmentation est particulièrement marquée chez les patients atteints de SMP/SMD-SC-T, dont l'IDR moyen atteint 24,2 [IC 95 % : 24,2–26,8].

L'IDR reflète la variation de taille des hématies (anisocytose). Cette anisocytose peut être la conséquence d'anomalies de l'érythropoïèse observées dans les SMD ou les SMP/SMD, mais de manière non spécifique, car il peut également être augmenté dans diverses hémopathies (les hémoglobinopathies tel que les thalassémies), ainsi que dans d'autres contextes (AHAI, carences en fer, en vitamine B9 ou B12, les syndromes inflammatoires).

Ainsi, bien que non spécifique, une IDR élevée pourrait constituer un indice orientant ou un critère d'alerte, notamment en cas de thrombocytose associée à des critères cytologiques de myélodysplasie, en faveur d'un SMP/SMD-SC-T.

**Tableau 16 : Valeur de IDR (Index de l'anisocytose érythrocytaire) des patients SMP/SMD**



### VIII.5.5.3 BOM et myélogramme des NMP

Parmi les 49 patients diagnostiqués avec une myélofibrose, les résultats de la biopsie ostéo-médullaire (BOM) ont pu être récupérés pour 38 d’entre eux. Le grade réticulinique moyen observé est de 2. Les patients atteints de myélofibrose présentent également une densité médullaire diminuée, avec un grade moyen de 1,6 chez les patients atteints de myélofibrose primitive (MFP), et un grade moyen de 2 chez ceux atteints de myélofibrose secondaire. Les résultats du grade réticulinique à la BOM pour les patients atteints des myélofibroses sont détaillés comme suit :

**Tableau 17 : Valeur moyen des grades de la BOM et du myélogramme des patients ayant la myélofibrose.**

BOM(n)	BOM Réalisé	Grade moyen de BOM	Grade 0	Grade 1	Grade 2	Grade 3
MF	38	1,97	0	7	24	7
MFP	14	2,24	0	2	8	4
MF 2ère	24	1,95	0	6	16	2

Myélogramme	Analyse	Grade Moyen (min - max)	Blaste %	Granulocytes %	Erythroblastes %	Mégacaryocyte (Inférieur, rare, absent)	Mégacaryocyte (Normal et Supérieur)
SMP phi-	78	2,2 (0-5)	3,7	60	19,6	40/76	36/76
TE	16	2,6 (1-5)	3,4	61,1	21,7	5/16	11/16
PV	11	2,8 (2-3)	1,8	63,6	22,9	4/11	7/11
MFP	17	1,6 (0-3)	5,7	59,7	14,9	11/17	6/17
MF 2ère	33	2,0 (1-4)	3,3	59,3	20,1	20/33	13/33
MF- PV	11	2,3 (1-4)	2,1	60,4	26,5	6/11	5/11
MF -TE	22	1,9(1-4)	3,9	58,7	16,9	14/22	8/22

### VIII.5.6 Limitation et perspectives

Notre étude présente plusieurs limitations, telles que :

- Le nombre limité de patients dans certains groupes, comme la TE (18 patients) et la PV (11 patients).
- Les patients SMP phi- de notre cohorte sont souvent déjà sous traitement (comme le JAKAVI, l'Hydrea : Hydroxyurée, le Pegasys : Peginterféron alfa-2a, les saignées) avant les analyses de la MO par CMF, ce qui peut impacter les caractères cytologiques et phénotypiques des CSPH, notamment leur répartition dans le compartiment CD34+. Cela peut introduire un biais dans les résultats observés, notamment concernant l'architecture des CSPH des patients SMP phi-.
- De nombreux patients ont manqué de données biomoléculaires, soit parce qu'elles étaient indisponibles ou non réalisées, soit parce qu'elles n'ont pas pu être obtenues pour certaines mutations en raison des différentes techniques utilisées, qui ont évolué entre 2017 et 2025 au CHU de Toulouse (NGS versus autres méthodes), notamment pour les mutations somatiques additionnelles. Cela empêche une analyse exhaustive des données biomoléculaires des groupes de patients.
- Si les études de *Single-cell* avec plusieurs techniques combinées (transcriptionnelles et fonctionnelles) permettent de confirmer le potentiel et la signature génétique des populations de CD34+ triées par CMF, notre étude est privée de ces avantages. Toutefois, ces études sont souvent très coûteuses et difficiles à réaliser lorsque le nombre de patients et le nombre d'hémopathies à étudier sont nombreux.

À partir des bilans médullaires des patients réalisés lors du bilan diagnostique confirmatif (un SMP), différentiel (SMP versus autres hémopathies), ou de suivi, nous avons pu analyser les données en CMF des populations CSPH CD34+ pour plusieurs groupes de patients du SMP et SMP/SMD simultanément. Bien que nous ne parvenions pas à apporter des résultats plus avancés que ceux des études précédentes, nous avons confiance que les futures études de cytométrie en flux pourront fournir des résultats plus détaillés et des connaissances plus approfondies sur l'architecture de l'hématopoïèse dans les NMP.

## IX. Conclusion

Les CSPH de l'hématopoïèse physiologique sont hétérogènes et définissent une architecture dessinée selon les marqueurs utilisés. L'immunophénotypage des cellules souches et des progéniteurs hématopoïétiques CD34<sup>+</sup> de la moelle osseuse des patients inclus dans notre étude rétrospective de 2017 à 2025 a permis de redéfinir cette architecture dans le cadre des SMP phi<sup>-</sup>. L'hétérogénéité observée dans la LMC et les SMP phi<sup>-</sup>, est significativement plus marquée dans le compartiment des progéniteurs immatures CD34<sup>+</sup>CD38 faible, montrant une diversité plus importante des sous-populations hématopoïétiques par rapport aux moelle normales. Elle est moins abaissée dans le compartiment des progéniteurs matures CD34<sup>+</sup>CD38 fort, signifiant une restriction de lignée dans les LMC et SMP phi<sup>-</sup>. On observe également que le taux de CSH CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup> est relativement similaire entre les groupes, ce qui suggère que le pool de CSH pourrait être préservé dans l'environnement pro-inflammatoire caractéristique des SMP.

Les preuves du biais de différenciation mégacaryocytaire précoce des CSPH des SMP phi<sup>-</sup> et de l'amplification de la mégacaryopoïèse ont été rapportées dans des études précédentes. Chez les patients atteints de myélofibrose, inclus dans notre étude, nous observons ce biais mégacaryocytaire, illustré par une augmentation des progéniteurs pluripotents biaisés mégacaryocytaires (Mk-MPP CD133<sup>+</sup>) et la majoration de la différenciation érythro-mégacaryocytaire, avec un taux plus élevé de progéniteurs immatures érythro-mégacaryocytaires CD133<sup>+</sup> (MEP1 CD133<sup>+</sup>). Chez les patients atteints de thrombocytémie essentielle et de polyglobulie de Vaquez, nous observons une augmentation significative des progéniteurs érythro-mégacaryocytaires CD133<sup>-</sup> (MEP2 CD133<sup>-</sup>), apportant ainsi un argument complémentaire du biais de différenciation mégacaryo-érythrocytaire des CSPH CD34<sup>+</sup> dans la TE et la PV. Notre étude souligne aussi la place du CD133 dans l'orientation mégacaryocytaire et son implication dans les pathologies associées.

En conclusion, bien que de nombreuses limites subsistent, notre étude permet de caractériser l'hétérogénéité de l'architecture de l'hématopoïèse des SMP. Elle met également en évidence l'importance de la mégacaryopoïèse dans la TE, la PV et la MFP, ainsi qu'un biais de différenciation mégacaryocytaire précoce dans la MFP associée aux mutations CALR et JAK2 V617F. Nous espérons que les futures recherches en cytométrie en flux permettront d'approfondir

ces observations et d'apporter des nouvelles contributions à la compréhension de l'hémo-  
poïèse et des CSPH dans le contexte des SMP.

~~PR JILL CORRE~~  
~~Unité Génétique du Myélome~~  
IUCT O  
1 avenue Irène Joliot Curie  
31059 TOULOUSE CEDEX 9  
Tél. : 05 31 15 61 73

Toulouse le 10/04/2025



Vu et permis d'imprimer  
La Présidente de l'Université Toulouse  
Faculté de Santé  
Par délégation,  
Le Doyen-Directeur  
Du Département de Médecine, Maïeutique, et Paramédical  
Professeur Thomas GERAERTÉ

## X. Ressources bibliographique

1. Dameshek W. Editorial: Some Speculations on the Myeloproliferative Syndromes. *Blood*. 1 avr 1951;6(4):372-5.
2. Adamson JW, Fialkow PJ, Murphy S, Prchal JF, Steinmann L. Polycythemia Vera: Stem-Cell and Probable Clonal Origin of the Disease. *N Engl J Med*. 21 oct 1976;295(17):913-6.
3. 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.
4. Mascarenhas J, Hoffman R. Ruxolitinib: The First FDA Approved Therapy for the Treatment of Myelofibrosis. *Clin Cancer Res*. 1 juin 2012;18(11):3008-14.
5. Vannucchi AM, Kiladjan JJ, Griesshammer M, Masszi T, Durrant S, Passamonti F, et al. Ruxolitinib versus Standard Therapy for the Treatment of Polycythemia Vera. *N Engl J Med*. 29 janv 2015;372(5):426-35.
6. Jamieson CHM, Gotlib J, Durocher JA, Chao MP, Mariappan MR, Lay M, et al. The JAK2 V617F mutation occurs in hematopoietic stem cells in polycythemia vera and predisposes toward erythroid differentiation. *Proc Natl Acad Sci*. 18 avr 2006;103(16):6224-9.
7. Lundberg P, Takizawa H, Kubovcakova L, Guo G, Hao-Shen H, Dirnhofer S, et al. Myeloproliferative neoplasms can be initiated from a single hematopoietic stem cell expressing JAK2 -V617F. *J Exp Med*. 20 oct 2014;211(11):2213-30.
8. Baron MH, Isern J, Fraser ST. The embryonic origins of erythropoiesis in mammals. *Blood*. 24 mai 2012;119(21):4828-37.
9. Crosse EI, Gordon-Keylock S, Rybtsov S, Binagui-Casas A, Felchle H, Nnadi NC, et al. Multi-layered Spatial Transcriptomics Identify Secretory Factors Promoting Human Hematopoietic Stem Cell Development. *Cell Stem Cell*. nov 2020;27(5):822-839.e8.
10. Calvanese V, Mikkola HKA. The genesis of human hematopoietic stem cells. *Blood*. 10 août 2023;142(6):519-32.
11. Ni Y, You G, Gong Y, Su X, Du Y, Wang X, et al. Human yolk sac-derived innate lymphoid-biased multipotent progenitors emerge prior to hematopoietic stem cell formation. *Dev Cell*. oct 2024;59(19):2626-2642.e6.
12. Zovein AC, Hofmann JJ, Lynch M, French WJ, Turlo KA, Yang Y, et al. Fate Tracing Reveals the Endothelial Origin of Hematopoietic Stem Cells. *Cell Stem Cell*. déc 2008;3(6):625-36.
13. Tavian M, Peault B. Embryonic development of the human hematopoietic system. *Int J Dev Biol*. 2005;49(2-3):243-50.
14. Dzierzak E, Bigas A. Blood Development: Hematopoietic Stem Cell Dependence and Independence. *Cell Stem Cell*. mai 2018;22(5):639-51.
15. Yokomizo T. Hematopoietic cluster formation: an essential prelude to blood cell genesis. *Exp Hematol*. août 2024;136:104284.

16. Gherzi JJ, Baldissera G, Hintzen J, Luff SA, Cheng S, Xia IF, et al. Haematopoietic stem and progenitor cell heterogeneity is inherited from the embryonic endothelium. *Nat Cell Biol.* août 2023;25(8):1135-45.
17. Ivanovs A, Rybtsov S, Welch L, Anderson RA, Turner ML, Medvinsky A. Highly potent human hematopoietic stem cells first emerge in the intraembryonic aorta-gonad-mesonephros region. *J Exp Med.* 21 nov 2011;208(12):2417-27.
18. Société Française d'Hématologie (SFH). Collège d'Hématologie. 5ème édition. ELSEVIER-MASSON; 2024. 432 p. (Les Référentiels des collèges).
19. Godin I, Cumano A. Les cellules souches hématopoïétiques: Une double origine embryonnaire ? *médecine/sciences.* août 2007;23(8-9):681-4.
20. Ghosn E, Yoshimoto M, Nakauchi H, Weissman IL, Herzenberg LA. Hematopoietic stem cell-independent hematopoiesis and the origins of innate-like B lymphocytes. *Development.* 1 août 2019;146(15):dev170571.
21. Orkin SH, Zon LI. Hematopoiesis: An Evolving Paradigm for Stem Cell Biology. *Cell.* févr 2008;132(4):631-44.
22. Zhou F, Li X, Wang W, Zhu P, Zhou J, He W, et al. Tracing haematopoietic stem cell formation at single-cell resolution. *Nature.* 26 mai 2016;533(7604):487-92.
23. Medvinsky A, Dzierzak E. Definitive Hematopoiesis Is Autonomously Initiated by the AGM Region. *Cell.* sept 1996;86(6):897-906.
24. Ng AP, Alexander WS. Haematopoietic stem cells: past, present and future. *Cell Death Discov.* 6 févr 2017;3(1):17002.
25. Boyer SW, Rajendiran S, Beaudin AE, Smith-Berdan S, Muthuswamy PK, Perez-Cunningham J, et al. Clonal and Quantitative In Vivo Assessment of Hematopoietic Stem Cell Differentiation Reveals Strong Erythroid Potential of Multipotent Cells. *Stem Cell Rep.* avr 2019;12(4):801-15.
26. Anjos-Afonso F, Currie E, Palmer HG, Foster KE, Taussig DC, Bonnet D. CD34<sup>+</sup> Cells at the Apex of the Human Hematopoietic Stem Cell Hierarchy Have Distinctive Cellular and Molecular Signatures. *Cell Stem Cell.* août 2013;13(2):161-74.
27. Notta F, Doulatov S, Laurenti E, Poeppl A, Jurisica I, Dick JE. Isolation of Single Human Hematopoietic Stem Cells Capable of Long-Term Multilineage Engraftment. *Science.* 8 juill 2011;333(6039):218-21.
28. Notta F, Zandi S, Takayama N, Dobson S, Gan OI, Wilson G, et al. Distinct routes of lineage development reshape the human blood hierarchy across ontogeny. *Science.* 8 janv 2016;351(6269):aab2116.
29. Sumide K, Matsuoka Y, Kawamura H, Nakatsuka R, Fujioka T, Asano H, et al. A revised road map for the commitment of human cord blood CD34-negative hematopoietic stem cells. *Nat Commun.* 6 juin 2018;9(1):2202.
30. Psaila B, Mead AJ. Single-cell approaches reveal novel cellular pathways for megakaryocyte and erythroid differentiation. *Blood.* 28 mars 2019;133(13):1427-35.

31. Anjos-Afonso F, Bonnet D. Human CD34+ hematopoietic stem cell hierarchy: how far are we with its delineation at the most primitive level? *Blood*. 10 août 2023;142(6):509-18.
32. AbuSamra DB, Aleisa FA, Al-Amoodi AS, Jalal Ahmed HM, Chin CJ, Abuelela AF, et al. Not just a marker: CD34 on human hematopoietic stem/progenitor cells dominates vascular selectin binding along with CD44. *Blood Adv*. 26 déc 2017;1(27):2799-816.
33. Loeffler D, Schneiter F, Wang W, Wehling A, Kull T, Lengerke C, et al. Asymmetric organelle inheritance predicts human blood stem cell fate. *Blood*. 31 mars 2022;139(13):2011-23.
34. Belluschi S, Calderbank EF, Ciaurro V, Pijuan-Sala B, Santoro A, Mende N, et al. Myelo-lymphoid lineage restriction occurs in the human haematopoietic stem cell compartment before lymphoid-primed multipotent progenitors. *Nat Commun*. 5 oct 2018;9(1):4100.
35. Anjos-Afonso F, Buettner F, Mian SA, Rhys H, Perez-Lloret J, Garcia-Albornoz M, et al. Single cell analyses identify a highly regenerative and homogenous human CD34+ hematopoietic stem cell population. *Nat Commun*. 19 avr 2022;13(1):2048.
36. Sonoda Y. Human CD34-negative hematopoietic stem cells: The current understanding of their biological nature. *Exp Hematol*. avr 2021;96:13-26.
37. Zhang YW, Mess J, Aizarani N, Mishra P, Johnson C, Romero-Mulero MC, et al. Hyaluronic acid–GPRC5C signalling promotes dormancy in haematopoietic stem cells. *Nat Cell Biol*. juill 2022;24(7):1038-48.
38. Fares I, Chagraoui J, Lehnertz B, MacRae T, Mayotte N, Tomellini E, et al. EPCR expression marks UM171-expanded CD34+ cord blood stem cells. *Blood*. 22 juin 2017;129(25):3344-51.
39. Akashi K, Traver D, Kondo M, Weissman IL. Lymphoid development from hematopoietic stem cells. *Int J Hematol*. 1999;
40. Akashi K, Traver D, Miyamoto T, Weissman IL. A clonogenic common myeloid progenitor that gives rise to all myeloid lineages. *Nature*. mars 2000;404(6774):193-7.
41. Ye F, Huang W, Guo G. Studying hematopoiesis using single-cell technologies. *J Hematol Oncol* *Int J Hematol Oncol*. déc 2017;10(1):27.
42. Safina K, Van Galen P. New frameworks for hematopoiesis derived from single-cell genomics. *Blood*. 5 sept 2024;144(10):1039-47.
43. Ceredig R, Rolink AG, Brown G. Models of haematopoiesis: seeing the wood for the trees. *Nat Rev Immunol*. avr 2009;9(4):293-300.
44. Liggett LA, Sankaran VG. Unraveling Hematopoiesis through the Lens of Genomics. *Cell*. sept 2020;182(6):1384-400.
45. Velten L, Haas SF, Raffel S, Blaszkiewicz S, Islam S, Hennig BP, et al. Human haematopoietic stem cell lineage commitment is a continuous process. *Nat Cell Biol*. avr 2017;19(4):271-81.
46. Doulatov S, Notta F, Laurenti E, Dick JE. Hematopoiesis: A Human Perspective. *Cell Stem Cell*. févr 2012;10(2):120-36.
47. Katsura Y. Redefinition of lymphoid progenitors. *Nat Rev Immunol*. févr 2002;2(2):127-32.

48. Lu M, Kawamoto H, Katsube Y, Ikawa T, Katsura Y. The Common Myelolymphoid Progenitor: A Key Intermediate Stage in Hemopoiesis Generating T and B Cells. *J Immunol.* 1 oct 2002;169(7):3519-25.
49. Lai AY, Kondo M. Asymmetrical lymphoid and myeloid lineage commitment in multipotent hematopoietic progenitors. *J Exp Med.* 7 août 2006;203(8):1867-73.
50. Doulatov S, Notta F, Eppert K, Nguyen LT, Ohashi PS, Dick JE. Revised map of the human progenitor hierarchy shows the origin of macrophages and dendritic cells in early lymphoid development. *Nat Immunol.* juill 2010;11(7):585-93.
51. Görgens A, Radtke S, Möllmann M, Cross M, Dürig J, Horn PA, et al. Revision of the Human Hematopoietic Tree: Granulocyte Subtypes Derive from Distinct Hematopoietic Lineages. *Cell Rep.* mai 2013;3(5):1539-52.
52. Laurenti E, Göttgens B. From haematopoietic stem cells to complex differentiation landscapes. *Nature.* janv 2018;553(7689):418-26.
53. Miyawaki K, Iwasaki H, Jiromaru T, Kusumoto H, Yurino A, Sugio T, et al. Identification of unipotent megakaryocyte progenitors in human hematopoiesis. *Blood.* 22 juin 2017;129(25):3332-43.
54. Haas S, Hansson J, Klimmeck D, Loeffler D, Velten L, Uckelmann H, et al. Inflammation-Induced Emergency Megakaryopoiesis Driven by Hematopoietic Stem Cell-like Megakaryocyte Progenitors. *Cell Stem Cell.* oct 2015;17(4):422-34.
55. Woolthuis CM, Park CY. Hematopoietic stem/progenitor cell commitment to the megakaryocyte lineage. *Blood.* 10 mars 2016;127(10):1242-8.
56. Yamamoto R, Morita Y, Oechara J, Hamanaka S, Onodera M, Rudolph KL, et al. Clonal Analysis Unveils Self-Renewing Lineage-Restricted Progenitors Generated Directly from Hematopoietic Stem Cells. *Cell.* août 2013;154(5):1112-26.
57. Rodriguez-Fraticelli AE, Wolock SL, Weinreb CS, Panero R, Patel SH, Jankovic M, et al. Clonal analysis of lineage fate in native haematopoiesis. *Nature.* janv 2018;553(7687):212-6.
58. Gekas C, Graf T. CD41 expression marks myeloid-biased adult hematopoietic stem cells and increases with age. *Blood.* 30 mai 2013;121(22):4463-72.
59. Hirschi KK, Nicoli S, Walsh K. Hematopoiesis Lineage Tree Uprooted: Every Cell Is a Rainbow. *Dev Cell.* avr 2017;41(1):7-9.
60. Karamitros D, Stoilova B, Aboukhalil Z, Hamey F, Reinisch A, Samitsch M, et al. Single-cell analysis reveals the continuum of human lympho-myeloid progenitor cells. *Nat Immunol.* janv 2018;19(1):85-97.
61. Catlin SN, Busque L, Gale RE, Guttorp P, Abkowitz JL. The replication rate of human hematopoietic stem cells in vivo. *Blood.* 28 avr 2011;117(17):4460-6.
62. Haas S, Trumpp A, Milsom MD. Causes and Consequences of Hematopoietic Stem Cell Heterogeneity. *Cell Stem Cell.* mai 2018;22(5):627-38.

63. Morita Y, Ema H, Nakauchi H. Heterogeneity and hierarchy within the most primitive hematopoietic stem cell compartment. *J Exp Med*. 7 juin 2010;207(6):1173-82.
64. Jurecic R. Hematopoietic Stem Cell Heterogeneity. In: Birbrair A, éditeur. *Stem Cells Heterogeneity in Different Organs* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2019 [cité 6 janv 2025]. p. 195-211. (*Advances in Experimental Medicine and Biology*; vol. 1169). Disponible sur: [http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-24108-7\\_10](http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-24108-7_10)
65. Wilson NK, Kent DG, Buettner F, Shehata M, Macaulay IC, Calero-Nieto FJ, et al. Combined Single-Cell Functional and Gene Expression Analysis Resolves Heterogeneity within Stem Cell Populations. *Cell Stem Cell*. juin 2015;16(6):712-24.
66. Boulais PE, Frenette PS. Making sense of hematopoietic stem cell niches. *Blood*. 23 avr 2015;125(17):2621-9.
67. Baccin C, Al-Sabah J, Velten L, Helbling PM, Grünschläger F, Hernández-Malmierca P, et al. Combined single-cell and spatial transcriptomics reveal the molecular, cellular and spatial bone marrow niche organization. *Nat Cell Biol*. janv 2020;22(1):38-48.
68. Kwon M, Kim BS, Yoon S, Oh SO, Lee D. Hematopoietic Stem Cells and Their Niche in Bone Marrow. *Int J Mol Sci*. 21 juin 2024;25(13):6837.
69. Brown G. Hematopoietic Stem Cells: Nature and Niche Nurture. *Bioengineering*. 15 mai 2021;8(5):67.
70. Crane GM, Jeffery E, Morrison SJ. Adult haematopoietic stem cell niches. *Nat Rev Immunol*. sept 2017;17(9):573-90.
71. Papa L, Djedaini M, Hoffman R. *Ex vivo* HSC expansion challenges the paradigm of unidirectional human hematopoiesis. *Ann N Y Acad Sci*. avr 2020;1466(1):39-50.
72. Ho TT, Warr MR, Adelman ER, Lansinger OM, Flach J, Verovskaya EV, et al. Autophagy maintains the metabolism and function of young and old stem cells. *Nature*. mars 2017;543(7644):205-10.
73. Zhao HG, Deininger MW. ALWAYS STRESSED BUT NEVER EXHAUSTED: HOW STEM CELLS IN MYELOID NEOPLASMS AVOID EXTINCTION IN INFLAMMATORY CONDITIONS. *Blood*. 22 mars 2023;blood.2022017152.
74. Rahman MFU, Yang Y, Le BT, Dutta A, Posyniak J, Faughnan P, et al. Interleukin-1 contributes to clonal expansion and progression of bone marrow fibrosis in JAK2V617F-induced myeloproliferative neoplasm. *Nat Commun*. 13 sept 2022;13(1):5347.
75. Dykstra B, Olthof S, Schreuder J, Ritsema M, De Haan G. Clonal analysis reveals multiple functional defects of aged murine hematopoietic stem cells. *J Exp Med*. 19 déc 2011;208(13):2691-703.
76. De Haan G, Lazare SS. Aging of hematopoietic stem cells. *Blood*. 1 févr 2018;131(5):479-87.
77. Bernitz JM, Kim HS, MacArthur B, Sieburg H, Moore K. Hematopoietic Stem Cells Count and Remember Self-Renewal Divisions. *Cell*. nov 2016;167(5):1296-1309.e10.

78. Su TY, Hauenstein J, Somuncular E, Dumral Ö, Leonard E, Gustafsson C, et al. Aging is associated with functional and molecular changes in distinct hematopoietic stem cell subsets. *Nat Commun.* 11 sept 2024;15(1):7966.
79. Young K, Eudy E, Bell R, Loberg MA, Stearns T, Sharma D, et al. Decline in IGF1 in the bone marrow microenvironment initiates hematopoietic stem cell aging. *Cell Stem Cell.* août 2021;28(8):1473-1482.e7.
80. Konturek-Ciesla A, Dhapola P, Zhang Q, Säwén P, Wan H, Karlsson G, et al. Temporal multi-modal single-cell profiling of native hematopoiesis illuminates altered differentiation trajectories with age. *Cell Rep.* avr 2023;42(4):112304.
81. Pang WW, Price EA, Sahoo D, Beerman I, Maloney WJ, Rossi DJ, et al. Human bone marrow hematopoietic stem cells are increased in frequency and myeloid-biased with age. *Proc Natl Acad Sci.* 13 déc 2011;108(50):20012-7.
82. Kuranda K, Vargaftig J, De La Rochere P, Dosquet C, Charron D, Bardin F, et al. Age-related changes in human hematopoietic stem/progenitor cells: Aging of human HSC. *Aging Cell.* juin 2011;10(3):542-6.
83. Amoah A, Keller A, Emini R, Hoenicka M, Liebold A, Vollmer A, et al. Aging of human hematopoietic stem cells is linked to changes in Cdc42 activity. *Haematologica.* 14 janv 2021;107(2):393-402.
84. Shin JW, Buxboim A, Spinler KR, Swift J, Christian DA, Hunter CA, et al. Contractile Forces Sustain and Polarize Hematopoiesis from Stem and Progenitor Cells. *Cell Stem Cell.* janv 2014;14(1):81-93.
85. Beckmann J, Scheitza S, Wernet P, Fischer JC, Giebel B. Asymmetric cell division within the human hematopoietic stem and progenitor cell compartment: identification of asymmetrically segregating proteins. *Blood.* 15 juin 2007;109(12):5494-501.
86. Görgens A, Ludwig AK, Möllmann M, Krawczyk A, Dürig J, Hanenberg H, et al. Multipotent Hematopoietic Progenitors Divide Asymmetrically to Create Progenitors of the Lymphomyeloid and Erythromyeloid Lineages. *Stem Cell Rep.* déc 2014;3(6):1058-72.
87. Inaba M, Yamashita YM. Asymmetric Stem Cell Division: Precision for Robustness. *Cell Stem Cell.* oct 2012;11(4):461-9.
88. Raj A, Van Oudenaarden A. Nature, Nurture, or Chance: Stochastic Gene Expression and Its Consequences. *Cell.* oct 2008;135(2):216-26.
89. Dreiwil H, Feliciangeli F, Castro M, Lythe G, Molina-París C, López-García M. Stochastic journeys of cell progenies through compartments and the role of self-renewal, symmetric and asymmetric division. *Sci Rep.* 15 juill 2024;14(1):16287.
90. Nunes J, Loeffler D. Asymmetric cell division of hematopoietic stem cells: recent advances, emerging concepts, and future perspectives. *Front Hematol.* 26 mars 2024;3:1373554.
91. Hughes MR, Canals Hernaez D, Cait J, Refaeli I, Lo BC, Roskelley CD, et al. A sticky wicket: Defining molecular functions for CD34 in hematopoietic cells. *Exp Hematol.* juin 2020;86:1-14.
92. Loeffler D, Wehling A, Schneiter F, Zhang Y, Müller-Böttcher N, Hoppe PS, et al. Asymmetric

- lysosome inheritance predicts activation of haematopoietic stem cells. *Nature*. 19 sept 2019;573(7774):426-9.
93. Chagraoui J, Lehnertz B, Girard S, Spinella JF, Fares I, Tomellini E, et al. UM171 induces a homeostatic inflammatory-detoxification response supporting human HSC self-renewal. *Vinci MC, éditeur. PLOS ONE*. 8 nov 2019;14(11):e0224900.
  94. Komic H, Schmachtel T, Simoes C, Külp M, Yu W, Jolly A, et al. Continuous map of early hematopoietic stem cell differentiation across human lifetime. *Nat Commun*. 7 mars 2025;16(1):2287.
  95. Sanjuan-Pla A, Macaulay IC, Jensen CT, Woll PS, Luis TC, Mead A, et al. Platelet-biased stem cells reside at the apex of the haematopoietic stem-cell hierarchy. *Nature*. oct 2013;502(7470):232-6.
  96. Psaila B, Barkas N, Iskander D, Roy A, Anderson S, Ashley N, et al. Single-cell profiling of human megakaryocyte-erythroid progenitors identifies distinct megakaryocyte and erythroid differentiation pathways. *Genome Biol*. déc 2016;17(1):83.
  97. Khoury JD, Solary E, Ablu O, Akkari Y, Alaggio R, Apperley JF, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms. *Leukemia*. juill 2022;36(7):1703-19.
  98. Sureau L, Buors C, Ianotto JC, Boyer F, Tanguy-Schmidt A, Roy L, et al. JAK2 V617F polycythemia vera and essential thrombocythemia: dynamic clinical features associated with long-term outcomes. *Blood Cancer J*. 8 avr 2022;12(4):56.
  99. Tremblay D, Yacoub A, Hoffman R. Overview of Myeloproliferative Neoplasms. *Hematol Oncol Clin North Am*. avr 2021;35(2):159-76.
  100. PLO I. Physiopathologie des néoplasmes myéloprolifératifs classiques. *Horiz Hémato*. sept 2017;Volume 07 // Numéro 03(DOSSIER : NÉOPLASIES MYÉLOPROLIFÉRATIVES (NMP) : LES AVANCÉES):103,104.
  101. Casadevall N. Il y a 10 ans, la révolution dans les syndromes myéloprolifératifs. *Horizons Hémato*. juin 2019;Volume 09 // Numéro 02(DOSSIER : « TOUR D'HORIZON DE L'HÉMATOLOGIE EN 2019 »):70,71,72.
  102. Gautier Defossez, Sandra Le Guyader-Peyrou, Zoé Uhry. Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine entre 1990 et 2018. *u Plan Cancer 2014-2019*,. 2019. Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine entre 1990 et 2018. *u Plan Cancer 2014-2019*,. Disponible sur: [https://www.onco-rif.fr/wp-content/uploads/2019/07/Synthese\\_Estimations-nationales-incidence-et-mortalite-par-cancer\\_juillet\\_2019.pdf#:~:text=Outre%20des%20%C3%A9l%C3%A9ments%20de%20m%C3%A9thodologie%2C%20ce%20document%20pr%C3%A9sente,%C2%BB%2C%20les%20tumeurs%20solides%20et%20les%20h%C3%A9mopathies%20malignes](https://www.onco-rif.fr/wp-content/uploads/2019/07/Synthese_Estimations-nationales-incidence-et-mortalite-par-cancer_juillet_2019.pdf#:~:text=Outre%20des%20%C3%A9l%C3%A9ments%20de%20m%C3%A9thodologie%2C%20ce%20document%20pr%C3%A9sente,%C2%BB%2C%20les%20tumeurs%20solides%20et%20les%20h%C3%A9mopathies%20malignes).
  103. Guglielmelli P, Pacilli A, Rotunno G, Rumi E, Rosti V, Delaini F, et al. Presentation and outcome of patients with 2016 WHO diagnosis of prefibrotic and overt primary myelofibrosis. *Blood*. 15 juin 2017;129(24):3227-36.
  104. Carobbio A, Vannucchi AM, Rumi E, De Stefano V, Rambaldi A, Carli G, et al. Survival expecta-

- tion after thrombosis and overt-myelofibrosis in essential thrombocythemia and prefibrotic myelofibrosis: a multistate model approach. *Blood Cancer J.* 28 juill 2023;13(1):115.
105. Mounier MorganeMorgane, Cornet Edouard,. Survie des personnes atteintes de cancer en France métropolitaine 1989-2018 - Syndromes myéloprolifératifs chroniques autre que la Leucémie myéloïde chronique [Internet]. 2021. Disponible sur: <https://www.santepublique-france.fr/docs/survie-des-personnes-atteintes-de-cancer-en-france-metropolitaine-1989-2018-syndromes-myeloproliferatifs-chroniques-autre-que-la-leucemie-myeloid>
  106. Hofmann I. Myeloproliferative neoplasms in children. *J Hematop.* sept 2015;8(3):143-57.
  107. Fu R, Zhang L, Yang R. Paediatric essential thrombocythaemia: clinical and molecular features, diagnosis and treatment. *Br J Haematol.* nov 2013;163(3):295-302.
  108. Hasle H. Incidence of essential thrombocythaemia in children. *Br J Haematol.* sept 2000;110(3):751-751.
  109. Teofili L, Foa R, Giona F, Larocca LM. Childhood polycythemia vera and essential thrombocythemia: does their pathogenesis overlap with that of adult patients? *Haematologica.* 1 févr 2008;93(2):169-72.
  110. Giona F, Teofili L, Moleti ML, Martini M, Palumbo G, Amendola A, et al. Thrombocythemia and polycythemia in patients younger than 20 years at diagnosis: clinical and biologic features, treatment, and long-term outcome. *Blood.* 8 mars 2012;119(10):2219-27.
  111. Sandra Le Guyader-Peyrou, Gautier Defossez. Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine entre 1990 et 2018 - Volume 2 : Hémopathies malignes : Étude à partir des registres des cancers du réseau Francim. *Santé Publique France* [Internet]. juill 2019; Disponible sur: <https://www.santepubliquefrance.fr/docs/estimations-nationales-de-l-incidence-et-de-la-mortalite-par-cancer-en-france-metropolitaine-entre-1990-et-2018-volume-2-hemopathies-malignes>
  112. Sandra Le Guyader-Peyrou, Gautier Defossez, Emmanuelle Dantony. Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine entre 1990 et 2018 - Hémopathies malignes : Étude à partir des registres des cancers du réseau Francim [Internet]. 2019. Disponible sur: <https://www.santepubliquefrance.fr/docs/estimations-nationales-de-l-incidence-et-de-la-mortalite-par-cancer-en-france-metropolitaine-entre-1990-et-2018-volume-2-hemopathies-malignes>
  113. Gautier Defossez, Sandra Le Guyader-Peyro. *Santé publique France. Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine entre 1990 et 2018 : étude à partir des registres des cancers du réseau Francim. Résultats préliminaires.* 2019.
  114. Cornet É. *Santé public France. Survie des personnes atteintes de cancer en France métropolitaine 1989-2018 - Syndromes myéloprolifératifs chroniques autres que leucémie myéloïde chronique, polyglobulie de Vaquez.* Disponible sur: <https://www.santepubliquefrance.fr/content/download/339899/3009987?version=1>
  115. Morgane Mounier, Edouard Cornet. Survie des personnes atteintes de cancer en France métropolitaine 1989-2018 - Syndromes myéloprolifératifs chroniques autres que leucémie myéloïde chronique - Thrombocytémie essentielle [Internet]. 2021. Disponible sur: <https://www.santepubliquefrance.fr/docs/survie-des-personnes-atteintes-de-cancer-en-france-metropolitaine-1989-2018-syndromes-myeloproliferatifs-chroniques-autres-que-leucemie-myeloide3>

116. Edouard Cornet, Marc Maynadié. *Survie des personnes atteintes de cancer en France métropolitaine 1989-2018 - Leucémie myélomonocytaire chronique et autres syndromes myélodysplasique / syndromes myéloprolifératifs* [Internet]. 2021. Disponible sur: <https://www.santepublique-france.fr/docs/survie-des-personnes-atteintes-de-cancer-en-france-metropolitaine-1989-2018-leucemie-myelomonocytaire-chronique-et-autres-syndromes-myelodysplasi>
117. Rungjirajittranon T, Owattanapanich W, Ungprasert P, Siritanaratkul N, Ruchutrakool T. A systematic review and meta-analysis of the prevalence of thrombosis and bleeding at diagnosis of Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms. *BMC Cancer*. déc 2019;19(1):184.
118. Hultcrantz M, Björkholm M, Dickman PW, Landgren O, Derolf ÅR, Kristinsson SY, et al. Risk for Arterial and Venous Thrombosis in Patients With Myeloproliferative Neoplasms: A Population-Based Cohort Study. *Ann Intern Med*. 6 mars 2018;168(5):317.
119. Pasquer H, Daltro De Oliveira R, Vasseur L, Soret-Dulphy J, Maslah N, Zhao LP, et al. Distinct clinico-molecular arterial and venous thrombosis scores for myeloproliferative neoplasms risk stratification. *Leukemia*. févr 2024;38(2):326-39.
120. Hasselbalch HC, Elvers M, Schafer AI. The pathobiology of thrombosis, microvascular disease, and hemorrhage in the myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 22 avr 2021;137(16):2152-60.
121. Barbui T, Carobbio A, Thiele J, Gangat N, Rumi E, Rambaldi A, et al. The impact of thrombosis on probabilities of death and disease progression in polycythemia vera: a multistate transition analysis of 1,545 patients. *Blood Cancer J*. 15 déc 2023;13(1):187.
122. Barbui T, Ghirardi A, Carobbio A, De Stefano V, Rambaldi A, Tefferi A, et al. Thrombosis in myeloproliferative neoplasms: a viewpoint on its impact on myelofibrosis, mortality, and solid tumors. *Blood Cancer J*. 25 oct 2024;14(1):188.
123. Adams BD, Baker R, Lopez JA, Spencer S. Myeloproliferative Disorders and the Hyperviscosity Syndrome. *Hematol Oncol Clin North Am*. juin 2010;24(3):585-602.
124. Kelliher S, Falanga A. Thrombosis in myeloproliferative neoplasms: A clinical and pathophysiological perspective. *Thromb Update*. déc 2021;5:100081.
125. Barbui T, Vannucchi AM, Buxhofer-Ausch V, De Stefano V, Betti S, Rambaldi A, et al. Practice-relevant revision of IPSET-thrombosis based on 1019 patients with WHO-defined essential thrombocythemia. *Blood Cancer J*. 27 nov 2015;5(11):e369-e369.
126. Reeves BN, Beckman JD. Novel Pathophysiological Mechanisms of Thrombosis in Myeloproliferative Neoplasms. *Curr Hematol Malig Rep*. juin 2021;16(3):304-13.
127. Schafer AI, Mann DL. Thrombotic, Cardiovascular, and Microvascular Complications of Myeloproliferative Neoplasms and Clonal Hematopoiesis (CHIP): A Narrative Review. *J Clin Med*. 12 oct 2024;13(20):6084.
128. Bellosillo B, Doubek M, Tomuleasa C, Griesshammer M, Marchetti M, Sacha T, et al. JAK2 mutations in polycythemia vera: from molecular origins to inflammatory pathways and clinical implications. *Memo - Mag Eur Med Oncol*. janv 2025;17(S4):79-93.
129. Larsen MK, Skov V, Kjær L, Eickhardt-Dalbøge CS, Knudsen TA, Kristiansen MH, et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio and all-cause mortality with and without myeloproliferative neoplasms—a Danish longitudinal study. *Blood Cancer J*. 9 févr 2024;14(1):28.

130. Gerds AT, Mesa R, Burke JM, Grunwald MR, Stein BL, Squier P, et al. Association between elevated white blood cell counts and thrombotic events in polycythemia vera: analysis from REVEAL. *Blood*. 18 avr 2024;143(16):1646-55.
131. Carobbio A, Thiele J, Passamonti F, Rumi E, Ruggeri M, Rodeghiero F, et al. Risk factors for arterial and venous thrombosis in WHO-defined essential thrombocythemia: an international study of 891 patients. *Blood*. 2 juin 2011;117(22):5857-9.
132. Mancuso S, Accurso V, Santoro M, Raso S, Contrino AD, Perez A, et al. The Essential Thrombocythemia, Thrombotic Risk Stratification, and Cardiovascular Risk Factors. *Adv Hematol*. 27 mars 2020;2020:1-5.
133. Garçon L, Perrot A. *Hématologie*. 5e éd. Issy-les-Moulineaux: Elsevier Masson; 2024. (Les référentiels des collèges).
134. Tefferi A, Barbui T. Polycythemia vera: 2024 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol*. sept 2023;98(9):1465-87.
135. 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.
136. Mesa RA, Schwager S, Huang J, Pardanani AD, Hussein K, Camoriano J, et al. Weight Loss, Splenomegaly, and Hypocholesterolemia in Myeloproliferative Neoplasms: Patterns and Relevance from the Pre JAK2 Inhibitor Era. *Blood*. 20 nov 2009;114(22):3918-3918.
137. Szuber N, Vallapureddy RR, Penna D, Lasho TL, Finke C, Hanson CA, et al. Myeloproliferative neoplasms in the young: Mayo Clinic experience with 361 patients age 40 years or younger. *Am J Hematol*. déc 2018;93(12):1474-84.
138. Ng ZY, Fuller KA, Mazza-Parton A, Erber WN. Morphology of myeloproliferative neoplasms. *Int J Lab Hematol*. juin 2023;45(S2):59-70.
139. Tefferi A, Vannucchi AM, Barbui T. Essential thrombocythemia: 2024 update on diagnosis, risk stratification, and management. *Am J Hematol*. avr 2024;99(4):697-718.
140. Szuber N, Mudireddy M, Nicolosi M, Penna D, Vallapureddy RR, Lasho TL, et al. 3023 Mayo Clinic Patients With Myeloproliferative Neoplasms: Risk-Stratified Comparison of Survival and Outcomes Data Among Disease Subgroups. *Mayo Clin Proc*. avr 2019;94(4):599-610.
141. Passamonti F, Thiele J, Girodon F, Rumi E, Carobbio A, Gisslinger H, et al. A prognostic model to predict survival in 867 World Health Organization–defined essential thrombocythemia at diagnosis: a study by the International Working Group on Myelofibrosis Research and Treatment. *Blood*. 9 août 2012;120(6):1197-201.
142. Tefferi A, Gangat N, Loscocco GG, Guglielmelli P, Szuber N, Pardanani A, et al. Essential Thrombocythemia: A Review. *JAMA*. 25 févr 2025;333(8):701.
143. Edouard Cornet, Marc Maynadié. *Santé public France*. 2021. Survie des personnes atteintes de cancer en France métropolitaine 1989-2018 - Syndromes myéloprolifératifs chroniques autres que leucémie myéloïde chronique, Myélofibrose primitive. Disponible sur: <https://www.santepubliquefrance.fr/docs/survie-des-personnes-atteintes-de-cancer-en-france-metropolitaine-1989-2018-syndromes-myeloproliferatifs-chroniques-autres-que-leucemie-myeloide2>

144. Takenaka K, Shimoda K, Uchida N, Shimomura T, Nagafuji K, Kondo T, et al. Clinical features and outcomes of patients with primary myelofibrosis in Japan: report of a 17-year nationwide survey by the Idiopathic Disorders of Hematopoietic Organs Research Committee of Japan. *Int J Hematol.* janv 2017;105(1):59-69.
145. Arber DA, Orazi A, Hasserjian RP, Borowitz MJ, Calvo KR, Kvasnicka HM, et al. International Consensus Classification of Myeloid Neoplasms and Acute Leukemias: integrating morphologic, clinical, and genomic data. *Blood.* 15 sept 2022;140(11):1200-28.
146. the Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro Gruppo Italiano Malattie Mieloproliferative Investigators, Rumi E, Boveri E, Bellini M, Pietra D, Ferretti VV, et al. Clinical course and outcome of essential thrombocythemia and prefibrotic myelofibrosis according to the revised WHO 2016 diagnostic criteria. *Oncotarget.* 24 nov 2017;8(60):101735-44.
147. Vallapureddy RR, Mudireddy M, Penna D, Lasho TL, Finke CM, Hanson CA, et al. Leukemic transformation among 1306 patients with primary myelofibrosis: risk factors and development of a predictive model. *Blood Cancer J.* 25 janv 2019;9(2):12.
148. Baade PD, Ross DM, Anderson LA, Forsyth C, Fritschi L. Changing incidence of myeloproliferative neoplasms in Australia, 2003-2014. *Am J Hematol [Internet].* avr 2019 [cité 25 janv 2025];94(4). Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ajh.25407>
149. Htun HL, Lian W, Wong J, Tan EJ, Foo LL, Ong KH, et al. Classic myeloproliferative neoplasms in Singapore: A population-based study on incidence, trends, and survival from 1968 to 2017. *Cancer Epidemiol.* août 2022;79:102175.
150. Verstovsek S, Yu J, Scherber RM, Verma S, Dieyi C, Chen CC, et al. Changes in the incidence and overall survival of patients with myeloproliferative neoplasms between 2002 and 2016 in the United States. *Leuk Lymphoma.* 23 févr 2022;63(3):694-702.
151. Breccia M, Palandri F, Polverelli N, Caira M, Berluti M, Palumbo GA, et al. Epidemiology and disease characteristics of myelofibrosis: a comparative analysis between Italy and global perspectives. *Front Oncol.* 24 juill 2024;14:1382872.
152. Passamonti F, Giorgino T, Mora B, Guglielmelli P, Rumi E, Maffioli M, et al. A clinical-molecular prognostic model to predict survival in patients with post polycythemia vera and post essential thrombocythemia myelofibrosis. *Leukemia.* déc 2017;31(12):2726-31.
153. Passamonti F, Cervantes F, Vannucchi AM, Morra E, Rumi E, Pereira A, et al. A dynamic prognostic model to predict survival in primary myelofibrosis: a study by the IWG-MRT (International Working Group for Myeloproliferative Neoplasms Research and Treatment). *Blood.* 4 mars 2010;115(9):1703-8.
154. Tefferi A, Guglielmelli P, Larson DR, Finke C, Wassie EA, Pieri L, et al. Long-term survival and blast transformation in molecularly annotated essential thrombocythemia, polycythemia vera, and myelofibrosis. *Blood.* 16 oct 2014;124(16):2507-13.
155. Shahin OA, Chifotides HT, Bose P, Masarova L, Verstovsek S. Accelerated Phase of Myeloproliferative Neoplasms. *Acta Haematol.* 2021;144(5):484-99.
156. Tefferi A, Alkhateeb H, Gangat N. Blast phase myeloproliferative neoplasm: contemporary review and 2024 treatment algorithm. *Blood Cancer J.* 18 juill 2023;13(1):108.

157. Passamonti F, Rumi E, Arcaini L, Boveri E, Elena C, Pietra D, et al. Prognostic factors for thrombosis, myelofibrosis, and leukemia in essential thrombocythemia: a study of 605 patients. *Haematologica*. 11 sept 2008;93(11):1645-51.
158. Barbui T, Thiele J, Passamonti F, Rumi E, Boveri E, Ruggeri M, et al. Survival and Disease Progression in Essential Thrombocythemia Are Significantly Influenced by Accurate Morphologic Diagnosis: An International Study. *J Clin Oncol*. 10 août 2011;29(23):3179-84.
159. Elena C, Galli A, Such E, Meggendorfer M, Germing U, Rizzo E, et al. Integrating clinical features and genetic lesions in the risk assessment of patients with chronic myelomonocytic leukemia. *Blood*. 8 sept 2016;128(10):1408-17.
160. Patnaik MM, Tefferi A. Chronic myelomonocytic leukemia: 2024 update on diagnosis, risk stratification and management. *Am J Hematol*. juin 2024;99(6):1142-65.
161. Itzykson R, Santini V, Thepot S, Ades L, Chaffaut C, Giagounidis A, et al. Decitabine Versus Hydroxyurea for Advanced Proliferative Chronic Myelomonocytic Leukemia: Results of a Randomized Phase III Trial Within the EMSCO Network. *J Clin Oncol*. 1 avr 2023;41(10):1888-97.
162. Nolwenn L. Les syndromes myéloprolifératifs / myélodysplasiques. *Horiz Hémato*. sept 2017;Volume 07 // Numéro 03:120-2.
163. Passamonti F, Cervantes F, Vannucchi AM, Morra E, Rumi E, Pereira A, et al. A dynamic prognostic model to predict survival in primary myelofibrosis: a study by the IWG-MRT (International Working Group for Myeloproliferative Neoplasms Research and Treatment). *Blood*. 4 mars 2010;115(9):1703-8.
164. Gangat N, Caramazza D, Vaidya R, George G, Begna K, Schwager S, et al. DIPSS Plus: A Refined Dynamic International Prognostic Scoring System for Primary Myelofibrosis That Incorporates Prognostic Information From Karyotype, Platelet Count, and Transfusion Status. *J Clin Oncol*. 1 févr 2011;29(4):392-7.
165. Vannucchi AM, Lasho TL, Guglielmelli P, Biamonte F, Pardanani A, Pereira A, et al. Mutations and prognosis in primary myelofibrosis. *Leukemia*. sept 2013;27(9):1861-9.
166. Tefferi A, Finke CM, Lasho TL, Hanson CA, Ketterling RP, Gangat N, et al. U2AF1 mutation types in primary myelofibrosis: phenotypic and prognostic distinctions. *Leukemia*. oct 2018;32(10):2274-8.
167. Tefferi A, Nicolosi M, Mudireddy M, Lasho TL, Gangat N, Begna KH, et al. Revised cytogenetic risk stratification in primary myelofibrosis: analysis based on 1002 informative patients. *Leukemia*. mai 2018;32(5):1189-99.
168. Rumi E, Pietra D, Pascutto C, Guglielmelli P, Martínez-Trillos A, Casetti I, et al. Clinical effect of driver mutations of JAK2, CALR, or MPL in primary myelofibrosis. *Blood*. 14 août 2014;124(7):1062-9.
169. Guglielmelli P, Lasho TL, Rotunno G, Mudireddy M, Mannarelli C, Nicolosi M, et al. MIPSS70: Mutation-Enhanced International Prognostic Score System for Transplantation-Age Patients With Primary Myelofibrosis. *J Clin Oncol*. 1 févr 2018;36(4):310-8.
170. Tefferi A, Guglielmelli P, Nicolosi M, Mannelli F, Mudireddy M, Bartalucci N, et al. GIPSS: genetically inspired prognostic scoring system for primary myelofibrosis. *Leukemia*. juill

2018;32(7):1631-42.

171. Tefferi A, Guglielmelli P, Lasho TL, Gangat N, Ketterling RP, Pardanani A, et al. MIPSS70+ Version 2.0: Mutation and Karyotype-Enhanced International Prognostic Scoring System for Primary Myelofibrosis. *J Clin Oncol*. 10 juin 2018;36(17):1769-70.
172. Gagelmann N, Ditschkowski M, Bogdanov R, Bredin S, Robin M, Cassinat B, et al. Comprehensive clinical-molecular transplant scoring system for myelofibrosis undergoing stem cell transplantation. *Blood*. 16 mai 2019;133(20):2233-42.
173. Tefferi A, Mudireddy M, Mannelli F, Begna KH, Patnaik MM, Hanson CA, et al. Blast phase myeloproliferative neoplasm: Mayo-AGIMM study of 410 patients from two separate cohorts. *Leukemia*. mai 2018;32(5):1200-10.
174. Kennedy JA, Atenafu EG, Messner HA, Craddock KJ, Brandwein JM, Lipton JH, et al. Treatment outcomes following leukemic transformation in Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 4 avr 2013;121(14):2725-33.
175. Lussana F, Rambaldi A, Finazzi MC, Van Biezen A, Scholten M, Oldani E, et al. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with polycythemia vera or essential thrombocythemia transformed to myelofibrosis or acute myeloid leukemia: a report from the MPN Subcommittee of the Chronic Malignancies Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Haematologica*. 1 mai 2014;99(5):916-21.
176. Patel AA, Yoon JJ, Johnston H, Davidson MB, Shallis RM, Chen EC, et al. Treatment approach and outcomes of patients with accelerated/blast-phase myeloproliferative neoplasms in the current era. *Blood Adv*. 9 juill 2024;8(13):3468-77.
177. Luque Paz D, Kralovics R, Skoda RC. Genetic basis and molecular profiling in myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 20 avr 2023;141(16):1909-21.
178. Vainchenker W, Kralovics R. Genetic basis and molecular pathophysiology of classical myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 9 févr 2017;129(6):667-79.
179. Szybinski J, Meyer SC. Genetics of Myeloproliferative Neoplasms. *Hematol Oncol Clin North Am*. avr 2021;35(2):217-36.
180. Lundberg P, Karow A, Nienhold R, Looser R, Hao-Shen H, Nissen I, et al. Clonal evolution and clinical correlates of somatic mutations in myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 3 avr 2014;123(14):2220-8.
181. Dupont S, Massé A, James C, Teyssandier I, Lécluse Y, Larbret F, et al. The JAK2 617V>F mutation triggers erythropoietin hypersensitivity and terminal erythroid amplification in primary cells from patients with polycythemia vera. *Blood*. 1 août 2007;110(3):1013-21.
182. Pikman Y, Lee BH, Mercher T, McDowell E, Ebert BL, Gozo M, et al. MPLW515L Is a Novel Somatic Activating Mutation in Myelofibrosis with Myeloid Metaplasia. *Sawyers C, éditeur. PLoS Med*. 18 juill 2006;3(7):e270.
183. 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.

184. Defour JP, Chachoua I, Pecquet C, Constantinescu SN. Oncogenic activation of MPL/thrombopoietin receptor by 17 mutations at W515: implications for myeloproliferative neoplasms. *Leukemia*. mai 2016;30(5):1214-6.
185. Chachoua I, Pecquet C, El-Khoury M, Nivarthi H, Albu RI, Marty C, et al. Thrombopoietin receptor activation by myeloproliferative neoplasm associated calreticulin mutants. *Blood*. 10 mars 2016;127(10):1325-35.
186. Balligand T, Achouri Y, Pecquet C, Chachoua I, Nivarthi H, Marty C, et al. Pathologic activation of thrombopoietin receptor and JAK2-STAT5 pathway by frameshift mutants of mouse calreticulin. *Leukemia*. août 2016;30(8):1775-8.
187. Vadeikienė R, Jakštys B, Laukaitienė D, Šatkauskas S, Juozaitytė E, Ugenskienė R. The Role of Mutated Calreticulin in the Pathogenesis of BCR-ABL1-Negative Myeloproliferative Neoplasms. *Int J Mol Sci*. 12 sept 2024;25(18):9873.
188. Pecquet C, Papadopoulos N, Balligand T, Chachoua I, Tisserand A, Vertenoel G, et al. Secreted mutant calreticulins as rogue cytokines in myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 23 févr 2023;141(8):917-29.
189. Pritchard JE, Pearce JE, Snoeren IAM, Fuchs SNR, Götz K, Peisker F, et al. Non-canonical Hedgehog signaling mediates profibrotic hematopoiesis-stroma crosstalk in myeloproliferative neoplasms. *Cell Rep*. janv 2024;43(1):113608.
190. Jutzi JS, Marneth AE, Jiménez-Santos MJ, Hem J, Guerra-Moreno A, Rolles B, et al. CALR-mutated cells are vulnerable to combined inhibition of the proteasome and the endoplasmic reticulum stress response. *Leukemia*. févr 2023;37(2):359-69.
191. Vainchenker W, Constantinescu SN, Plo I. Recent advances in understanding myelofibrosis and essential thrombocythemia. *F1000Research*. 19 avr 2016;5:700.
192. Reis E, Buonpane R, Celik H, Marty C, Lei A, Jobe F, et al. Discovery of INCA033989, a Monoclonal Antibody That Selectively Antagonizes Mutant Calreticulin Oncogenic Function in Myeloproliferative Neoplasms (MPNs). *Blood*. 15 nov 2022;140(Supplement 1):14-5.
193. Benlabiod C, Hermange G, Borderon L, Blampey Q, Evrard M, Rodriguez Romera A, et al. Amplification of Von Willebrand Factor-Positive *CALRmut* Disease-Initiating Hematopoietic Stem Cells Is Associated to the Activation of the PERK/EIF2a Branch of Unfolded Protein Response. *Blood*. 5 nov 2024;144(Supplement 1):752-752.
194. Benlabiod C, Cacemiro MDC, Nédélec A, Edmond V, Muller D, Rameau P, et al. Calreticulin del52 and ins5 knock-in mice recapitulate different myeloproliferative phenotypes observed in patients with MPN. *Nat Commun*. 28 sept 2020;11(1):4886.
195. Pietra D, Rumi E, Ferretti VV, Buduo CAD, Milanese C, Cavalloni C, et al. Differential clinical effects of different mutation subtypes in CALR-mutant myeloproliferative neoplasms. *Leukemia*. févr 2016;30(2):431-8.
196. Maslah N, Benajiba L, Giraudier S, Kiladjian JJ, Cassinat B. Clonal architecture evolution in Myeloproliferative Neoplasms: from a driver mutation to a complex heterogeneous mutational and phenotypic landscape. *Leukemia*. mai 2023;37(5):957-63.
197. Walter W, Nadarajah N, Hutter S, Müller H, Haferlach C, Kern W, et al. Characterization of

- myeloproliferative neoplasms based on genetics only and prognostication of transformation to blast phase. *Leukemia*. déc 2024;38(12):2644-52.
198. Kameda T, Shide K, Yamaji T, Kamiunten A, Sekine M, Taniguchi Y, et al. Loss of TET2 has dual roles in murine myeloproliferative neoplasms: disease sustainer and disease accelerator. *Blood*. 8 janv 2015;125(2):304-15.
  199. Jacquelin S, Straube J, Cooper L, Vu T, Song A, Bywater M, et al. Jak2V617F and Dnmt3a loss cooperate to induce myelofibrosis through activated enhancer-driven inflammation. *Blood*. 27 déc 2018;132(26):2707-21.
  200. Shimizu T, Kubovcakova L, Nienhold R, Zmajkovic J, Meyer SC, Hao-Shen H, et al. Loss of *Ezh2* synergizes with *JAK2* -V617F in initiating myeloproliferative neoplasms and promoting myelofibrosis. *J Exp Med*. 25 juill 2016;213(8):1479-96.
  201. McKenney AS, Lau AN, Somasundara AVH, Spitzer B, Intlekofer AM, Ahn J, et al. JAK2/IDH-mutant-driven myeloproliferative neoplasm is sensitive to combined targeted inhibition. *J Clin Invest*. 22 janv 2018;128(2):789-804.
  202. Palomo L, Meggendorfer M, Hutter S, Twardziok S, Ademà V, Fuhrmann I, et al. Molecular landscape and clonal architecture of adult myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 15 oct 2020;136(16):1851-62.
  203. Rampal R, Ahn J, Abdel-Wahab O, Nahas M, Wang K, Lipson D, et al. Genomic and functional analysis of leukemic transformation of myeloproliferative neoplasms. *Proc Natl Acad Sci [Internet]*. 16 déc 2014 [cité 28 mars 2025];111(50). Disponible sur: <https://pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.1407792111>
  204. Grinfeld J, Nangalia J, Baxter EJ, Wedge DC, Angelopoulos N, Cantrill R, et al. Classification and Personalized Prognosis in Myeloproliferative Neoplasms. *N Engl J Med*. 11 oct 2018;379(15):1416-30.
  205. Landgren O, Goldin LR, Kristinsson SY, Helgadottir EA, Samuelsson J, Björkholm M. Increased risks of polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myelofibrosis among 24 577 first-degree relatives of 11 039 patients with myeloproliferative neoplasms in Sweden. *Blood*. 15 sept 2008;112(6):2199-204.
  206. Kralovics R, Stockton DW, Prchal JT. Clonal hematopoiesis in familial polycythemia vera suggests the involvement of multiple mutational events in the early pathogenesis of the disease. *Blood*. 15 nov 2003;102(10):3793-6.
  207. Bellanne-Chantelot C. Genetic and clinical implications of the Val617Phe JAK2 mutation in 72 families with myeloproliferative disorders. *Blood*. 1 juill 2006;108(1):346-52.
  208. Ang SO, Chen H, Hirota K, Gordeuk VR, Jelinek J, Guan Y, et al. Disruption of oxygen homeostasis underlies congenital Chuvash polycythemia. *Nat Genet*. déc 2002;32(4):614-21.
  209. Ang SO, Chen H, Gordeuk VR, Sergueeva AI, Polyakova LA, Miasnikova GY, et al. Endemic Polycythemia in Russia: Mutation in the VHL Gene. *Blood Cells Mol Dis*. janv 2002;28(1):57-62.
  210. Gordeuk VR, Sergueeva AI, Miasnikova GY, Okhotin D, Voloshin Y, Choyke PL, et al. Congenital disorder of oxygen sensing: association of the homozygous Chuvash polycythemia VHL mutation with thrombosis and vascular abnormalities but not tumors. *Blood*. 15 mai 2004;103(10):3924-32.

211. Jones AV, Chase A, Silver RT, Oscier D, Zoi K, Wang YL, et al. JAK2 haplotype is a major risk factor for the development of myeloproliferative neoplasms. *Nat Genet.* avr 2009;41(4):446-9.
212. Rumi E, Cazzola M. Advances in understanding the pathogenesis of familial myeloproliferative neoplasms. *Br J Haematol.* sept 2017;178(5):689-98.
213. Hinds DA, Barnholt KE, Mesa RA, Kiefer AK, Do CB, Eriksson N, et al. Germ line variants predispose to both JAK2 V617F clonal hematopoiesis and myeloproliferative neoplasms. *Blood.* 25 août 2016;128(8):1121-8.
214. Jäger R, Harutyunyan AS, Rumi E, Pietra D, Berg T, Olcaydu D, et al. Common germline variation at the *TERT* locus contributes to familial clustering of myeloproliferative neoplasms. *Am J Hematol.* déc 2014;89(12):1107-10.
215. Saliba J, Saint-Martin C, Di Stefano A, Lenglet G, Marty C, Keren B, et al. Germline duplication of *ATG2B* and *GSKIP* predisposes to familial myeloid malignancies. *Nat Genet.* oct 2015;47(10):1131-40.
216. Harutyunyan AS, Giambruno R, Krendl C, Stukalov A, Klampfl T, Berg T, et al. Germline *RBBP6* mutations in familial myeloproliferative neoplasms. *Blood.* 21 janv 2016;127(3):362-5.
217. Rabadan Moraes G, Pasquier F, Marzac C, Deconinck E, Damanti CC, Leroy G, et al. An inherited gain-of-function risk allele in *EPOR* predisposes to familial *JAK2*<sup>V617F</sup> myeloproliferative neoplasms. *Br J Haematol.* juill 2022;198(1):131-6.
218. Steensma DP, Bejar R, Jaiswal S, Lindsley RC, Sekeres MA, Hasserjian RP, et al. Clonal hematopoiesis of indeterminate potential and its distinction from myelodysplastic syndromes. *Blood.* 2 juill 2015;126(1):9-16.
219. McKerrell T, Park N, Chi J, Collord G, Moreno T, Ponstingl H, et al. *JAK2* V617F hematopoietic clones are present several years prior to MPN diagnosis and follow different expansion kinetics. *Blood Adv.* 13 juin 2017;1(14):968-71.
220. Xie M, Lu C, Wang J, McLellan MD, Johnson KJ, Wendl MC, et al. Age-related mutations associated with clonal hematopoietic expansion and malignancies. *Nat Med.* déc 2014;20(12):1472-8.
221. McKerrell T, Park N, Moreno T, Grove CS, Ponstingl H, Stephens J, et al. Leukemia-Associated Somatic Mutations Drive Distinct Patterns of Age-Related Clonal Hemopoiesis. *Cell Rep.* mars 2015;10(8):1239-45.
222. Genovese G, Kähler AK, Handsaker RE, Lindberg J, Rose SA, Bakhoum SF, et al. Clonal Hematopoiesis and Blood-Cancer Risk Inferred from Blood DNA Sequence. *N Engl J Med.* 25 déc 2014;371(26):2477-87.
223. Jaiswal S, Fontanillas P, Flannick J, Manning A, Grauman PV, Mar BG, et al. Age-Related Clonal Hematopoiesis Associated with Adverse Outcomes. *N Engl J Med.* 25 déc 2014;371(26):2488-98.
224. Cordua S, Kjaer L, Skov V, Pallisgaard N, Hasselbalch HC, Ellervik C. Prevalence and phenotypes of *JAK2* V617F and calreticulin mutations in a Danish general population. *Blood.* 1 août 2019;134(5):469-79.
225. Coombs CC, Zehir A, Devlin SM, Kishtagari A, Syed A, Jonsson P, et al. Therapy-Related Clonal Hematopoiesis in Patients with Non-hematologic Cancers Is Common and Associated with Adverse

Clinical Outcomes. *Cell Stem Cell*. sept 2017;21(3):374-382.e4.

226. Nielsen C, Bojesen SE, Nordestgaard BG, Kofoed KF, Birgens HS. JAK2V617F somatic mutation in the general population: myeloproliferative neoplasm development and progression rate. *Hematologica*. 1 sept 2014;99(9):1448-55.
227. Larsen TS, Pallisgaard N, Møller MB, Hasselbalch HC. The JAK2 V617F allele burden in essential thrombocythemia, polycythemia vera and primary myelofibrosis – impact on disease phenotype. *Eur J Haematol*. déc 2007;79(6):508-15.
228. Passamonti F, Rumi E, Pietra D, Elena C, Boveri E, Arcaini L, et al. A prospective study of 338 patients with polycythemia vera: the impact of JAK2 (V617F) allele burden and leukocytosis on fibrotic or leukemic disease transformation and vascular complications. *Leukemia*. sept 2010;24(9):1574-9.
229. Alvarez-Larrán A, Bellosillo B, Pereira A, Kerguelen A, Carlos Hernández-Boluda J, Martínez-Avilés L, et al. JAK2 V617F monitoring in polycythemia vera and essential thrombocythemia: Clinical usefulness for predicting myelofibrotic transformation and thrombotic events. *Am J Hematol*. mai 2014;89(5):517-23.
230. Zhang Y, Zhou Y, Wang Y, Teng G, Li D, Wang Y, et al. Thrombosis among 1537 patients with *JAK2<sup>V617F</sup>*-mutated myeloproliferative neoplasms: Risk factors and development of a predictive model. *Cancer Med*. mars 2020;9(6):2096-105.
231. Soudet S, Le Roy G, Cadet E, Michaud A, Morel P, Marolleau JP, et al. JAK2 allele burden is correlated with a risk of venous but not arterial thrombosis. *Thromb Res*. mars 2022;211:1-5.
232. Hermange G, Rakotonirainy A, Bentrion M, Tisserand A, El-Khoury M, Girodon F, et al. Inferring the initiation and development of myeloproliferative neoplasms. *Proc Natl Acad Sci*. 13 sept 2022;119(37):e2120374119.
233. Ortmann CA, Kent DG, Nangalia J, Silber Y, Wedge DC, Grinfeld J, et al. Effect of Mutation Order on Myeloproliferative Neoplasms. *N Engl J Med*. 12 févr 2015;372(7):601-12.
234. Weijts B, Yvernogeu L, Robin C. Recent Advances in Developmental Hematopoiesis: Diving Deeper With New Technologies. *Front Immunol*. 24 nov 2021;12:790379.
235. O’Sullivan JM, Mead AJ, Psaila B. Single-cell methods in myeloproliferative neoplasms: old questions, new technologies. *Blood*. 26 janv 2023;141(4):380-90.
236. Fabre MA, De Almeida JG, Fiorillo E, Mitchell E, Damaskou A, Rak J, et al. The longitudinal dynamics and natural history of clonal haematopoiesis. *Nature*. 9 juin 2022;606(7913):335-42.
237. Van Egeren D, Escabi J, Nguyen M, Liu S, Reilly CR, Patel S, et al. Reconstructing the Lineage Histories and Differentiation Trajectories of Individual Cancer Cells in Myeloproliferative Neoplasms. *Cell Stem Cell*. mars 2021;28(3):514-523.e9.
238. Williams N, Lee J, Mitchell E, Moore L, Baxter EJ, Hewinson J, et al. Life histories of myeloproliferative neoplasms inferred from phylogenies. *Nature*. 3 févr 2022;602(7895):162-8.
239. Mead AJ, Mullally A. Myeloproliferative neoplasm stem cells. *Blood*. 23 mars 2017;129(12):1607-16.

240. Tong J, Sun T, Ma S, Zhao Y, Ju M, Gao Y, et al. Hematopoietic stem cell heterogeneity is linked to the initiation and therapeutic response of myeloproliferative neoplasms. *Cell Stem Cell*. avr 2021;28(4):780.
241. Psaila B, Wang G, Rodriguez-Meira A, Li R, Heuston EF, Murphy L, et al. Single-Cell Analyses Reveal Megakaryocyte-Biased Hematopoiesis in Myelofibrosis and Identify Mutant Clone-Specific Targets. *Mol Cell*. mai 2020;78(3):477-492.e8.
242. Anjos-Afonso F, Bonnet D. Human CD34+ hematopoietic stem cell hierarchy: how far are we with its delineation at the most primitive level? *Blood*. 10 août 2023;142(6):509-18.
243. Arnone M, Konantz M, Hanns P, Paczulla Stanger AM, Bertels S, Godavarthy PS, et al. Acute Myeloid Leukemia Stem Cells: The Challenges of Phenotypic Heterogeneity. *Cancers*. 12 déc 2020;12(12):3742.
244. Angona A, Alvarez-Larrán A, Bellosillo B, Longarón R, Camacho L, Fernández-Rodríguez MC, et al. Characterization of CD34+ hematopoietic progenitor cells in JAK2 V617F and CALR -mutated myeloproliferative neoplasms. *Leuk Res*. sept 2016;48:11-5.
245. Ivanov D, Milosevic Feenstra JD, Sadovnik I, Herrmann H, Peter B, Willmann M, et al. Phenotypic characterization of disease-initiating stem cells in JAK2 - or CALR -mutated myeloproliferative neoplasms. *Am J Hematol*. mai 2023;98(5):770-83.
246. Angona A, Alvarez-Larrán A, Bellosillo B, Longarón R, Camacho L, Fernández-Rodríguez MC, et al. Characterization of CD34+ hematopoietic progenitor cells in JAK2 V617F and CALR -mutated myeloproliferative neoplasms. *Leuk Res*. sept 2016;48:11-5.
247. El-Khoury M, Cabagnols X, Mosca M, Vertenoil G, Marzac C, Favale F, et al. Different impact of calreticulin mutations on human hematopoiesis in myeloproliferative neoplasms. *Oncogene*. 30 juill 2020;39(31):5323-37.
248. Mosca M, Hermange G, Tisserand A, Noble R, Marzac C, Marty C, et al. Inferring the dynamics of mutated hematopoietic stem and progenitor cells induced by IFN $\alpha$  in myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 2 déc 2021;138(22):2231-43.
249. Grockowiak E, Korn C, Rak J, Lysenko V, Hallou A, Panvini FM, et al. Different niches for stem cells carrying the same oncogenic driver affect pathogenesis and therapy response in myeloproliferative neoplasms. *Nat Cancer*. 7 août 2023;4(8):1193-209.
250. Vaidya R, Gangat N, Jimma T, Finke CM, Lasho TL, Pardanani A, et al. Plasma cytokines in polycythemia vera: Phenotypic correlates, prognostic relevance, and comparison with myelofibrosis. *Am J Hematol*. nov 2012;87(11):1003-5.
251. Cacemiro MDC, Cominal JG, Tognon R, Nunes NDS, Simões BP, Figueiredo-Pontes LLD, et al. Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms as disorders marked by cytokine modulation. *Hematol Transfus Cell Ther*. avr 2018;40(2):120-31.
252. Fleischman AG, Aichberger KJ, Luty SB, Bumm TG, Petersen CL, Doratotaj S, et al. TNF $\alpha$  facilitates clonal expansion of JAK2V617F positive cells in myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 8 déc 2011;118(24):6392-8.
253. Rai S, Hansen N, Hao-Shen H, Dirnhofer S, Tata NR, Skoda RC. IL-1 $\beta$  Secreted from Mutant Cells Carrying JAK2-V617F favors Early Clonal Expansion and Promotes MPN Disease Initiation and

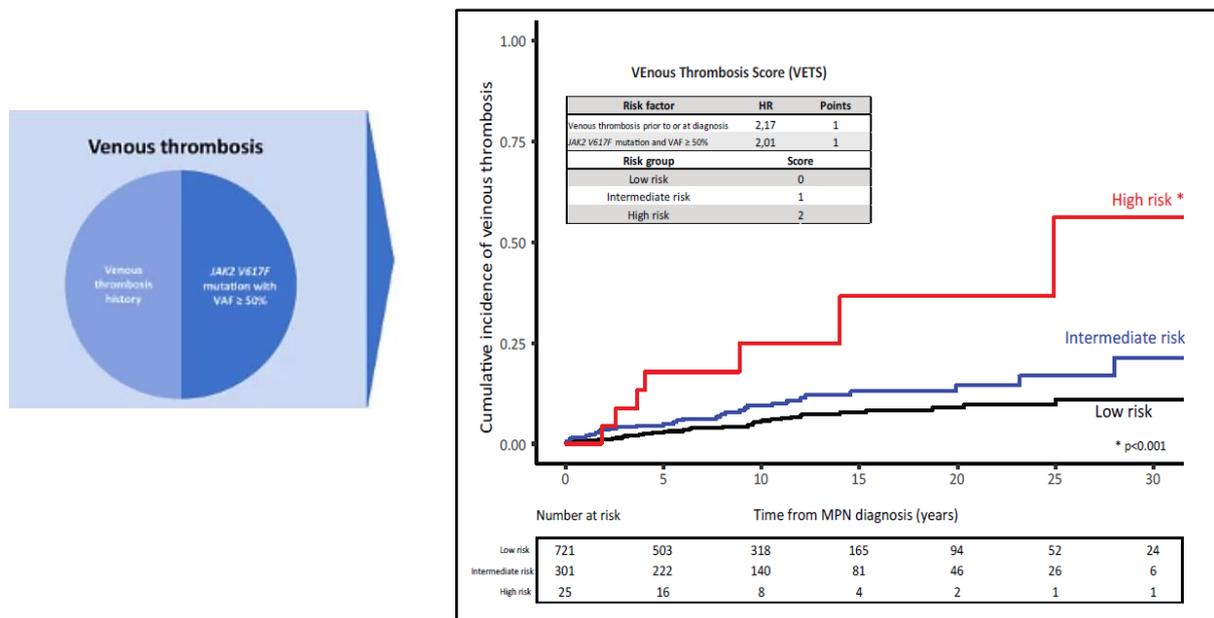
Progression. *Blood*. 13 nov 2019;134(Supplement\_1):307-307.

254. Fisher DAC, Fowles JS, Zhou A, Oh ST. Inflammatory Pathophysiology as a Contributor to Myeloproliferative Neoplasms. *Front Immunol*. 1 juin 2021;12:683401.
255. Arranz L, Sánchez-Aguilera A, Martín-Pérez D, Isern J, Langa X, Tzankov A, et al. Neuropathy of haematopoietic stem cell niche is essential for myeloproliferative neoplasms. *Nature*. août 2014;512(7512):78-81.
256. Masselli E, Pozzi G, Gobbi G, Merighi S, Gessi S, Vitale M, et al. Cytokine Profiling in Myeloproliferative Neoplasms: Overview on Phenotype Correlation, Outcome Prediction, and Role of Genetic Variants. *Cells*. 21 sept 2020;9(9):2136.
257. Abegunde SO, Buckstein R, Wells RA, Rauh MJ. An inflammatory environment containing TNF $\alpha$  favors Tet2-mutant clonal hematopoiesis. *Exp Hematol*. mars 2018;59:60-5.
258. Hormaechea-Agulla D, Matatall KA, Le DT, Kain B, Long X, Kus P, et al. Chronic infection drives Dnmt3a-loss-of-function clonal hematopoiesis via IFN $\gamma$  signaling. *Cell Stem Cell*. août 2021;28(8):1428-1442.e6.
259. Stetka J, Vyhlidalova P, Lanikova L, Koralkova P, Gursky J, Hlusi A, et al. Addiction to DUSP1 protects JAK2V617F-driven polycythemia vera progenitors against inflammatory stress and DNA damage, allowing chronic proliferation. *Oncogene*. 1 juill 2019;38(28):5627-42.
260. Ouyang J, Zheng W, Shen Q, Goswami M, Jorgensen JL, Medeiros LJ, et al. Flow cytometry immunophenotypic analysis of Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms: Correlation with histopathologic features: flow cytometry study of Ph-negative MPN. *Cytometry B Clin Cytom*. déc 2014;n/a-n/a.
261. Liang F, Liang X, Pan L, Jin Q, Deng J, Hong M, et al. Immunophenotype of myeloid granulocytes in Chinese patients with BCR::ABL1-negative myeloproliferative neoplasms. *Clin Exp Med*. 21 mai 2024;24(1):106.
262. Herborg LL, Nederby L, Hasselbalch HC, Aggerholm A, Roug AS. Distinguishing myelofibrosis from polycythemia vera and essential thrombocythemia: The utility of enumerating circulating stem cells with aberrant hMICL expression by flow cytometry. *Int J Lab Hematol*. juin 2018;40(3):320-5.
263. Passamonti F, Vanelli L, Malabarba L, Rumi E, Pungolino E, Malcovati L, et al. Clinical utility of the absolute number of circulating CD34-positive cells in patients with chronic myeloproliferative disorders. *Haematologica*. oct 2003;88(10):1123-9.
264. Bassan VL, Barretto GD, De Almeida FC, Palma PVB, Binelli LS, Da Silva JPL, et al. Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms display alterations in monocyte subpopulations frequency and immunophenotype. *Med Oncol*. 29 sept 2022;39(12):223.
265. Mannelli F, Bencini S, Coltro G, Loscocco GG, Peruzzi B, Rotunno G, et al. Integration of multiparameter flow cytometry score improves prognostic stratification provided by standard models in primary myelofibrosis. *Am J Hematol*. juill 2022;97(7):846-55.
266. Song M, Graubard BI, Rabkin CS, Engels EA. Neutrophil-to-lymphocyte ratio and mortality in the United States general population. *Sci Rep*. 11 janv 2021;11(1):464.

## XI. ANNEXES

### Annexe 1 : Les scores prédictive de la thrombose veineuse : VETS et IPSET-thrombosis

Le risque de thrombose veineuse des SMP peut être estimé à l'aide du score VETS (*Pasquer et al., Leukemia, 2024, (119)*), qui prend en compte les antécédents de thrombose veineuse ainsi qu'une VAF de JAK2V617F > 50 %.



Le risque annuel de la thrombose veineuse de la TE peut également être évalué par le score IPSET-thrombosis (*Barbui et al., Blood, 2012*), qui repose sur trois facteurs : l'âge, la présence de la mutation JAK2V617F et les antécédents de thrombose (119,131) (132).

IPSET-thrombosis score				
Items	Points	Low risk	Intermediate risk	High risk
JAK2 V617F	2	<2 points	2 points	>2 points
Thrombosis	2			
Age >60 years	1			
CVR ≥ 1	1			

Total 6 points (Age 1, H/O Thrombosis 2, Cardiovascular risk factor 1 and JAK2V617F - 2 points)

Score	Risk category	Annual thrombosis risk
0-1	Low	1.03
2	Intermediate	2.35
3-6	High	3.56

## Annexe 2 : Les scores pronostiques IPSS, DIPSS et DIPSS-plus de la myélofibrose primitive

Variable	IPSS	DIPSS				
Age > 65 years	✓	✓				
Constitutional symptoms	✓	✓				
Haemoglobin < 100 g/l	✓	✓				
Leucocyte count > 25 x 10 <sup>9</sup> /l	✓	✓				
Circulating blasts ≥ 1%	✓	✓				
	1 point each	1 point each but Hb = 2				
DIPSS-Plus: add 1 point to the DIPSS RISK GROUP* (low= 0; intermediate 1 = 1, intermediate 2 = 2 and high risk = 3 ) in addition for : Platelet count <100 x 10 <sup>9</sup> /L RBC transfusion need Unfavourable karyotype +8, -7/7q-,i(17q), inv(3),-5/5q-,12p-,11q23 rearrangement						
Risk group	IPSS		DIPSS		DIPSS-Plus	
	Predictors (n)	Median survival (years)	Predictors (n)	Median survival (years)	Predictors (n)	Median survival (years)
Low	0	11,3	0	Not reached	0	15,4
Intermediate-1	1	7,9	1 or 2	14,2	1	6,5
Intermediate-2	2	4,0	3 or 4	4	2-3	2,9
High	≥ 3	2,3	5 or 6	1,5	≥ 4	1,3

\* Note that this is the risk group NOT the sum of points.

Adatation de Dupriez et al., *Horizon Hémato*, 2017.

## Annexe 3 : Des valeurs moyennes de NFS des patients selon des sous-groupes des patients

NFS	Hb	GR	Ht	VGM	PLQ	Leu	PNN	PNE	PNB	Ly	Mono	IG	Blast
SMP phi-	10,7	3,7	na	88,6	422	18,1	64,1	2,4	2,1	16,2	6	6,8	2,4
TE	11,7	4,3	na	89,0	776	14,8	65,0	3,4	1,3	19,1	6,5	3,2	1,6
PV	13,5	5,1	45,96	85,4	320	20	69,4	2,7	1,7	15,6	7,6	2,1	0,9
MFP	8,6	3,3	na	84,9	201	21,4	59,1	1,5	2	14,5	5,7	12,9	4,2
MF 2ère	10,4	3,7	na	91,5	398	17,2	64,7	2,2	2,7	15,9	5,4	6,7	2,3
MF-PV	10,2	3,6	na	89,3	367	17,9	64,5	2,3	3,7	12,6	5,6	8,5	2,8
MF-TE	10,5	3,7	na	92,6	412	16,9	64,8	2,2	2,2	17,4	5,4	5,9	2,1
SMP/SMD	10,2	3,5	na	90,8	216	35,5	53,6	1,9	1	12,6	18,7	9,4	2,8
LMMC-P	10,1	3,5	na	89	139	41,5	50,6	1	0,8	10,4	24,1	9,8	3,4
LMMC-P 1	10,7	3,8	na	87,7	145	28,8	54,1	0,7	0,5	11,9	24,2	7,6	1,0
LMMC-P 2	9,5	3,3	na	90,5	133	54,9	47	1,3	1,1	8,9	23,9	11,8	6,1
SMD/SMP (Non LMMC)	10,4	3,5	na	95	374	21,4	59,6	3,8	1,5	17,2	7,6	8,8	1,6
SMD/SMP T-RS	9,3	2,9	na	98,3	570	8,7	59,3	2,9	1,6	22,7	11,2	1,5	0,6
SMP/SMD-U	11,7	4,1	na	90,7	178	37,8	59,8	4,7	1,4	11,3	4,1	16,1	2,6
LMC	NA	NA	na	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
LMC a	10,4	3,4	na	95,8	215	69	58	1,5	1,2	9,4	4,3	22,8	2,9
LCN	9,2	2,8	na	100,3	197	96,5	77,6	0,2	0	4,5	2,4	17,4	2,3
MLN-TK	14,7	4,7	na	92,3	158	17,8	61	19,5	0,5	12	2,5	4,5	0
Témoins	12,8	4,4	na	87,5	311	20,3	58,6	10,7	0,8	21,3	7,0	0,8	0

Hb : Hémoglobine (g/dL) ; VGM : Volume globulaire moyen (fL) ; GR : Globules rouges (T/L) ; PLQ : Plaquettes (G/L) ; PNN : Polynucléaires neutrophiles (%) ; PNE : Polynucléaires éosinophiles (%) ; PNB : Polynucléaires basophiles (%) ; Ly : Lymphocytes (%) ; Mono : Monocytes (%) ; IG : Myélémie (%) ; Blast : Pourcentage de blastes (%).

#### Annexe 4 : Valeur cytologique moyen des valeurs du myélogramme des patients

Myélogramme	Analyse	Grade Moyen (min - max)	Blaste %	Granulocytes %	Erythroblastes %	Mégacaryocyte (Inférieur, rare, absent)	Mégacaryocyte (Normal et Supérieur)
SMP phi-	7	2,2 (0-5)	3,7	60	19,6	40/76	36/76
TE	16	2,6 (1-5)	3,4	61,1	21,7	5/16	11/16
PV	11	2,8 (2-3)	1,8	63,6	22,9	4/11	7/11
MFP	17	1,6 (0-3)	5,7	59,7	14,9	11/17	6/17
MF 2ère	33	2,0 (1-4)	3,3	59,3	20,1	20/33	13/33
MF- PV	11	2,3 (1-4)	2,1	60,4	26,5	6/11	5/11
MF -TE	22	1,9(1-4)	3,9	58,7	16,9	14/22	8/22
LMC- a	11	3,9(3-4)	2,5	81,5	11,5	5/11	6/11
SMP/SMD	55	3,5(1-5)	6,4	60,1	16,6	21/55	34/55
LMMC-P	37	3,3(2-5)	7,8	59,1	12,4	16/37	21/37
LMMC-P 1	19	3,4(2-5)	3,2	63,7	12,8	6/19	13/19
LMMC-P 2	18	3,3(3-4)	12,9	55,8	11,7	10/18	8/18
SMP/SMD-T-RS	9	3,8(3-4)	2,8	48,8	35,6	8/9	1/9
SMD/SMP-U	9	3,6(3-5)	5	72,6	15,3	4/9	5/9
LCN	5	4(3-5)	3,2	85,6	8,8	2/5	3/5
MLN-TK	2	3(3-3)	3	69	18	1/2	1/2
Réactionnel	21	2,9(2-4)	1,1	67,3	17	6/21	15/21

---

**Architecture de l'hématopoïèse des syndromes myéloprolifératifs**

---

**RESUME EN FRANÇAIS :**

**Introduction :** Les études *single-cell* sur l'hématopoïèse et les cellules souches et progénitrices hématopoïétiques (CSPH) ont permis de progresser dans la compréhension physiopathologique des SMP. Il a ainsi été mis en évidence une hétérogénéité des CSPH et un biais vers la lignée mégacaryocytaire. L'objectif de mon travail de thèse est de caractériser la structure de l'hématopoïèse des SMP grâce à l'immunophénotypage des CSPH par cytométrie en flux.

**Méthodes :** Deux cent cinquante et un patients ont été inclus dans l'analyse rétrospective de CSPH CD34+ dans le cadre de notre étude portant sur la période de 2017-2025. Parmi eux, 78 patients ont été diagnostiqués SMP phi- et 86 patients SMP phi+ (LMC). Un groupe de 78 témoins a été constitué à partir de moelles réactionnelles ou sans hémopathies, de patients vus au CHU Toulouse.

**Résultats :** L'analyse de l'immunophénotypage des CSPH CD34+ révèle une hétérogénéité de l'architecture hématopoïétique des SMP, ainsi qu'un biais de lignage mégacaryocytaire dans la thrombocytémie essentielle (TE), la polyglobulie de Vaquez (PV) et la myélofibrose (MF).

Chez les patients atteints de myélofibrose avec mutations de CALR ou de JAK2 V617F, un lignage mégacaryocytaire précoce se traduit par une augmentation des progéniteurs Mk-MPP CD133<sup>+</sup>. Chez les patients atteints de TE et de PV, une augmentation significative des progéniteurs CD133<sup>-</sup> (MEP2 CD133<sup>-</sup>) indique une différenciation érythro-mégacaryocytaire accrue.

**Conclusion :** Grâce à l'analyse rétrospective de moelles osseuses par CMF, notre étude fournit des arguments immunophénotypiques sur l'hétérogénéité de l'architecture de l'hématopoïèse des SMP. Elle souligne aussi la place importante du CD133 dans la différenciation mégacaryocytaire. Nous espérons que les recherches futures en CMF permettront d'approfondir ces observations et d'apporter de nouvelles contributions à la compréhension de l'hématopoïèse et les CSPH des syndromes myéloprolifératifs.

---

**TITRE EN ANGLAIS :** Architecture of hematopoiesis in myeloproliferative syndromes

---

**DISCIPLINE ADMINISTRATIVE :** Médecine spécialité biologie médicale

---

**MOTS-CLÉS :** Hématopoïèse, syndromes myéloprolifératifs, cellule souche hématopoïétique, cytométrie en flux, myélofibrose, JAK2 V617F, CALR, mégacaryopoïèse, biais mégacaryocytaire, hétérogénéité, continuum

---

**INTITULÉ ET ADRESSE DE L'UFR OU DU LABORATOIRE :**

Université de Toulouse

Faculté de Santé de Toulouse

37 Allées Jules Guesde 31000 Toulouse

---

**Directeur de thèse : Monsieur le Docteur François VERGEZ**