

Prévalence et facteurs prédictifs des mutations JAK2V617F, CALR et MPL dans la thrombose veineuse splanchnique

Prevalence and Predictive Factors for JAK2V617F, CALR, and MPL Mutations in Splanchnic Vein Thrombosis

Ikbel Ghachem¹, Samira Hadhri², Hadeef Skouri²

1. Laboratoire de Biologie, Université El Manar, Faculté de Médecine de Tunis, Hôpital Taher Maamouri, Nabeul, Tunisie

2. Laboratoire d'hématologie et banque du sang, Université de Sousse, Hôpital Sahloul, Sousse, Tunisie

RÉSUMÉ

Introduction-Objectif: Les néoplasies myéloprolifératives (NMP) latentes ont été rapportées dans les thromboses veineuses splanchniques (TVS). Cette première étude tunisienne a pour objectif d'évaluer la fréquence des mutations JAK2V617F, MPL et CALR dans les TVS et d'analyser leur corrélation avec les paramètres hématologiques.

Méthodes: Cette étude menée entre 2013 et 2017 a inclus les TVS non malignes et non cirrhotiques. Les mutations JAK2V617F et MPL ont été détectées par PCR en temps réel. La mutation CALR a été dépistée par PCR et séquençage direct.

Résultats: La mutation JAK2V617F a été détectée dans 20,1% des 233 cas de TVS avec une prévalence significativement plus élevée dans le syndrome de Budd Chiari (SBC). Les mutations MPL et CALR n'ont pas été détectées. La fréquence de la NMP latente était de 36,2 % dans les TVS, 31,7 % dans les thromboses de la veine porte et de 66,6 % dans le SBC. Les patients atteints de TVS avec un taux d'Hb $\geq 14,5$ g/dl pour les hommes, 11,4 g/dl pour les femmes, leucocytes ≥ 6100 /mm³ et plaquettes ≥ 238000 /mm³ pourraient être testés pour la mutation JAK2V617F. Cette stratégie permet d'éviter 89,5 % des tests inutiles chez les patients en dessous de ces seuils. Une numération plaquettaire ≥ 238000 /mm³ était un facteur indépendant corrélé à la mutation JAK2V617F et un puissant prédicteur d'une NMP latente (OR=17,3 ; 95% CI [2,8-105,1]); p=0,002).

Conclusion: La recherche de JAK2V617F est utile pour diagnostiquer les NMP latentes révélées par une TVS, tandis que MPL et CALR sont rares et non recommandées.

Mots clés: JAK2V617F, MPL, CALR, thrombose veineuse splanchnique, néoplasie myéloproliférative

ABSTRACT

Introduction-Aim: Latent myeloproliferative neoplasms (MPNs) have been reported in splanchnic vein thrombosis (SVT). This is the first Tunisian study aimed at evaluating the frequency of JAK2V617F, MPL, and CALR mutations in SVT and analyzing their correlation with hematological parameters.

Methods: This study, conducted between 2013 and 2017, included non-malignant and non-cirrhotic SVT cases. JAK2V617F and MPL mutations were detected by real-time PCR, and the CALR mutation was screened by PCR and direct sequencing.

Results: The JAK2V617F mutation was detected in 20.1% of 233 SVT cases, with a significantly higher prevalence in Budd-Chiari syndrome (BCS). MPL and CALR mutations were not detected. The frequency of latent MPN was 36.2% in SVT, 31.7% in portal vein thrombosis, and 66.6% in BCS. Patients with SVT and hemoglobin levels ≥ 14.5 g/dL in men, 11.4 g/dL in women, Leukocytes count ≥ 6100 /mm³, and platelet count $\geq 238,000$ /mm³ could be tested for the JAK2V617F mutation. This strategy avoids 89.5% of unnecessary tests in patients below these thresholds. A platelet count $\geq 238,000$ /mm³ was an independent factor correlated with the JAK2V617F mutation and a strong predictor of latent MPN (OR=17.3; 95% CI [2.8-105.1]; p=0.002).

Conclusion: Screening for JAK2V617F is useful for diagnosing latent MPNs revealed by SVT, while MPL and CALR mutations are rare and not recommended.

Key words: JAK2V617F, MPL, CALR, splanchnic thrombosis, myeloproliferative neoplasm

Correspondance

Ikbel Ghachem

Laboratoire de Biologie, Université El Manar, Faculté de Médecine de Tunis, Hôpital Taher Maamouri, Nabeul, Tunisie

Email: ikbel-ghachem@hotmail.com

INTRODUCTION

La thrombose veineuse splanchnique (TVS), qui inclut la thrombose de la veine porte (TVP) et le syndrome de Budd-Chiari (SBC) représente un site rare et inhabituel de thrombose veineuse [1,2]. Ces événements thrombo-emboliques sont souvent graves et associés à une morbidité et une mortalité significatives, notamment dans le cadre des néoplasies myéloprolifératives (NMP) Philadelphie négatif. La TVS a été signalée dans 5 à 10 % des cas de NMP [3,4]. Les pathologies comme la polyglobulie de Vaquez (PV), la thrombocytemie essentielle (TE) et la myélofibrose primitive (MFP) sont les principales causes de tendance prothrombotique, responsables de 50 % des cas de SBC et de 25 % des cas de TVP [3,5].

Les TVS associées aux NMP présentent souvent des caractéristiques cliniques et biologiques atypiques, en particulier chez les jeunes femmes et les patients dont la numération sanguine reste normale [5]. Le diagnostic d'une NMP sous-jacente ou latent constitue un défi en raison de la présentation thrombotique atypique et de l'hypertension portale, qui peuvent provoquer des saignements occultes, une hémodilution et un hypersplénisme modifiant les critères biologiques d'une NMP classique. Par conséquent, le dépistage moléculaire et la biopsie de moelle osseuse (BOM) sont nécessaires, incluant le test de la mutation JAK2V617F [6-8]. Bien que les mutations CALR et MPL ont été identifiées dans 30 % et 5 % des cas de TE et de MFP respectivement, leur rôle diagnostique chez les patients atteints de TVS reste incertain et varie d'une étude à l'autre [9,10].

À notre connaissance, aucune étude n'a rapporté la fréquence des mutations JAK2V617F, CALR et MPL chez les patients tunisiens atteints de TVS. Nous avons donc entrepris cette étude pour explorer la prévalence des mutations JAK2V617F, MPL et CALR dans une large cohorte de patients tunisiens atteints de TVS, en vue d'identifier les facteurs prédictifs de ces mutations en tant que critères diagnostiques potentiels pour les NMP latents.

METHODES

Déclaration d'éthique

Un consentement oral a été obtenu auprès des patients. Le comité d'éthique local a approuvé l'étude.

Patients et échantillons

Une cohorte de 233 patients tunisiens diagnostiqués avec une TVS dans divers établissements en Tunisie, entre janvier 2013 et décembre 2017, a été recrutée rétrospectivement selon une fiche de collecte de données. Nous avons inclus tous les patients avec une TVS pour lesquels la mutation JAK2V617F a été demandée à la recherche d'une NMP Philadelphie négatif. Les patients atteints de NMP préexistante, de cirrhose, d'une malignité sous-jacente ou ayant subi une splénectomie n'ont pas été inclus dans cette étude.

La mutation JAK2V617F a été recherchée chez tous les patients. Les mutations MPL et CALR ont été recherchées chez les patients négatifs pour JAK2V617F.

Nous avons réalisé une analyse rétrospective des caractéristiques cliniques, des localisations thrombotiques, des numérations sanguines périphériques ainsi que des tests de thrombophilie (acquise et héréditaire). Les résultats des anticorps antiphospholipides (aPL) et de l'anticoagulant lupique (LA) étaient disponibles pour 80 patients, tandis que les mutations du facteur V Leiden (FVL) et de la prothrombine G20210A (FIIIL) ont été analysées chez 69 patients. Les déficits acquis en protéine C (PC), protéine S (PS) et antithrombine (AT) ont été réalisés chez 72 patients.

Diagnostic et définition

Le SBC a été diagnostiqué conformément aux recommandations de l'Association Européenne pour l'étude du Foie. Le diagnostic de TVP a été confirmé par échographie, tomodensitométrie ou imagerie par résonance magnétique (IRM). La présence de matériel solide, l'absence de flux dans la lumière vasculaire, ou une transformation caverneuse de la veine confirment le diagnostic.

Le diagnostic des NMP classiques a été établi selon les critères de l'OMS de 2016. Une NMP « latente » ou « occulte » a été définie comme une NMP avec une numération sanguine normale ou cytopénique chez des patients porteurs des mutations JAK2V617F, MPL ou CALR, avec des résultats de biopsie ostéomédullaire (BOM) compatibles.

Analyse de la mutation JAK2V617F

La mutation JAK2V617F est une mutation ponctuelle acquise du gène de la tyrosine kinase JAK2, qui provoque la substitution de la valine par la phénylalanine au niveau du domaine pseudokinase JH2, responsable de l'autorégulation de l'activité kinase. Cette mutation joue un rôle clé dans certaines maladies myéloprolifératives. Les échantillons d'ADN ont été extraits à l'aide d'un kit commercial d'isolation d'ADN (Wizard® Genomic DNA Purification Kit, Promega, Madison, WI) conformément aux instructions du fabricant. La détection de la mutation JAK2V617F a été réalisée par PCR spécifique d'allèle (PCR-SA). Une amorce inverse commune et deux amorces directes spécifiques de l'allèle ont été utilisées, dans un volume total de réaction de 50 µL. Les produits de la PCR ont été séparés sur un gel d'agarose à 2,5 % et visualisés par coloration au bromure d'éthidium.

Analyse de la mutation MPL

La mutation MPL implique une substitution d'acide aminé en position 515, où le tryptophane (Trp) est remplacé par une lysine (Trp515Lys) ou une leucine (Trp515Leu). Pour tous les échantillons, la détection des mutations de l'exon 10 de MPL (W515L/K) a été réalisée par deux réactions de PCR-SA simultanées. Chaque réaction comprenait une amorce directe, une amorce inverse, ainsi

qu'une deuxième amorce interne spécifique de l'allèle. La température d'hybridation utilisée était de 66 °C. Le produit de PCR du type sauvage présente une bande de 218 pb, tandis que les échantillons porteurs de la mutation montrent une bande additionnelle de 176 pb sur le gel d'agarose à 2,5 % après électrophorèse.

Analyse de la mutation CALR

Les mutations de l'exon 9 de CALR ont été recherchées uniquement chez les patients négatifs pour la mutation JAK2V617F. Ces mutations ont été évaluées par analyse des fragments de PCR. Les conditions de la PCR comprenaient une dénaturation initiale à 95 °C pendant 5 minutes, suivie de 10 cycles à 94 °C pendant 30 secondes, 67 °C pendant 30 secondes, et 72 °C pendant 30 secondes, puis de 29 cycles à 94 °C pendant 30 secondes, 65 °C pendant 30 secondes, et 72 °C pendant 30 secondes. Enfin, une extension finale a été réalisée à 72 °C pendant 10 minutes.

Dépistage de la thrombophilie

Étude génétique:

L'identification du FVL et du FIIL a été réalisée par PCR par polymérase-polymorphisme de longueur de fragment de restriction (PCR-RFLP).

Bilan de thrombophilie:

Les activités des inhibiteurs naturels de la coagulation, l'antithrombine (AT) et la protéine C (PC), ont été mesurées respectivement par une méthode chromogénique (STA-Stachrom AT, Diagnostica Stago) et un test de coagulation (STA-Staclo PC, Diagnostica Stago). Le dosage de l'antigène libre de la protéine S (PS) a été réalisé par méthode immunoturbidimétrique (STA-Liatest Free PS, Diagnostica Stago).

La recherche de l'anticoagulant lupique (LA) a été effectuée selon les recommandations du Comité Scientifique et de Standardisation de la Société Internationale de Thrombose et Hémostase (ISTH). Les isotypes IgG, IgM et IgA des anticorps anti-cardiolipine (aCL) et anti-β2-glycoprotéine I (anti-β2GPI) ont été déterminés par test ELISA.

Analyse statistique:

Les données sont exprimées en moyenne ± écart-type (SD) ou en médiane, selon le type de distribution. Les différences entre les groupes pour les variables catégorielles ont été évaluées à l'aide du test du chi-2 ou du test exact de Fisher, en fonction de la taille de l'échantillon. Les variables non paramétriques sont présentées comme valeurs médianes (plages interquartiles, c'est-à-dire percentiles 25-75) et comparées avec le test de Mann-Whitney U. Les données paramétriques ont été comparées à l'aide du test t de Student pour échantillons indépendants. Les odds ratios (OR) sont exprimés avec leurs intervalles de confiance à 95 % (IC). Les résultats statistiques significatifs ont été définis par une valeur de $p < 0,05$.

L'analyse de la courbe ROC (Receiver Operating

Characteristic) a été utilisée pour évaluer la performance diagnostique de la mutation JAK2V617F en fonction des différents seuils des paramètres biologiques de l'hémogramme chez les patients atteints de TVS. Une aire sous la courbe (AUC) supérieure à 0,7 indique un test diagnostique significatif. Les données manquantes ont été gérées par suppression sur liste.

RÉSULTATS

Population étudiée

Nous avons colligé 233 cas de TVS répartie en 217 cas de TVP et 16 cas de SBC sur une période de 4 ans. L'âge moyen était de $48 \pm 15,45$ ans et 61% des patients étaient des hommes. Les caractéristiques clinico-biologique de la population étudiée ont été récapitulées dans le tableau 1.

Tableau 1. Caractéristiques de la population étudiée

Caractéristiques	Thrombose splanchnique	Thrombose porte	Syndrome Budd-Chiari
Âge, années, moyenne [intervalle]	48 [18-96]	48 [18-96]	38 [18-70]
Homme/femme	142/91	131/86	5/11
Thrombophilie héréditaire (n, %)			
Déficit en protéine C	2 (2,77 %)	1 (1,53 %)	1 (14,2 %)
Déficit en protéine S	0	0	0
Déficit en antithrombine	0	0	0
Facteur V Leiden	1 (1,4 %)	1 (1,6 %)	0
Facteur II Leiden	2 (2,8 %)	2 (3,2 %)	0
Thrombophilie acquise (n, %)			
Anticorps antiphospholipides	40 (50 %)	40 (55,5 %)	0
Anticoagulant lupique	16 (20 %)	16 (22,2 %)	0
Néoplasie myéloproliférative classique (n, %)			
Polyglobulie de Vaquez	19 (40,4 %)	17 (41,5 %)	2 (34 %)
Thrombocytémie essentielle	11 (23,4 %)	11 (26,8 %)	0
Néoplasie myéloproliférative latente	17 (36,2 %)	13 (31,7 %)	4 (66 %)
Mutation JAK2V617F (n, %)	47 (20,1 %)	41 (19 %)	6 (37,5 %)
Mutation MPL (n, %)	0	0	0
Mutation CALR (n, %)	0	0	0
Paramètres, médiane [Q_{25}-Q_{75}] [min,max]			
Hématocrite (%)	37,4 [32-42] [14,2-69,8]	36,7 [22,8-69,8] [14,2-69,8]	39,9 [35,5-43,2] [30,6-52,4]
Hémoglobine (g/dl)	11,6 [10-13,7] [4,6-23,1]	11,6 [9,7-13,3] [4,6-23,1]	12,7 [11,8-14] [9-16,5]
Globules rouges ($\times 10^{12}$ /L)	4,33 [3,7-4,9] [2,13-8,8]	4,26 [3,63-4,88] [2,13-8,8]	4,71 [4,31-4,98] [3,2-7,03]
Globules blancs ($\times 10^9$ /L)	5,42 [3,94-8,7] [1,2-50,3]	5,37 [3,4-7,48] [1,2-50,3]	5,3 [5,06-7,61] [3,4-15,89]
Plaquettes ($\times 10^9$ /L)	184 [89-362] [6-4,164]	171,5 [82-332,5] [6-4,164]	193 [125-287] [64-3,470]

La fréquence globale de la mutation JAK2V617F dans les TVS était de 20,1%. Cette fréquence est significativement plus élevée dans le SBC par rapport aux TVP (Tableau 1). Au cours des TVS, la fréquence de NMP classique était de 63,8% répartie en 40,4 % de PV et 23,4 % de TE. La PV était significativement plus fréquente chez les patients atteints de SBC.

La fréquence de NMP latente était de 36,2% parmi les TVS, dont 31,7% avaient une TVP et 66% un SBC. Dans ces formes latentes, sans caractéristiques hématologiques typiques de NMP, la mutation JAK2V617F était positive dans 2/3 des cas avec un hémogramme normal et 1/3 des cas avec une cytopénie.

Dans le groupe de patients JAK2V617F positif, il y avait une prédominance féminine avec un âge plus avancé par rapport au groupe JAK2V617F négatif. Les malades atteints de SBC avaient un âge moyen plus jeune que ceux atteints de TVP, avec une nette prédominance féminine. Aucune mutation MPL ou CALR n'a été identifiée parmi les 186 patients négatifs pour la mutation JAK2V617F. Les aPL constituent les facteurs prothrombotiques les plus fréquents dans les TVS.

Les aPL (55,5%) et la mutation II Leiden (3,2%) étaient les facteurs prothrombotiques les plus fréquemment associés aux TVP. Dans le SBC, le déficit en PC paraît être l'anomalie la plus fréquente.

Deux états prothrombotiques ont été mis en évidence dans 33% des cas de TVS. A noter que 29,2% des patients JAK2V617F positif avaient des aPL et 3,6% avaient le FIIL.

Corrélations entre les paramètres hématologiques et la mutation JAK2V617F

L'analyse univariée a montré qu'il existait une corrélation statistiquement significative entre la mutation JAK2V617F et l'élévation des taux moyens de l'Hb, de l'Ht, des leucocytes et des plaquettes dans la population globale de TVS et, aussi, en considérant la TVP à part (figure 1).

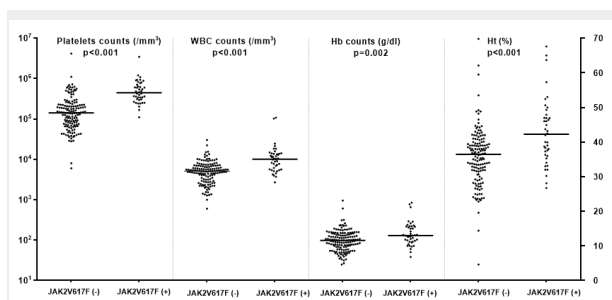


Figure 1. Corrélations entre les paramètres de l'hémogramme et la mutation JAK2V617F

Une corrélation statistiquement significative a été retrouvée entre la présence de la mutation JAK2V617F et l'augmentation du taux de plaquettes dans le SBC. La prévalence de la mutation JAK2V617F a montré une tendance à la hausse avec le nombre de GR, de GB et de plaquettes (figure 2).

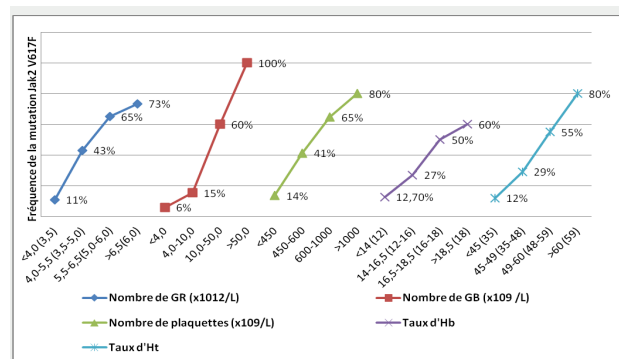


Figure 2. Variation de la fréquence de la mutation JAK2V617F selon les paramètres biologiques

Cette corrélation a été analysée par le coefficient de corrélation de rang de Spearman. L'Hb ($r = 0,45$; $P = 0,002$), l'Ht ($r = 0,63$; $P < 0,001$), les GR ($r = 0,42$; $P < 0,001$), les GB ($r = 0,52$; $P = 0,003$) et le taux de plaquettes ($r = 0,71$; $p < 0,001$) étaient positivement corrélés à la présence de la mutation JAK2V617F.

Facteurs prédictif de la mutation JAK2V617F

L'analyse par la courbe ROC des paramètres hématologiques en fonction de la mutation JAK2V617F est illustrée dans la figure 3.

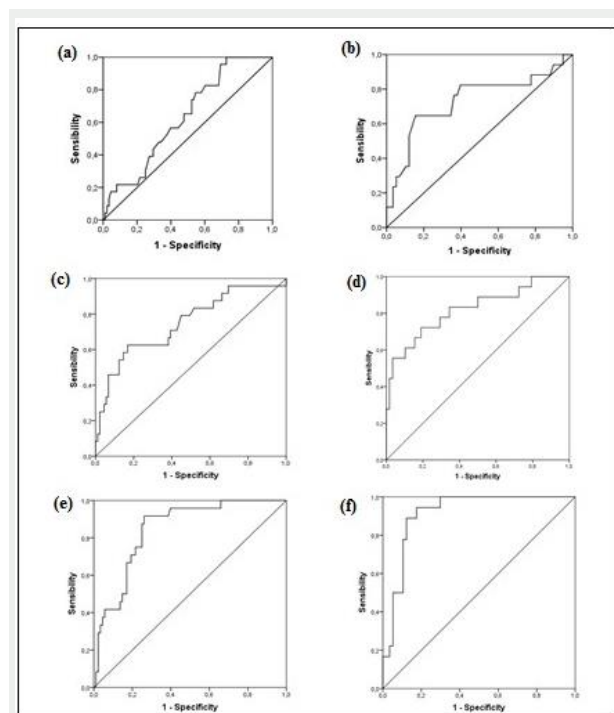


Figure 3. Analyse par courbe ROC de la sensibilité et de la spécificité de la mutation JAK2V617F chez les patients atteints de thrombose des veines splanchniques pour différents seuils de : (a) taux d'hémoglobine chez les femmes, (b) taux d'hémoglobine chez les hommes, (c) nombre de globules blancs chez les femmes, (d) nombre de globules blancs chez les hommes, (e) nombre de plaquettes chez les femmes, (f) nombre de plaquettes chez les hommes.

La mutation JAK2V617F pourrait être justifiée pour des taux d'Hb $\geq 14,5$ g/dl chez les hommes et $\geq 11,4$ g/dl chez les femmes, un nombre de GB $\geq 6100/\text{mm}^3$ et des plaquettes au-dessus de $238\,000/\text{mm}^3$ (Tableau 3).

Tableau 3. Performance diagnostique des différents paramètres de l'hémogramme dans la prédiction de la mutation JAK2V617F

Seuil	AUROC; IC95 %	p	Se(%)	Sp(%)	VPP(%)	VPN(%)
Hémoglobine						
Hommes ≥ 14,5 g/dl	0,73±0,07 ; [0,578-887]	0,004	52,3	81	45	85
Femmes ≥ 11,4 g/dl	0,634±0,02 ; [0,51-0,74]	0,04	61,5	63,5	27,6	87,9
GB ≥ 6100/mm ³	0,82±0,06 ; [0,7-0,94]	0,001	71,5	70	41,7	89,3
Plaquettes ≥238 000/mm ³	0,74±0,06 ; [0,62-0,86]	0,001	57	79	38	89

AUROC : aire sous la courbe ; p : prévalence ; Se : sensibilité ; Sp : spécificité ; VPP : valeur prédictive positive ; VPN : valeur prédictive négative, IC : intervalle de confiance

L'étude multivariée a permis de retenir qu'un nombre de plaquettes ≥238 000/mm³ est un facteur indépendant corrélé à la présence de la mutation JAK2V617F et, par conséquent, très prédictif de NMP latente avec un OR plus prononcé chez les femmes (OR=17,3; (IC95% [2,8-105,1]); p=0,002).

DISCUSSION

La thrombose splanchnique est très pourvoyeuse d'une NMP. Ceci est expliqué par la prévalence élevée de la mutation JAKV617F2 et sa forte association aux thromboses intra abdominales par rapport à d'autres sites de thromboses [11]. Dans ce cadre, nous avons étudiée sur une large cohorte tunisienne la prévalence des mutations JAK2V617F, MPL et CALR chez des patients présentant une TVS et visant à identifier les facteurs biologiques prédictifs de ce profil mutationnel.

Dans notre cohorte, la mutation JAK2V617F a été détectée chez 20,1 % des patients atteints de TVS, soit 37,5 % des cas de SBC et 19 % des cas de TVP. Ce taux est considéré faible par rapport à d'autres groupes ethniques [3,6,8,12-14]. Une méta-analyse rapporte un taux moyen de la mutation JAK2V617F de 27,7 % pour la TVP (IC 95 % : 17-35 %) et de 41,4 % pour le SBC (IC 95 % : 30-58 %) [3]. Les NMP classiques constituent 40 à 50% des cas de TVS, avec une prévalence de 50 % dans le SBC et de 25 % dans la TVP, selon les données occidentales [15-17]. Dans notre cohorte tunisienne, les NMP classiques sont plus fréquents dans les cas de TVP, ce qui pourrait être attribué à des différences dans la taille des échantillons, au polymorphisme génétique et à des facteurs ethniques. Parmi les échantillons avec des numérations sanguines normales ou cytopéniques, une NMP latente a été identifiée dans 34 % des cas de TVP et 50 % des cas de SBC, basé sur la présence de la mutation JAK2V617F et des résultats concomitants de la BOM. Ces résultats sont cohérents avec les données précédentes [3,7,12,18]. Les directives actuelles recommandent la recherche de la mutation JAK2V617F dans tous les cas de NMP suspectée [19].

Le dépistage des mutations MPL et CALR est souvent proposé chez les patients TVS négatifs pour la mutation JAK2 en tant que marqueurs de NMP latente.

Dans notre étude, aucune mutation CALR n'a été détectée

chez les patients atteints de TVS, et aucune mutation de l'exon 10 de MPL n'a été identifiée. Ces mutations sont habituellement présentes dans 0 à 3 % des cas de TVS pour CALR [20-25] et dans 0 à 1 % pour MPL [3,6,26]. Bien que ces mutations aient un intérêt diagnostique, leur faible fréquence limite souvent leur dépistage dans les TVS. Toutefois, certains auteurs estiment que le dépistage des mutations CALR ou MPL devrait être envisagé chez les patients TVS négatifs pour JAK2V617F, car elles constituent un outil diagnostique simple pour les NMP, avec un faible impact clinique [3,21,23,27,28].

Des études récentes ont démontré l'efficacité du séquençage de nouvelle génération (NGS) pour le diagnostic, l'évaluation pronostique et même les stratégies thérapeutiques des NMP associées aux TVS, notamment pour les profils « triple négatif » [29,30]. Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour évaluer le profil mutationnel des patients tunisiens atteints de TVS négatifs pour JAK2V617F.

Dans notre étude, nous avons identifié les facteurs prédictifs de la mutation JAK2V617F comme outil diagnostique simple pour la détection d'une NMP latente dans les TVS. Nos résultats montrent qu'un taux d'Hb ≥14,5 g/dl chez les hommes et ≥11,4 g/dl chez les femmes, une numération plaquettaire ≥238 000/mm³, et un taux de GB ≥ 6100/mm³ sont associés aux ratios de sensibilité et spécificité les plus élevés pour la mutation JAK2V617F. Ces critères pourraient permettre d'éviter 89,4 % des tests inutiles. Nos conclusions sont en accord avec celles de Yonal et al[7].

Dans notre analyse multivariée, un taux plaquettaire ≥238 000/mm³ est apparu comme un facteur indépendant associé à la mutation JAK2V617F, fortement prédictif d'une NMP révélée par des TVS avec un OR particulièrement élevé chez les femmes (OR=17,3, IC 95 % : 2,8-105,1, p=0,002). Ces résultats sont cohérents avec les données antérieures indiquant qu'une numération plaquettaire >200 000/mm³ est prédictive d'une NMP sous-jacente chez les patients atteints de TVS [12,31,32].

Implications de l'étude

Notre étude présente plusieurs implications. Tout d'abord, les critères prédictifs de la mutation JAK2V617F proposés sont facilement accessibles et permettent d'identifier une population à haut risque de NMP latente. Ensuite, la procédure diagnostique est rapide et peu coûteuse, ce qui permet aux patients de bénéficier d'une prise en charge rapide dans des centres spécialisés. Enfin, cette stratégie pourrait éviter 89,5 % des tests inutiles, et donc des dépenses significatives.

La TVS est un trouble multifactoriel, où les facteurs de risque génétiques et acquis peuvent varier d'un patient à l'autre. La fréquence des facteurs prothrombotiques diffère selon la localisation de la thrombose. Les polymorphismes FIIL et FVL sont les plus impliqués dans la TVP et le SBC respectivement [33].

Notamment, 17,5 % des patients positifs pour JAK2V617F présentent d'autres facteurs de risque prothrombotiques dont les FIIL et aPL étant les plus fréquents. Ainsi, la présence de facteurs prothrombotiques additionnels ne

doit pas exclure le dépistage de la mutation JAK2V617F et la prise en charge optimale, associant une anticoagulation adaptée et une éventuelle thérapie cytoréductrice [34].

Limitations

Notre étude présente plusieurs limitations. Premièrement, en tant qu'étude rétrospective, il n'a pas été possible de contrôler la positivité des aPL sur 6 mois. Deuxièmement, nous n'avons pas recherché les mutations de l'exon 12 chez les patients négatifs pour JAK2V617F, ce qui peut sous-estimer la prévalence des NMP négatives pour JAK2V617F. Des études supplémentaires devraient évaluer cette mutation dans une large proportion de patients atteints de TVS.

Troisièmement, la faible proportion de cas de SBC limite la puissance de l'analyse des facteurs de risque associés à la mutation JAK2V617F et peut sous-estimer la prévalence de la thrombophilie.

CONCLUSION

Cette étude est la première cohorte tunisienne à explorer la prévalence des mutations JAK2V617F, MPL et CALR chez des patients atteints de TVS potentiellement associée à une NMP et à identifier les facteurs biologiques prédictifs de ce profil mutationnel.

Conformément aux autres études, le dépistage de la mutation JAK2V617F, un marqueur moléculaire non invasif et très fiable avec une VPP élevée pour les NMP, est indiqué chez les patients atteints de TVS. La recherche de la mutation JAK2V617F est justifiée pour un taux d'Hb $\geq 14,5\text{g/dl}$ chez l'homme et $\geq 11,4\text{g/dl}$ chez la femme, un nombre de GB $\geq 6100/\text{mm}^3$ et une numération plaquettaire $\geq 238\,000/\text{mm}^3$ dans les TVS.

Par conséquent, ces résultats démontrent qu'un hémogramme normal et même une cytopénie au cours d'une TVS ne doit pas faire empêcher le screening de la mutation JAK2V617F, surtout que la méthode est fiable, sensible, rapide et relativement peu onéreuse. Cette stratégie permettra d'épargner 89,5% de tests inutiles et par conséquent de dépenses importantes.

En revanche, les mutations MPL et CALR sont rares et ne sont pas recommandées dans le cadre des TVS en l'absence de la mutation JAK2V617F.

Au terme de cette étude, nous recommandons la recherche des facteurs prothrombotiques locaux et systémiques sous-jacents avant d'instaurer un traitement à base d'AVK oraux. L'identification d'un facteur de risque ne devrait pas empêcher de chercher des facteurs de risque supplémentaires.

Par ailleurs, des études prospectives qui associent, en plus des données biologiques, les renseignements cliniques, thérapeutiques et évolutifs sont nécessaires afin de mieux élucider les corrélations entre les TVS et les NMP.

REFERENCES

1. Valeriani E, Riva N, Di Nisio M et al. Splanchnic Vein Thrombosis: Current Perspectives. *Vascular Health and Risk Management*. 2019;15:449.
2. Zhang Y, Zhou Y, Wang Y et al. Thrombosis among 1537 patients with JAK2 V617F -mutated myeloproliferative neoplasms: Risk factors and development of a predictive model. *Cancer medicine*. 2020;9(6):2096–2105.
3. Smalberg JH, Arends LR, Valla DC et al. Myeloproliferative neoplasms in Budd-Chiari syndrome and portal vein thrombosis : a meta-analysis. *Blood*. 2012;120(25):2–4.
4. Tremblay D, Vogel AS, Moshier E et al. Outcomes of splanchnic vein thrombosis in patients with myeloproliferative neoplasms in a single center experience. *European Journal of Haematology*. 2020;104(1):72–73.
5. Sekhar M, Mcvinnie K, Burroughs AK. Splanchnic vein thrombosis in myeloproliferative neoplasms. *British Journal of Haematology*. 2013;162(6):730–747.
6. Kiladjian JJ, Cervantes F, Leebeek FWG et al. The impact of JAK2 and MPL mutations on diagnosis and prognosis of splanchnic vein thrombosis: A report on 241 cases. *Blood*. 2008;111(10):4922–4929.
7. Yonal I, Pinarbasi B, Hindilerden F et al. The clinical significance of JAK2V617F mutation for Philadelphia-negative chronic myeloproliferative neoplasms in patients with splanchnic vein thrombosis. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*. 2012;34(3):388–396.
8. Amarapurkar D, Punamiya S, Patel N et al. Prevalence of JAK2V617F mutation in intra-abdominal venous thrombosis. *Gastroenterology*. 2011;32(4):279–284.
9. Araki M, Yang Y, Masubuchi N et al. Activation of the thrombopoietin receptor by mutant calreticulin in CALR-mutant myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 2016;127(10):1307–1316.
10. Nangalia J, Massie CE, Baxter EJ et al. Somatic CALR mutations in myeloproliferative neoplasms with nonmutated JAK2. *The New England journal of medicine*. 2013;369(25):2391–2405.
11. Mahjoub S, Baccouche H, Sahnoun M et al. La mutation JAK2 dans les syndromes myéloprolifératifs BCR-ABL négatifs: facteur prédictif de thrombose. *Tunis Med*. 2015 Jul;93(7):474–7.
12. Hindilerden F, Hindilerden IY, Pinarbasi B et al. The Clinical Significance of JAK2V617F Mutation for Philadelphia–Negative Chronic Myeloproliferative Neoplasms in Patients with Splanchnic Vein Thrombosis. *Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia*. 2019;19. doi:10.1016/j.clml.2019.07.377.
13. Sassi H, Menif S, Ammar S Ben, Farrah A. JAK2 p.(V617F) mutation in Tunisian myeloproliferative neoplasms and its genotype-phenotype correlation. *PAMJ* 2021; 39:194. 2021;39(194). doi:10.11604/PAMJ.2021.39.194.28307.
14. Sant'Antonio E, Guglielmelli P, Pieri L et al. Splanchnic vein thromboses associated with myeloproliferative neoplasms: An international, retrospective study on 518 cases. *American Journal of Hematology*. 2020;95(2):156–166.
15. Primignani M, Barosi G, Bergamaschi G et al. Role of the JAK2 mutation in the diagnosis of chronic myeloproliferative disorders in splanchnic vein thrombosis. *Hepatology*. 2006;44(6):1528–1534.
16. De Stefano V, Qi X, Betti S et al. Splanchnic vein thrombosis and myeloproliferative neoplasms: molecular-driven diagnosis and long-term treatment. *Thrombosis and Haemostasis*. 2015;115(2):240–249.
17. Sekhar M, Mcvinnie K, Burroughs AK. Splanchnic vein thrombosis in myeloproliferative neoplasms. *British Journal of Haematology*. 2013;162(6):730–747.
18. Sarid N, Eshel R, Rahamim E et al. JAK2 mutation: An aid in the diagnosis of occult myeloproliferative neoplasms in patients with major intraabdominal vein thrombosis and normal blood counts. *Israel Medical Association Journal*. 2013;15(11):698–700.
19. Ageno W, Beyer-Westendorf J, Garcia DA et al. Guidance for the management of venous thrombosis in unusual sites. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*. 41. doi:10.1007/s11239-015-1308-1.

20. Nerea C, Inmaculada R, Rosa A J et al. Calr mutation screening should not be studied in splanchnic vein thrombosis. *British Journal of Haematology*. 2015;170(4):586–588.
21. Plompen EPC, Valk PJM, Chu I et al. Somatic Calreticulin Mutations in Patients with Budd-Chiari Syndrome and Portal Vein Thrombosis. *Haematologica*. 2015;32:226–228.
22. Marzac C, Plessier A, Kiladjian J-J et al. O079 : Calr somatic mutations in a prospective cohort of 308 patients with splanchnic vein thrombosis. *Journal of Hepatology*. 2015;62:S230.
23. Marjorie Roques, Ji-Hye Park, Anne Minello JN et al. Detection of the CALR mutation in the diagnosis of splanchnic vein thrombosis. *British Journal of Haematology*. 2015;169:595–604.
24. Haslam K, Langabeer SE. Incidence of CALR mutations in patients with splanchnic vein thrombosis. *British Journal of Haematology*. 2015;168(3):459–460.
25. Li M, De Stefano V, Song T et al. Prevalence of CALR mutations in splanchnic vein thrombosis: A systematic review and meta-analysis. *Thrombosis Research*. 2018;167:96–103.
26. Jadli A, Kulkarni B, Ghosh K et al. Non conventional mutations associated with myeloproliferative disorders are absent in splanchnic venous thrombosis cases. *undefined*. 2012;32(10):1596–1597.
27. Ho WK, Hong FS. CALR exon 9 mutations in idiopathic splanchnic vein thrombosis in an Australian cohort. *Thrombosis Research*. 2017;150:51–52.
28. Sekhar M, Patch D, Austen B et al. Calreticulin mutations and their importance in splanchnic vein thrombosis. *Br J Haematol*. 2016 Jul;174(1):158-60.
29. Mroczkowska-Bękarciak A, Wróbel T. BCR::ABL1-negative myeloproliferative neoplasms in the era of next-generation sequencing. *Front Genet*. 2023;14:1241912.
30. Wu S, Luo P, Yu Y et al. Next-generation sequencing redefines the diagnosis of triple-negative myeloproliferative neoplasms. *Ann Hematol*. 2022;101(3):705–708.
31. Qi X, Zhang C, Han G et al. Prevalence of the JAK2V617F mutation in Chinese patients with Budd-Chiari syndrome and portal vein thrombosis: A prospective study. *Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia)*. 2012;27(6):1036–1043.
32. Qi X, Yang Z, Bai M et al. Meta-analysis : the significance of screening for JAK2V617F mutation in Budd – Chiari syndrome and portal venous system thrombosis. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 2011;33(10):1087–1103.
33. Qi X, Ren W, De Stefano V et al. Associations of Coagulation Factor V Leiden and Prothrombin G20210A Mutations With Budd-Chiari Syndrome and Portal Vein Thrombosis: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2014;12(11):1801–1812.
34. Hargreaves R, Subhan M, Alimam S et al. S199: a national retrospective cohort study of MPN-SVT: results from the uk myeloproliferative neoplasms associated splanchnic vein thrombosis (mascot) registry. *HemaSphere*. 2022;6:100–101.