

**Quantification moléculaire du transcrit
MBcr-Abl et de la mutation de Jak2 V617F
chez 31 patients suivis pour Syndrome
Myéloprolifératif à Dakar.**

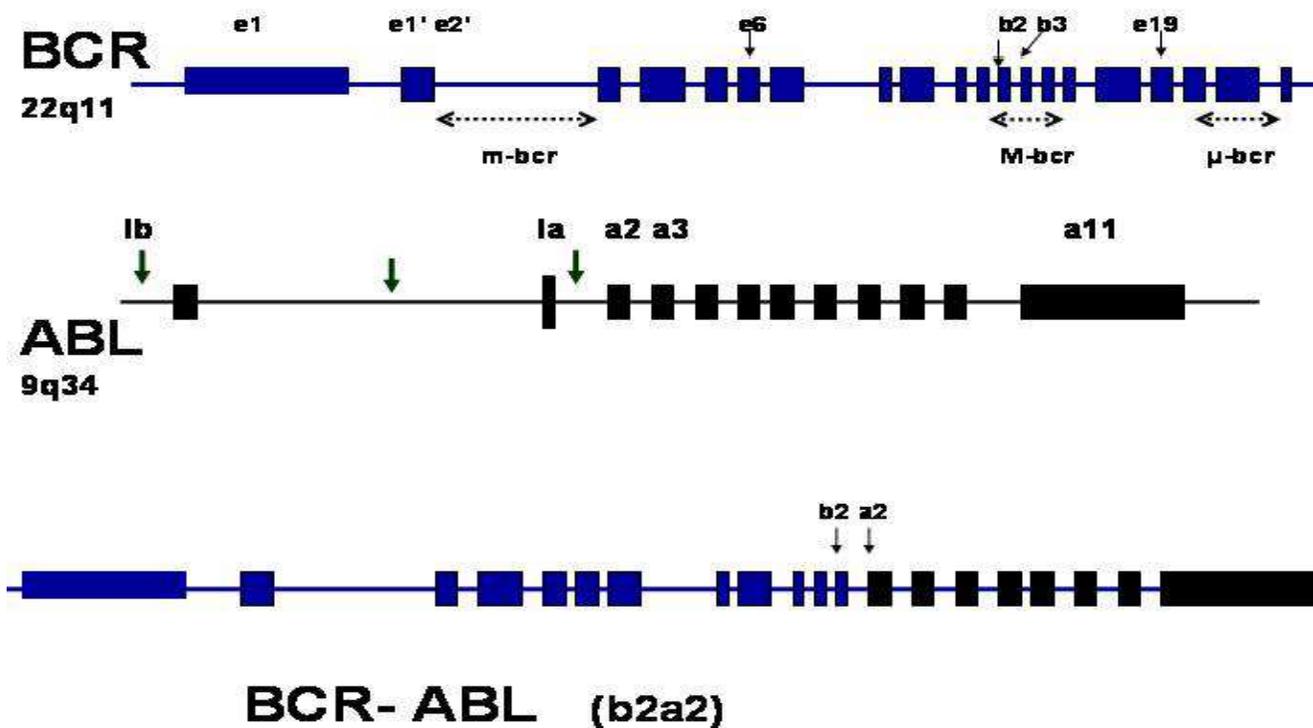
**A Sall Fall ; AO Touré Fall ; FS Ndiaye ; M Seck ; BF Faye ; M
Gadji ; S Diop ; D Thiam, M Raphael**

INTRODUCTION

2

➤ LMC

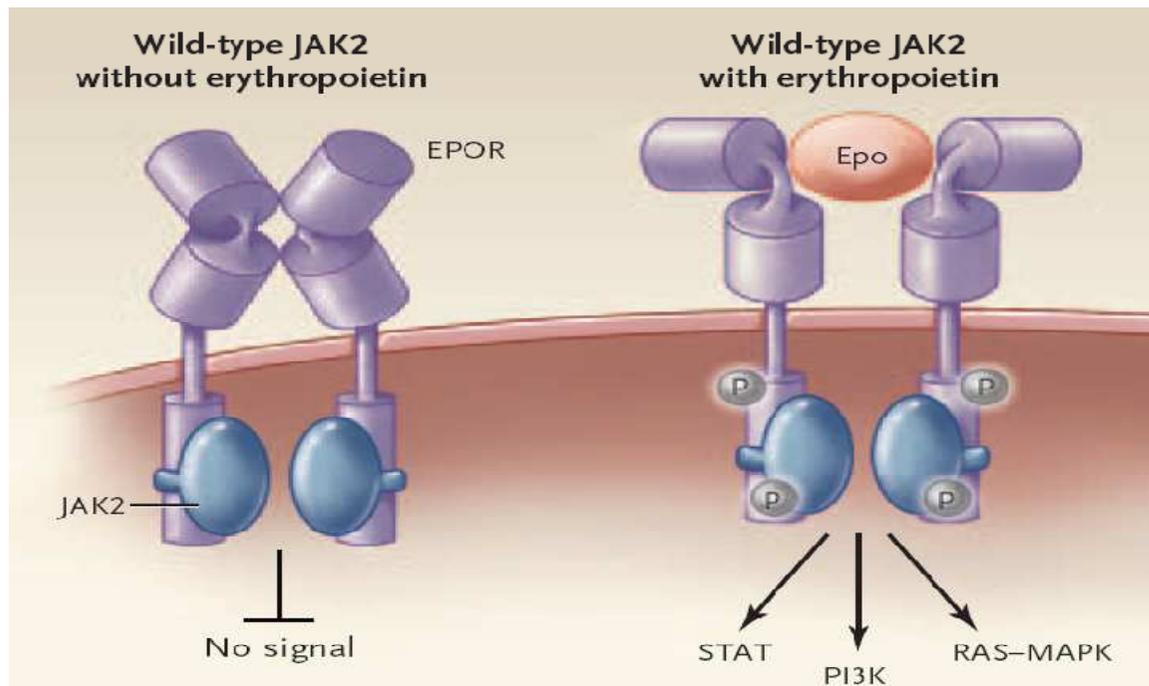
- Cytogénétique: Chromosome Philadelphie: t(9,22)
- Biologie moléculaire: transcrit Bcr-Abl



INTRODUCTION

3

- SMP « Phi négatif »: Polyglobulie de Vaquez, Myélofibrose primitive et Thrombocytémie essentielle
- 2005: découverte Jak2V617F

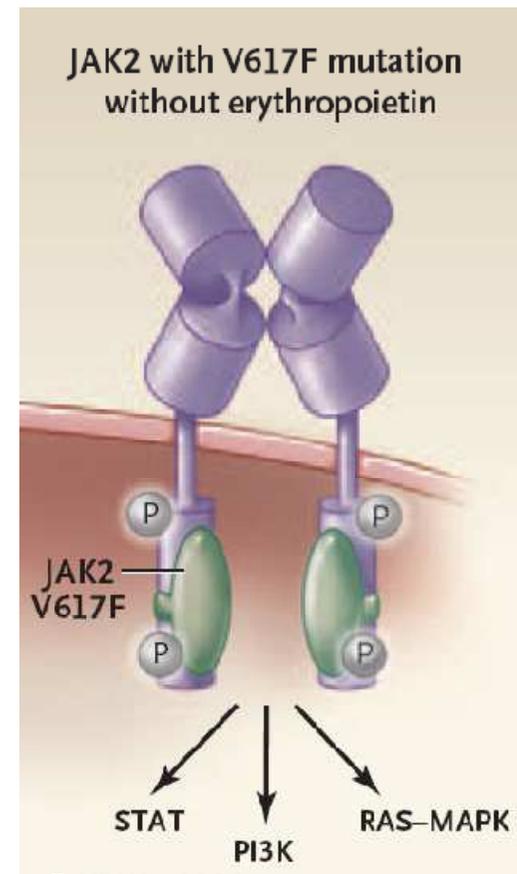
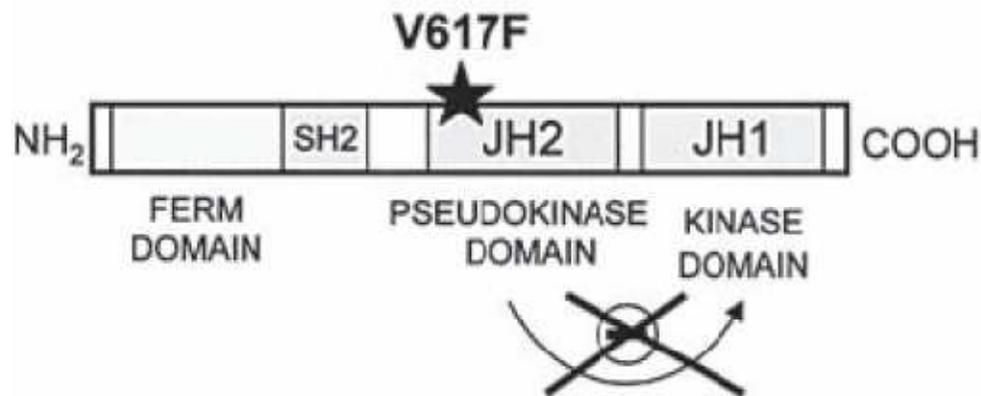


Cambell, NEJM - 2006

INTRODUCTION

4

- G1849T de l'exon 14
- Mutation dans domaine JH2 pseudo-kinase = levée auto-inhibition activité kinase
 - Indépendance / EPO
 - Activation STAT5



Campell, NEJM - 2006

INTRODUCTION

5

SENEGAL

- 2005 : Glivec® International Assistant Program
GIPAP
- Disponibilité du Glivec®
- Cytogénétique: tous les patients
- Biologie moléculaire: non disponible

Notre étude: quantification moléculaire

INTRODUCTION

6

Objectifs

- ❖ Recherche quantitative du transcrit de fusion MBcr-Abl chez les patients traités pour LMC
- ❖ Rechercher la mutation de Jak2 chez les patients SMP «Phi négatif»

MATERIEL ET METHODES

MATERIEL ET METHODES 1

1. Type et Cadres d'étude

- Etude prospective analytique sur une période de 4mois (Aout-Novembre 2009).
- 2 endroits
 - Dakar: CHU Le Dantec et Centre National de Transfusion Sanguine
 - Paris : CHU de Paul Brousse et de Bicêtre

MATERIEL ET METHODES 2

9

2. Echantillonnage

31 patients

- 21 LMC: 16 Imatinib et 5 Hydroxyurée
- 10 SMP « Phi nég »: 8 Polyglobulies, 1 MFP et 1 SMP « Bcr-Abl négatif »

3. Collecte des données et des prélèvements

- données: questionnaire soumis aux patients comportant des données épidémiologiques, cliniques et biologiques.

MATERIEL ET METHODES 3

10

➤ Prélèvement :

- MBcr-Abl: 6 tubes EDTA conservés à T° ambiante pendant au plus 24h
- Jak2V617F: 4 tubes EDTA, conservés entre 4 et 8° C pendant 4 jours .

4. Paramètres étudiés

- ❖ Epidémiologiques: âge et sexe
- ❖ Biologiques: cytogénétique et biologie moléculaire
- ❖ Modalités thérapeutiques: type de drogues, début de la prise et dose quotidienne

MATERIEL ET METHODES 4

11

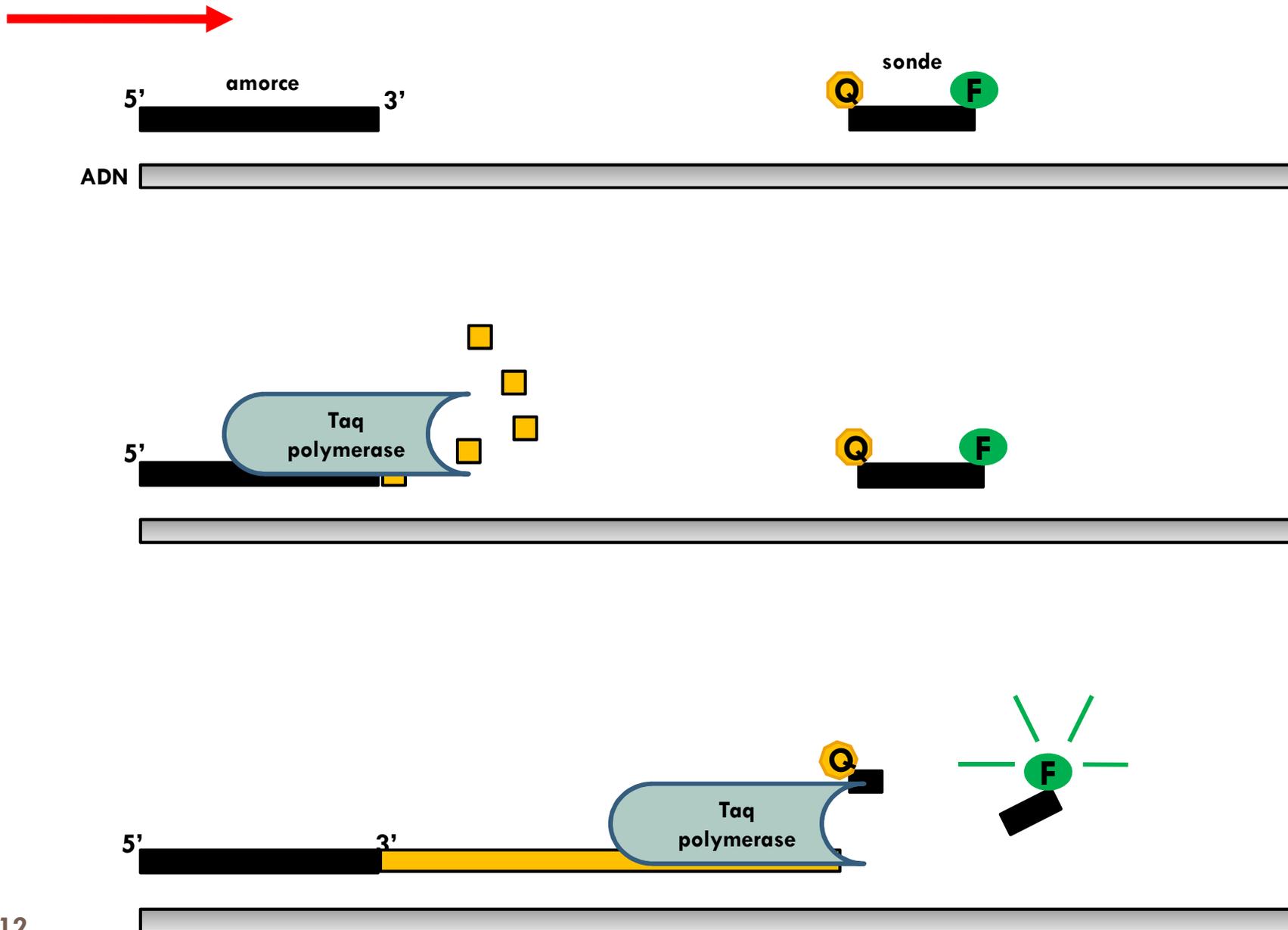
5. Notion d'éthique

Tous les patients ont signé un consentement libre et éclairé.

6. Méthode d'analyse

- MBcr-Abl
 - Extraire l'ARN total des globules blancs puis le doser ARN
 - Transcription inverse ARNm→ADNc
 - Amplification de la région correspondante aux transcrits Mbcr (Q-PCR, sonde Taqman)
- Jak2V617F: ADN

❖ PCR Quantitative sonde Taqman®



RESULTATS

RESULTATS 1

14

1. Caractéristiques des patients LMC+

a. Age

Age moyen: 33ans Extrêmes: 13- 46 ans

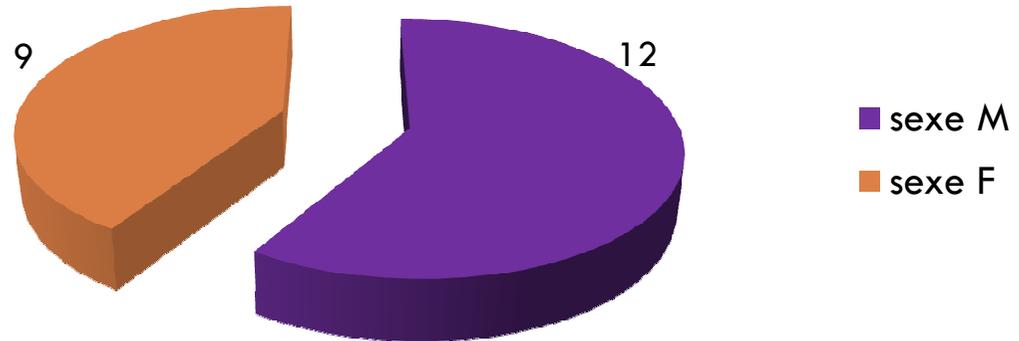
Tranche d' âge (ans)	Nombre	Pourcentage
Moins 20	3	14,3%
20-45	16	76,2%
Plus 45	2	9,5%
Total	21	100%

RESULTATS 2

15

b. Sexe

Sex ratio=1,33



c. Cytogénétique

- Tous les patients sous Imatinib
- Tous Phi+ à plus de 90% (avant traitement)
- 6 patients: anomalies cytogénétiques surajoutées

RESULTATS 3

16

d. Recherche quantitative du transcrit de fusion MBcr-Abl

- 20 patients ont eu des ratios MBcr-Abl/Abl positifs
- 1 patient: ration nul

RESULTATS 4

17

Patients	Date début ttt	Ratios bcr-abl	A.C. suraj.	Patients	Date de début ttt	Ratios bcr-abl	A.C. suraj.
1	Janv 2006	43,8379	0	9	Aout 2008	12,4909	Del Abl r
2	Mars 2007	38,0215	Del Abl r	10	Sept 2008	60,0717	0
3	Mars 2007	38,0231	Tcpl (3,9,22)	11	Dec 2008	48,6372	0
4	Aout 2007	274,1642	Phi variant	12	Dec 2008	24,0163	0
5	Aout 2007	2,7514	0	13	Janv 2009	28,0255	0
6	Nov 2007	236,0985	T(2,11) del q6	14	Janv 2009	2,0150	0
7	Fev 2008	23,1529		15	Janv 2009	4,0486	0
8	Mars 2008	11,6342	Trisomie 8	16	Fev 2009	120,4787	0

RESULTATS 5

18

Tableau récapitulatif: 5 patients sous Hydroxyurée

Patients	Début du ttt	Ratios MBcr-Abl
1	Inconnu	17,7075
2	Inconnu	177,0781
3	Inconnu	181,0458
4	Inconnu	46,6023
5	Inconnu	0

NB: Patient 5, R nul (mBcr)

RESULTATS 6

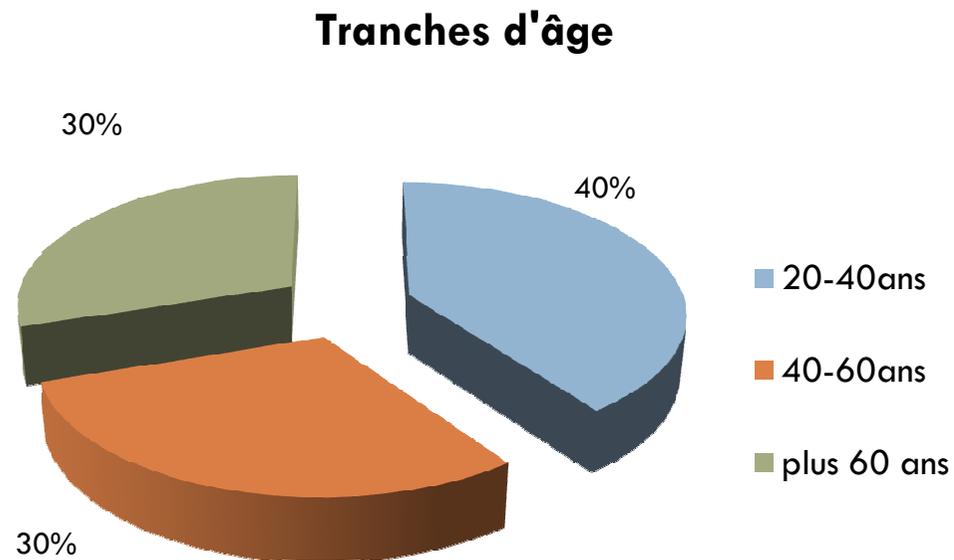
19

1. Caractéristiques des patients SMP « Phi négatif »

a- Age et sexe

Age moyen: 49ans Extrêmes: 20-69 ans

Sexe ratio=1



RESULTATS 7

20

b. Détection de la mutation de Jak2

- Seuil de sensibilité est de 3%

	Mutation de jak2 (charge mutationnelle)	Absence de mutation
Polyglobulie	4(+50%)	4(<3%)
MP	1(44%)	-
SMP bcr-abl neg	1(56%)	-
Total	6	4

COMMENTAIRES

COMMENTAIRES 1

22

1. Patients LMC+

A- Epidémiologie

➤ Age

- Dans notre série: Tranche d'âge 20-45 ans = 76%
- Sawadogo et al.: [19-44 ans] = 66%
- Diallo et al: 2 pics, 10 à 19ans et les plus de 40ans

➤ Sexe

- Dans notre série le sex ratio était de 1,33
- Abidjan et France: même sex ratio
- Mali: prédominance féminine

COMMENTAIRES 2

23

B- Valeurs des anomalies cytogénétiques

- Dans notre série: 6 patients (un facteur de mauvais pronostic???)
- Anomalies additionnelles: pas obligatoirement des signes précoces d'une maladie en transformation
- Expression d'une instabilité du clone leucémique
- **A.C: n'expliquent pas les ratios élevés observés dans notre série**

COMMENTAIRES 3

C. Aspects thérapeutiques

- ❖ Buts du traitement avec le Glivec ®
- 3^{ème} mois: RHC 12^{ème} mois: RCC
- 12^{ème} mois: réduction de 3logs du rapport Bcr-Abl/Abl comparé aux valeurs initiales (0,1% au 12^{ème} mois)
- Absence de réponse = résistance

COMMENTAIRES 4

25

❖ Patients sous Glivec®

- Aucune réponse moléculaire: 16 patients
- Patients pris en charge assez tardivement

- DASISION: RMM 28% à 12 mois
- ENESTnd: RMM 22% à 12 mois

COMMENTAIRES 5

26

❖ Patients sous Hydroxyurée (Hydréa®)

- Drogue antimitotique, rémission incomplète avec persistance du Chromosome Philadelphie
- Ratios: élevés 17,7075 à 181,0458

Cas particulier mBcr: CHU de Saint Louis

COMMENTAIRES 6

27

2. Patients SMP « Phi négatif »

❖ Importance de la charge mutationnelle

- élevée dans les polyglobulies (>50%)
- basse dans TE et MP (<50%)

❖ Notre série

- 4 polyglobulies (mutation V617F): C.M= 51% à 79%
- M.P: 44%

COMMENTAIRES 7

- Autre mutation activatrice: exon 12

- ❖ V617F: pas la seule mutation de jak2
- ❖ Scott et al.: 11 patients PV sans mutation V617F, mutation de l'exon 12 chez 10 patients
- ❖ 1 patient : pas de mutation V617F, recherche de la mutation de l'exon 12

CONCLUSION

CONCLUSION- PERSPECTIVES

30

JAK2V617F

- Idée sur les SMP «Philadelphie négatif»
- Diagnostic de certitude P.V
 - Perspectives
- Echantillonnage plus important
- Existence de syndromes croisés:
 - patients Bcr-Abl négatif: recherche mutation V617F
 - patients V617F négatif: recherche Bcr-Abl
- Patients PV+ V617F(-) : mutation de l'exon 12

CONCLUSION- PERSPECTIVES

31

MBcr-Abl

Aucune réponse moléculaire.

- Début du traitement?
- Observance?
- Efficacité des molécules?
- Suffisance des doses?
- Résistances?
- Perspectives: meilleur suivi hématologique et cytogénétique, suivi moléculaire , quantification sur un effectif plus important.

**MERCI DE VOTRE AIMABLE
ATTENTION**

REMERCIEMENTS

33

- Pr M Raphaël
- Dr R Creidy
- Dr Y Haddad
- Le personnel des laboratoires d'hématologie des CHU de Bicêtre et de Paul Brousse à Paris