

2023-2024

THÈSE

pour le

DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE

Qualification en HEMATOLOGIE

Les mutations additionnelles au diagnostic influencent la réponse au traitement de première ligne dans la thrombocythémie essentielle

Additional mutations at diagnosis impact the response of first-line treatment in essential thrombocythemia

MOSNIER Carole

Née le 10 novembre 1995 à Chaumont (52)

Sous la co-direction du professeur
M. LUQUE PAZ Damien et du docteur M. ORVAIN Corentin

Membres du jury

Madame le Professeur Mathilde HUNAUT-BERGER	Présidente
Monsieur le Professeur LUQUE PAZ Damien	Codirecteur
Monsieur le Docteur ORVAIN Corentin	Codirecteur
Madame le Professeur Aline SCHMIDT	Membre
Madame le Professeur Valérie Ugo	Membre

Soutenue publiquement le :
24 juin 2024

ENGAGEMENT DE NON PLAGIAT

Je, soussignée Carole Mosnier
déclare être pleinement consciente que le plagiat de documents ou d'une
partie d'un document publiée sur toutes formes de support, y compris l'internet,
constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée.
En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées
pour écrire ce rapport ou mémoire.

signé par l'étudiant(e) le **25/05/2024**



SERMENT D'HIPPOCRATE

« Au moment d'être admise 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.

Admise dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçue 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 déshonorée et méprisée si j'y manque ».

LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTÉ DE SANTÉ D'ANGERS

Doyen de la Faculté : Pr Nicolas Lerolle

Vice-Doyen de la Faculté et directeur du département de pharmacie :
Pr Sébastien Faure

Directeur du département de médecine : Pr Cédric Annweiler

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

ABRAHAM Pierre	PHYSIOLOGIE	Médecine
ANGOULVANT Cécile	MEDECINE GENERALE	Médecine
ANNWEILER Cédric	GERIATRIE ET BIOLOGIE DU VIEILLISSEMENT	Médecine
ASFAR Pierre	REANIMATION	Médecine
AUBE Christophe	RADIOLOGIE ET IMAGERIE MEDICALE	Médecine
AUGUSTO Jean-François	NEPHROLOGIE	Médecine
BAUFRETON Christophe	CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIOVASCULAIRE	Médecine
BELLANGER William	MEDECINE GENERALE	Médecine
BELONCLE François	REANIMATION	Médecine
BENOIT Jean-Pierre	PHARMACOTECHNIE	Pharmacie
BIERE Loïc	CARDIOLOGIE	Médecine
BIGOT Pierre	UROLOGIE	Médecine
BONNEAU Dominique	GENETIQUE	Médecine
BOUCHARA Jean-Philippe	PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE	Médecine
BOUET Pierre-Emmanuel	GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE	Médecine
BOURSIER Jérôme	GASTROENTEROLOGIE ; HEPATOLOGIE	Médecine
BOUVARD Béatrice	RHUMATOLOGIE	
BRIET Marie	PHARMACOLOGIE	Médecine
CALES Paul	GASTROENTEROLOGIE ; HEPATOLOGIE	Médecine
CAMPONE Mario	CANCEROLOGIE ; RADIOTHERAPIE	Médecine
CAROLI-BOSC François- Xavier	GASTROENTEROLOGIE ; HEPATOLOGIE	Médecine
CASSEREAU Julien	NEUROLOGIE	Médecine
CLERE Nicolas	PHARMACOLOGIE / PHYSIOLOGIE	Pharmacie
CONNAN Laurent	MEDECINE GENERALE	Médecine
COPIN Marie-Christine	ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES	Médecine
COUTANT Régis	PEDIATRIE	Médecine
CUSTAUD Marc-Antoine	PHYSIOLOGIE	Médecine
CRAUSTE-MANCIET Sylvie	PHARMACOTECHNIE HOSPITALIERE	Pharmacie
DE CASABIANCA Catherine	MEDECINE GENERALE	Médecine
DESCAMPS Philippe	GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE	Médecine
D'ESCATHA Alexis	MEDECINE ET SANTE AU TRAVAIL	Médecine
DINOMAS Mickaël	MEDECINE PHYSIQUE ET DE READAPTATION	Médecine

DIQUET Bertrand	PHARMACOLOGIE FONDAMENTALE ; PHARMACOLOGIE CLINIQUE ; ADDICTOLOGIE	Médecine
DUBEE Vincent	MALADIES INFECTIEUSES ET TROPICALES	Médecine
DUCANCELLE Alexandra	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE ; HYGIENE HOSPITALIERE	Médecine
DUVAL Olivier	CHIMIE THERAPEUTIQUE	Pharmacie
DUVERGER Philippe	PEDOPSYCHIATRIE	Médecine
EVEILLARD Mathieu	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE	Pharmacie
FAURE Sébastien	PHARMACOLOGIE PHYSIOLOGIE	Pharmacie
FOURNIER Henri- Dominique	ANATOMIE	Médecine
FOUQUET Olivier	CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIOVASCULAIRE	Médecine
FURBER Alain	CARDIOLOGIE	Médecine
GAGNADOUX Frédéric	PNEUMOLOGIE	Médecine
GOHIER Bénédicte	PSYCHIATRIE D'ADULTES	Médecine
GUARDIOLA Philippe	HEMATOLOGIE ; TRANSFUSION	Médecine
GUILET David	CHIMIE ANALYTIQUE	Pharmacie
HAMY Antoine	CHIRURGIE GENERALE	Médecine
HENNI Samir	MEDECINE VASCULAIRE	Médecine
HUNAUULT-BERGER Mathilde	HEMATOLOGIE ; TRANSFUSION	Médecine
IFRAH Norbert	HEMATOLOGIE ; TRANSFUSION	Médecine
JEANNIN Pascale	IMMUNOLOGIE	Médecine
KEMPF Marie	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE ; HYGIENE HOSPITALIERE	Médecine
KUN-DARBOIS Daniel	CHIRURGIE MAXILLO-FACIALE ET STOMATOLOGIE	Médecine
LACOEUILLE FRANCK	RADIOPHARMACIE	Pharmacie
LACCOURREYE Laurent	OTO-RHINO-LARYNGOLOGIE	Médecine
LAGARCE Frédéric	BIOPHARMACIE	Pharmacie
LANDREAU Anne	BOTANIQUE/ MYCOLOGIE	Pharmacie
LARCHER Gérald	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRES	Pharmacie
LASOCKI Sigismond	ANESTHESIOLOGIE-REANIMATION	Médecine
LEBDAI Souhil	UROLOGIE	Médecine
LEGENDRE Guillaume	GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE	Médecine
LEGRAND Erick	RHUMATOLOGIE	Médecine
LERMITE Emilie	CHIRURGIE GENERALE	Médecine
LEROLLE Nicolas	REANIMATION	Médecine
LUNEL-FABIANI Françoise	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE ; HYGIENE HOSPITALIERE	Médecine
LUQUE PAZ Damien	HEMATOLOGIE BIOLOGIQUE	Médecine
MARCHAIS Véronique	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE	Pharmacie
MARTIN Ludovic	DERMATO-VERERELOGIE BIOLOGIE ET MEDECINE DU	Médecine
MAY-PANLOUP Pascale	DEVELOPPEMENT ET DE LA REPRODUCTION	Médecine

MENEI Philippe	NEUROCHIRURGIE	Médecine
MERCAT Alain	REANIMATION	Médecine
PAPON Nicolas	PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE	Pharmacie
PASSIRANI Catherine	CHIMIE GENERALE	Pharmacie
PELLIER Isabelle	PEDIATRIE	Médecine
PETIT Audrey	MEDECINE ET SANTE AU TRAVAIL	Médecine
PICQUET Jean	CHIRURGIE VASCULAIRE ; MEDECINE VASCULAIRE	Médecine
PODEVIN Guillaume	CHIRURGIE INFANTILE	Médecine
PROCACCIO Vincent	GENETIQUE	Médecine
PRUNIER Delphine	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE	Médecine
PRUNIER Fabrice	CARDIOLOGIE	Médecine
RAMOND-ROQUIN Aline	MEDECINE GENERALE	Médecine
REYNIER Pascal	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE	Médecine
RICHOMME Pascal	PHARMACOGNOSIE	Pharmacie
RINEAU Emmanuel	ANESTHESIOLOGIE REANIMATION	Médecine
RIOU Jérémie	BIOSTATISTIQUES	Pharmacie
RODIEN Patrice	ENDOCRINOLOGIE, DIABETE ET MALADIES METABOLIQUES	Médecine
ROQUELAURE Yves	MEDECINE ET SANTE AU TRAVAIL	Médecine
ROUGE-MAILLART Clotilde	MEDECINE LEGALE ET DROIT DE LA SANTE	Médecine
ROUSSEAU Audrey	ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES	Médecine
ROUSSEAU Pascal	CHIRURGIE PLASTIQUE, RECONSTRUCTRICE ET ESTHETIQUE	Médecine
ROUSSELET Marie-Christine	ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES	Médecine
ROY Pierre-Marie	MEDECINE D'URGENCE	Médecine
SAULNIER Patrick	BIOPHYSIQUE ET BIOSTATISTIQUES	Pharmacie
SERAPHIN Denis	CHIMIE ORGANIQUE	Pharmacie
SCHMIDT Aline	HEMATOLOGIE ; TRANSFUSION	Médecine
TESSIER-CAZENEUVE Christine	MEDECINE GENERALE	Médecine
TRZEPIZUR Wojciech	PNEUMOLOGIE	Médecine
UGO Valérie	HEMATOLOGIE ; TRANSFUSION	Médecine
URBAN Thierry	PNEUMOLOGIE	Médecine
VAN BOGAERT Patrick	PEDIATRIE	Médecine
VENARA Aurélien	CHIRURGIE VISCERALE ET DIGESTIVE	Médecine
VENIER-JULIENNE Marie-Claire	PHARMACOTECHNIE	Pharmacie
VERNY Christophe	NEUROLOGIE	Médecine
WILLOTEAUX Serge	RADIOLOGIE ET IMAGERIE MEDICALE	Médecine

MAÎTRES DE CONFÉRENCES

AMMI Myriam	CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIOVASCULAIRE	Médecine
BAGLIN Isabelle	CHIMIE THERAPEUTIQUE	Pharmacie

BASTIAT Guillaume	BIOPHYSIQUE ET BIOSTATISTIQUES	Pharmacie
BEAUVILLAIN Céline	IMMUNOLOGIE	Médecine
BEGUE Cyril	MEDECINE GENERALE	Médecine
BELIZNA Cristina	MEDECINE INTERNE	Médecine
BENOIT Jacqueline	PHARMACOLOGIE	Pharmacie
BESSAGUET Flavien	PHYSIOLOGIE PHARMACOLOGIE	Pharmacie
BERNARD Florian	ANATOMIE ; discipline hospit : NEUROCHIRURGIE	Médecine
BLANCHET Odile	HEMATOLOGIE ; TRANSFUSION	Médecine
BOISARD Séverine	CHIMIE ANALYTIQUE	Pharmacie
BRIET Claire	ENDOCRINOLOGIE, DIABETE ET MALADIES METABOLIQUES	Médecine
BRIS Céline	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE	Pharmacie
CANIVET Clémence	GASTROENTEROLOGIE-HEPATOLOGIE	Médecine
CAPITAIN Olivier	CANCEROLOGIE ; RADIOTHERAPIE	Médecine
CHAO DE LA BARCA Juan-Manuel	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE	Médecine
CHEVALIER Sylvie	BIOLOGIE CELLULAIRE	Médecine
CHOPIN Matthieu	MEDECINE GENERALE	Médecine
CODRON Philippe	NEUROLOGIE	Médecine
COLIN Estelle	GENETIQUE	Médecine
DEMAS Josselin	SCIENCES DE LA READAPTATION	Médecine
DERBRE Séverine	PHARMACOGNOSIE	Pharmacie
DESHAYES Caroline	BACTERIOLOGIE VIROLOGIE	Pharmacie
DOUILLET Delphine	MEDECINE D'URGENCE	Médecine
FERRE Marc	BIOLOGIE MOLECULAIRE	Médecine
FORTRAT Jacques-Olivier	PHYSIOLOGIE	Médecine
GHALI Maria	MEDECINE GENERALE	Médecine
GUELFF Jessica	MEDECINE GENERALE	Médecine
HAMEL Jean-François	BIOSTATISTIQUES, INFORMATIQUE MEDICALE	Médicale
HELESBEUX Jean-Jacques	CHIMIE ORGANIQUE	Pharmacie
HERIVAUX Anaïs	BIOTECHNOLOGIE	Pharmacie
HINDRE François	BIOPHYSIQUE	Médecine
JOUSSET-THULLIER Nathalie	MEDECINE LEGALE ET DROIT DE LA SANTE	Médecine
JUDALET-ILLAND Ghislaine	MEDECINE GENERALE	Médecine
KHIATI Salim	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE	Médecine
LEGEAY Samuel	PHARMACOCINETIQUE	Pharmacie
LEMEE Jean-Michel	NEUROCHIRURGIE	Médecine
LE RAY-RICHOMME Anne-Marie	PHARMACOGNOSIE	Pharmacie
LEPELTIER Elise	CHIMIE GENERALE	Pharmacie
LETOURNEL Franck	BIOLOGIE CELLULAIRE	Médecine
LIBOUBAN Hélène	HISTOLOGIE	Médecine
MABILLEAU Guillaume	HISTOLOGIE, EMBRYOLOGIE ET CYTOGENETIQUE	Médecine
MALLET Sabine	CHIMIE ANALYTIQUE	Pharmacie
MAROT Agnès	PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE	Pharmacie
MESLIER Nicole	PHYSIOLOGIE	Médecine

MIOT Charline	IMMUNOLOGIE	Médecine
MOUILLIE Jean-Marc	PHILOSOPHIE	Médecine
NAIL BILLAUD Sandrine	IMMUNOLOGIE	Pharmacie
PAILHORIE Hélène	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE	Médecine
PAPON Xavier	ANATOMIE	Médecine
PASCO-PAPON Anne	RADIOLOGIE ET IMAGERIE MEDICALE	Médecine
PECH Brigitte	PHARMACOTECHNIE	Pharmacie
PENCHAUD Anne-Laurence	SOCIOLOGIE	Médecine
PIHET Marc	PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE	Médecine
POIROUX Laurent	SCIENCES INFIRMIERES	Médecine
PY Thibaut	MEDECINE GENERALE	Médecine
RIOU Jérémie	BIOSTATISTIQUES	Pharmacie
RIQUIN Elise	PEDOPSYCHIATRIE ; ADDICTOLOGIE	Médecine
RONY Louis	CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE ET TRAUMATOLOGIQUE	Médecine
ROGER Emilie	PHARMACOTECHNIE	Pharmacie
SAVARY Camille	PHARMACOLOGIE-TOXICOLOGIE	Pharmacie
SCHMITT Françoise	CHIRURGIE INFANTILE	Médecine
SCHINKOWITZ Andréas	PHARMACOGNOSIE	Pharmacie
SPIESSER-ROBELET Laurence	PHARMACIE CLINIQUE ET EDUCATION THERAPEUTIQUE	Pharmacie
TEXIER-LEGENDRE Gaëlle	MEDECINE GENERALE	Médecine
VIAULT Guillaume	CHIMIE ORGANIQUE	Pharmacie

AUTRES ENSEIGNANTS

PRCE		
AUTRET Erwan	ANGLAIS	Santé
BARBEROUSSE Michel	INFORMATIQUE	Santé
COYNE Ashley-Rose	ANGLAIS	Santé
O'SULLIVAN Kayleigh	ANGLAIS	Santé
RIVEAU Hélène	ANGLAIS	
PAST/MAST		
BEAUVAIS Vincent	OFFICINE	Pharmacie
BRAUD Cathie	OFFICINE	Pharmacie
DILÉ Nathalie	OFFICINE	Pharmacie
GUILLET Anne-Françoise	PHARMACIE DEUST PREPARATEUR	Pharmacie
MOAL Frédéric	PHARMACIE CLINIQUE	Pharmacie
CHAMPAGNE Romain	MEDECINE PHYSIQUE ET READAPTATION	Médecine
GUITTON Christophe	MEDECINE INTENSIVE-REANIMATION	Médecine
KAASSIS Mehdi	GASTRO-ENTEROLOGIE	Médecine
LAVIGNE Christian	MEDECINE INTERNE	Médecine
PICCOLI Giorgia	NEPHROLOGIE	Médecine

POMMIER Pascal	CANCEROLOGIE-RADIOTHERAPIE	Médecine
SAVARY Dominique	MEDECINE D'URGENCE	Médecine
PLP		
CHIKH Yamina	ECONOMIE-GESTION	Médecine

REMERCIEMENTS

Aux membres du jury :

Au Professeur Mathilde Hunault-Berger, je vous remercie de m'avoir fait l'honneur d'avoir accepté de présider mon jury de thèse. Je vous remercie pour votre encadrement au cours de mon internat. Soyez assuré de ma reconnaissance et de mon profond respect.

Au Docteur Corentin Orvain, je te remercie de m'avoir proposé ce travail et de m'avoir encadrée. Merci pour ta bienveillance, ta disponibilité et pour tous les conseils avisés que tu as pu me donner tout au long de mon internat.

Au Professeur Damien Luque Paz, je te remercie de m'avoir proposé ce travail et de m'avoir aidée tout au long de celui-ci. Merci pour tout le temps (si précieux) que tu m'as accordé. Merci de me pousser à faire mieux.

Au Professeur Aline Schmidt, je vous remercie d'avoir accepté de juger ce travail. Merci pour ces années d'enseignement et votre soutien au cours de mon internat.

Au Professeur Valérie Ugo, vous me faites l'honneur de juger ce travail. Soyez assuré de ma reconnaissance et de mon profond respect.

Au service des maladies du sang

A tous les médecins du service, merci pour tout ce que vous m'avez appris, pour votre disponibilité et votre patience. Merci aux infirmiers et aides-soignants de Siguier, Harvey et d'HDJ pour votre bonne humeur et votre soutien pour les jours pas faciles.

A ma famille

A mes parents, sans qui je n'en serais pas là aujourd'hui. C'est grâce à vous que je suis devenue la personne que je suis. Je sais que vous nous avez tout donné, je vous aime.

A Lucie et Julia, je m'excuse publiquement pour toutes les fois où je vous ai embêtées (même si je ne compte pas m'arrêter là). Merci de m'avoir supporté depuis tant d'années, je vous aime.

A toute ma famille, mes grands-parents, oncles, tantes et cousines. Je crois qu'il n'y aurait pas assez de pages pour tous vous citer, donc je fais un tir groupé, mais merci d'être là depuis toujours (et merci pour tous ces repas de famille).

Aux Brassacs, la famille de cœur.

A ma deuxième famille

Je remercie la vie de nous avoir tous assis dans cette même classe (sauf la pièce rapportée). Je vous remercie de me connaître si bien, de m'accepter telle que je suis, de me rassurer, me soutenir. A nos vacances, aux anniversaires, aux week-ends parisiens, à nous.

Alban, merci pour ces fous rires (parfois longs pour les autres), ta joie de vivre et ton enthousiasme débordant.

Cindy, tu auras toujours une place tout à toi.

Cissou, merci d'être toi, de me faire rire, de pousser la chansonnette, et merci d'être toujours là.

Juliette, merci pour ta joie et tes soupirs (et ton rire, et tes histoires, et tes papouilles).

Lélé, nos rendez-vous hebdomadaires Lyonnais me manquent. Je t'admire pour qui tu es. Merci d'être là.

Lolo, merci de prendre soin de nous, mais surtout prends soin de toi. Ya tebya lyublyu.

Molette, je crois que tu sais dans le fond ce que je pense de toi. Tu es quelqu'un d'extraordinaire. Je pense que tu détiens le record de la personne avec qui j'ai le plus ri au cours de ma vie (et ça, c'est beau).

REMERCIEMENTS

A mes amis

A ma troisième famille (si si c'est vrai), ma coloc. C'était si facile (et si drôle) de vivre avec vous. Sans vous, mon internat n'aurait pas eu la même saveur. Antoine, merci de nous avoir nourri pendant tous ces semestres, et d'être toujours là pour nous (et t'appelles, hein ?). Hélène, merci pour ton optimisme à toute épreuve et nos discussions sur le canapé. Merci à vous de m'avoir aidé à tenir le cou.

A la tribu du Donjon : Marie de m'avoir toujours suivie dans mes folies (essentiellement au baraka), Emilie d'être toujours là et à 2000%, Fanny de me faire toujours autant rire. Camille, pour nos révisions (surtout en D4) et ta façon de voir la vie. A Vincent, Camille, Abé, Amélie, Anne-so, Yoyo, Nico, Sam et Luc pour ces soirées dans Clermont. A Carole, pour le Pérou.

A Poups, mon coup de foudre amical. Ensemble, on est vraiment des lions en cage. Tu sais pas où est Hortense ? A Mama.

Aux Angevins : Hugo pour ton rire sonore, Lucie pour ta joie de vivre, Gabi pour ta bonne humeur. A Ganou, Isma, Paul x2, Lucien x2, Franck, Louise et Théo, Julien, Clara, merci à vous pour ces verres (mais pas merci aux verres de chauffe), pour toutes ces soirées à la coloc (et merci aux voisins), depuis peu les marchés, à tous ceux qui ont dormi dans le canapé, et à vos conneries avant de vous écrouler dans le canapé. Merci d'être absolument toujours motivés pour tout. A Julie, merci d'avoir réussi à me trainer à l'escalade pendant 6 mois.

A la team du squash : Maia, Mathilde et Charles, merci pour les planches de mozza stick, aux verres du dimanche soir, et du coup, au squash.

Mathilde, merci pour ta franchise et ta spontanéité (et aussi ta détermination sur le terrain).

Maia, merci pour ta gentillesse et ta patience incroyable face à mes problèmes en boucle. Merci d'être là, cette année de master 2 n'en est que meilleure.

Charles, merci pour ta bonne ambiance face à à peu près tout, ta motivation pour trouver les meilleurs mini-burgers de Lyon, et tes conseils de vie qui sont toujours justes.

Merci à mes co-internes,

A mes premiers co-internes d'oncologie. Merci à Thomas et Marine de nous avoir expliqué la vie et sauvés de ce premier semestre, avec Jérémie.

A Marine, merci d'avoir ensoleillé mes journées (après 21h c'est la nuit ou pas ?) de cette année d'hémo-néphrologie.

Au labo : Suzon, Maxime et Audrey. J'attends avec impatience nos prochains brunchs/café/mots croisés/jeux.

A la réa du Mans : Kevin, Dédé, Raphaël, Remi yaourt, Camille debout, Victo, Fanchu, Romain, Delphine, Papy Abel. Merci pour ces belles tranches de rigolades, de pesto, et de dessins.

A mes co-internes de Lyon, merci pour ce semestre.

A tous ceux avec qui j'ai partagé un semestre d'hémo (attention je mélange tout) : Mathilde (encore), Hugo (encore), Marine (toujours présente), Juliette, Adja (la belle gosse) et Alhassane.

Et à mes co-internes d'hémo : Christopher, Marianne, Agathe, Marie, Lucas, Clémentine, Paul, Hortense : merci de m'avoir accueilli (et de m'avoir cherché jusqu'au tram des Capucins pour Christopher) et pour tous les conseils que vous avez pu me donner, merci à ceux avec qui j'ai partagé un ou plusieurs semestres, et à la relève.

A la team Ficus, parce que malgré tout les ficus sont alignés : Maia, Loïck, Nicolas (la petite jaquette de son nom), Romain (notre rockstar), Carlito, Aymeric, et Audrey. Merci pour ces debriefs quotidiens à propos de nos avancées scientifiques spectaculaires (et oui, ça n'a pas marché, on comprend vraiment pas pourquoi) et pour ces fous-rires le midi.

A **Nicolas**, merci d'être toi. Merci de m'avoir rejoint à Angers, je mesure ce que cela te coûte d'être loin des tiens. Je remercie ta famille et tes amis qui m'ont si bien accueillie. Merci pour ta franchise, ton soutien, ces fous-rires. Je te veux près de moi pour longtemps. Je t'aime.

Plan

CONTEXTE

HYPOTHESES ET OBJECTIFS

ABSTRACT

INTRODUCTION

METHODS

1. Patients selection
2. Definitions for risk stratification and response
3. Data collection
4. Biological analysis
5. Statistical analysis

RESULTS

1. Patient characteristics
2. Response to treatment
3. Thrombosis and progression to myelofibrosis/acute leukemia

DISCUSSION

CONCLUSION/PERSPECTIVES

BIBLIOGRAPHIE

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

TABLE DES MATIERES

SUPPLEMENTAL

CONTEXTE

Les néoplasies myéloprolifératives

Les néoplasies myéloprolifératives (NMP) sont des hémopathies myéloïdes liées à une anomalie acquise et clonale de la cellule souche hématopoïétique qui conduit à la production d'un excès de cellules myéloïdes sans blocage de maturation. Elles regroupent plusieurs pathologies qui partagent certaines caractéristiques clinico-biologiques telles qu'une incidence de thrombose accrue et un risque de transformation en myélofibrose secondaire ou en leucémie aigüe. Il s'agit de maladies rares et chroniques.

On distingue classiquement la leucémie myéloïde chronique (LMC) des autres NMP dites *BCR::ABL* négatives. Parmi les NMP *BCR::ABL* négatives, les trois entités principales sont la polyglobulie de Vaquez (PV), la thrombocythémie essentielle (TE) et la myélofibrose primitive (MFP). Il existe d'autres entités plus rares telles que la leucémie chronique à neutrophiles, la leucémie chronique à éosinophiles ou les NMP inclassables que nous n'aborderons pas ici. En France, l'incidence des NMP autres que la LMC était de 3 762 cas en 2018 (1).

La classification de ces NMP repose en partie sur la lignée myéloïde où prédomine la prolifération cellulaire : érythroïde dans la polyglobulie de Vaquez et mégacaryocytaire dans la thrombocythémie essentielle. La myélofibrose associe une hyperplasie de la lignée mégacaryocytaire au développement progressif d'une fibrose médullaire.

Les mutations promotrices

La compréhension, la physiopathologie et le diagnostic des NMP ont progressé de façon majeure avec la mise en évidence de mutations somatiques récurrentes. Ces mutations dites promotrices sont à l'origine de la prolifération cellulaire et concernent les gènes *JAK2* (V617F et exon 12), *MPL* (W515L ou K) et *CALR*, et ont été identifiées respectivement en 2005 (2,3) 2006 (4) et 2013 (5,6). Ces mutations sont observées en proportions différentes selon les pathologies. La mutation *JAK2* V617F est ainsi retrouvée dans 95% des PV et environ 50 à 60% des TE et des MFP, et est responsable d'une activation constitutive de la voie JAK-STAT indépendante des cytokines comme l'érythropoïétine (2,7). *MPL* est le gène qui code pour le récepteur de la thrombopoïétine, le principal facteur de croissance de la lignée mégacaryocytaire. De façon similaire aux mutations de *JAK2*, les mutations de *MPL*, entraînent une activation ligand-indépendante de la voie JAK-STAT; elles sont retrouvées dans 2 à 3% des TE et environ 3 à 6% des MFP (4,7,8). Enfin en 2013, les mutations du gène *CALR* qui code pour la calréticuline ont été identifiées. La Calréticuline est une protéine chaperonne du réticulum endoplasmique qui, en cas de mutation du gène *CALR*, se lie au récepteur de la thrombopoïétine de manière forte et l'active constitutivement (9,10). On retrouve 20 à 25% de mutations *CALR* dans la TE et 25 à 30% dans la MFP (7). Ces mutations promotrices sont donc toutes responsables de l'activation de la voie JAK-STAT et confèrent aux cellules une prolifération indépendante des facteurs de croissance. Les patients atteints de TE ou MFP chez qui aucune des 3 mutations promotrices n'est retrouvée sont appelés « triples-négatifs » et représentent 10 à 20% des cas (11,12). Initialement décrites comme mutuellement exclusives, plusieurs cas de co-mutations promotrices ont également été rapportées dans la littérature (13,14).

La thrombocythémie essentielle : épidémiologie et aspects cliniques

En France, la thrombocythémie essentielle est la NMP la plus fréquente avec 2 057 nouveaux cas en 2018 (contre 1129 cas de PV, 520 cas de MFP et 872 cas de LMC, la même année) (1). L'âge médian au diagnostic est de 69 ans, avec une prédominance féminine (58%) (1). Vingt à quarante pourcent des patients ont un antécédent de thrombose soit précédent soit au moment du diagnostic, ce qui peut constituer le mode d'entrée dans la maladie (8,15,16). Il existe également un risque de saignement, principalement cutanéomuqueux, puisque 20% des patients atteints de thrombocythémie essentielle peuvent avoir une thrombopathie ou un syndrome de Willebrand acquis secondaire à leur hémopathie (17). Ce risque de saignement est majoré en cas de thrombocytose extrême (> 1500 G/L). Le plus souvent les patients sont asymptomatiques au diagnostic, qui est porté fortuitement sur l'exploration d'une thrombocytose à l'hémogramme. Parfois des signes cliniques peuvent être présents tels que de la fatigue, des douleurs abdominales, un prurit, des sueurs nocturnes, une pesanteur splénique, des céphalées ou encore des troubles microcirculatoires (comme une érythromélgie, un livédo ou une ischémie digitale) (18,19).

Le diagnostic repose sur la présence des quatre critères majeurs ou des trois premiers critères majeurs associé à un critère mineur qui est soit la mise en évidence d'un marqueur clonal ou l'exclusion de toute autre cause de thrombocytose réactionnelle (20,21), indiqués ci-dessous.

Critères majeurs
1. Plaquettes $\geq 450 \times 10^9/L$
2. Biopsie ostéomédullaire avec une prolifération prédominant sur la lignée mégacaryocytaire avec une augmentation de nombre de mégacaryocytes matures de grande taille au noyau hyperlobulé. Pas d'augmentation notable de la granulopoïèse ou de l'érythropoïèse. Rarement densification minime de la trame réticulinique (fibrose de grade 1)
3. Absence de critères diagnostic pour une LMC (<i>BCR :: ABL</i>), une PV ou une MFP, ou autre néoplasie myéloproliférative ou syndrome myélodysplasique
4. Mutation promotrice des gènes <i>JAK2</i> , <i>MPL</i> , ou <i>CALR</i>
Critères mineur
Détection d'un marqueur clonal ou exclusion d'une cause de thrombocytose réactionnelle

Pronostic de la thrombocytémie essentielle

La thrombocytémie essentielle est une maladie de bon pronostic avec une survie globale estimée à 20 ans de médiane, pouvant atteindre 32 ans chez les patients âgés de moins de 60 ans (16).

Elle peut dans de rares cas évoluer en myélofibrose secondaire (13% à 20 ans) ou en leucémie aigüe (2,6-3,8% à 20 ans) (8,16). En France, la survie nette standardisée à 5 ans est de 91% (22).

La principale morbidité au cours du suivi est liée au risque de thrombose, dont l'incidence est de 1,9 patient-année, parfois responsable de séquelles lourdes pour le patient (23). L'objectif des traitements est donc de prévenir la récurrence de thrombose plus que de réduire le risque de progression hématologique. Plusieurs scores ont été développés successivement pour prédire le risque de nouvelle thrombose au cours du suivi. Dans la classification ELN de 2011, les patients appartiennent au groupe de « haut risque » en cas d'antécédent de thrombose

et/ou d'âge supérieur à 60 ans. Le score IPSET (International Prognostic Score for Thrombosis in Essential Thrombocythemia) classe les patients en trois groupes dits de « haut risque », « risque intermédiaire » ou « faible risque » en fonction de l'âge (supérieur à 60 ans), de la présence de facteurs de risques cardiovasculaires, d'un antécédent de thrombose ou d'une mutation de *JAK2V617F*. La version révisée de 2015, le r-IPSET, simplifie cette classification qui tient compte du statut mutationnel de *JAK2V617F*, de l'âge (> 60 ans) et d'un antécédent de thrombose. Dans le r-IPSET, les patients sont classés en quatre groupes : « très faible risque », « faible risque », « risque intermédiaire » et « haut risque » de thrombose.

Récemment, une large étude de 1055 patients atteints de néoplasie myéloproliférative suggère que les facteurs de risque de thrombose artériel seraient différents de ceux de la thrombose veineuse (24). Les facteurs de risque associés à la thrombose artérielle seraient l'âge > à 60 ans, la présence de facteurs de risque cardiovasculaires, les mutations additionnelles de *TET2* et *DNMT3A*, ainsi qu'un antécédent de thrombose artérielle ; alors que ceux d'une récurrence de thrombose veineuse seraient la présence d'une mutation *JAK2V617F* avec une charge allélique >50% et un antécédent de thrombose dans un territoire veineux (24).

Depuis 2016, la myélofibrose pré-fibrotique (PreMF) est différenciée de la forme avancée de la myélofibrose primitive, selon les critères diagnostics listés dans le tableau ci-dessous (25).

En pratique, la myélofibrose préfibrotique peut-être difficile à distinguer de la thrombocythémie essentielle. En tenant compte de cette classification, 16% des TE ont été reclassées en PreMF dans une cohorte internationale de 1104 patients (26). Dans cette même cohorte, les patients avec une myélofibrose pré-fibrotique avaient un moins bon pronostic que ceux atteints de TE avec une incidence cumulée à 10 ans de transformation en myélofibrose de stade avancée de 12,8%, en leucémie aigüe de 5,8% et de décès de 24,4% contre 0,8%, 0,7% et 14,8% en cas de TE, respectivement.

Critères diagnostiques de la myélofibrose pré-fibrotique :

Critères majeurs
1. Biopsie ostéomédullaire avec une prolifération prédominant sur la lignée mégacaryocytaire avec des atypies, une fibrose médullaire ne dépassant pas le grade 1 associée à une augmentation de la cellularité, une prolifération de la lignée granuleuse et souvent à une diminution de l'érythropoïèse
2. Absence de critères diagnostic pour une LMC (<i>BCR :: ABL</i>), une PV ou une TE, ou autre néoplasie myéloproliférative ou syndrome myélodysplasique
3. Mutation promotrice des gènes <i>JAK2</i> , <i>MPL</i> , ou <i>CALR</i> ou si absence de ces mutations, présence d'un marqueur clonal tel que <i>ASXL1</i> , <i>EZH2</i> , <i>TET2</i> , <i>IDH1/IDH2</i> , <i>SRSF2</i> , <i>SF3B1</i> ou absence de cause réactionnelle de fibrose médullaire (infection, maladie auto-immune, hémopathie lymphoïde, métastase médullaire, cause toxique)
Critères mineur
Anémie non liée à une comorbidité
Hyperleucocytose ≥ 11 G/L
Splénomégalie palpable
Augmentation des LDH
Présence d'érythroblastes sanguins

Traitements de la thrombocytémie essentielle

Actuellement, les recommandations de l'ELN (27) et du NCCN (28) (National Comprehensive Cancer Network) préconisent d'initier un traitement cytoréducteur chez les patients de haut risque en association avec un antiagrégant. L'hydroxurée (HU) est le seul traitement recommandé en première ligne et ayant l'AMM en France (27,28). Cependant, l'interferon est une alternative proposée aux patients jeunes compte-tenu de sa capacité à réduire la charge allélique (27,29,30). En cas de rechute ou de progression, un traitement par interferon ou

anagrélide peut être proposé en deuxième ligne (27). La place du ruxolitinib, un inhibiteur des tyrosines kinases *JAK1* et *JAK2*, est en cours d'évaluation chez les patients en rechute (31). Plusieurs définitions de la réponse au traitement ont été développées. Les dernières définitions actualisées en 2013 intègrent la réponse histologique évaluée sur la biopsie ostéomédullaire, peu réalisable en pratique (32). La définition de la réponse couramment utilisée est celle de l'ELN de 2009, indiquée dans le tableau ci-dessous (33).

Définition de la réponse clinico-hématologique dans la thrombocytémie essentielle	
Réponse complète	1) Taux de plaquettes $\leq 400 \times 10^9/L$, et 2) Pas de symptômes en lien avec la maladie, et 3) Rate de taille normale à l'imagerie, et 4) Taux de leucocytes $\leq 10 \times 10^9/L$
Réponse partielle	Chez les patients qui n'atteignent pas les critères de réponse complète, taux de plaquette $\leq 600 \times 10^9/L$ ou diminution de $> 50\%$ depuis l'initiation du traitement
Sans réponse	Toute réponse qui ne remplit pas les critères de réponse partielle

La résistance ou intolérance à l'hydroxyurée est définie par un taux de plaquette $> 600 \text{ G/L}$ après au minimum 3 mois de traitement à posologie efficace, ou bien un taux $> 400 \text{ G/L}$ associé à une anémie ou leucopénie, ou toute manifestation cutanéomuqueuse jugée inacceptable (notamment les uclères) ou épisode de fièvre en lien avec le traitement (34).

Plus de la majorité des patients répondent au traitement de première ligne : dans une large cohorte espagnole de 1104 patients atteints de TE, 69% étaient en réponse complète, 26% en réponse partielle et 5% n'ont pas répondu (35). Environ 20% des patients deviennent

résistants ou intolérants au traitement par HU au cours de leur suivi, ce qui est de mauvais pronostic. Ces patients ont un risque accru de transformation en myélofibrose et une survie globale à 10 ans nettement diminuée à 26% contre 79% chez les patients non résistants/intolérants (36).

Séquençage haut-débit et profil mutationnel de la thrombocythémie essentielle

Récemment, le séquençage de nouvelle génération (NGS), désormais accessible en routine, a permis de mieux comprendre le paysage mutationnel des néoplasies myéloprolifératives *BCR::ABL* négatives (37). Le NGS est une méthode qui permet de séquencer massivement des millions de fragments d'ADN simultanément avec une grande sensibilité. Un panel de gènes d'intérêt est choisi en amont, en fonction de l'indication pour laquelle le NGS est réalisé.

Avec cette technique, de nouvelles mutations, dites additionnelles par rapport aux mutations promotrices, ont été découvertes. Ces mutations peuvent être retrouvées dans d'autres hémopathies que les néoplasies myéloprolifératives et touchent des gènes qui sont impliqués dans différentes fonctions cellulaires : la régulation épigénétique (*DNMT3A*, *TET2*, *IDH1*, *IDH2*, *ASXL1*, *EZH2*), la signalisation cellulaire (*NRAS*, *KRAS*, *SH2B3*, *CBL*), l'épissage génétique (*SRSF2*, *SF3B1*, *U2AF1*) ou encore le cycle cellulaire (*TP53*, *NFE2*, *RUNX1*) (38).

Ces mutations somatiques additionnelles sont présentes chez environ 44% des patients atteints de TE (39). Les gènes les plus fréquemment mutés sont *TET2* (entre 3 à 10%), *ASXL1* (5 à 10%), *DNMT3A* (1 à 5%), *NFE2* (1 à 7%). Dans les NMP, certaines mutations, comme celles du spliceosome ou de *TP53*, sont associées à un risque de progression en myélofibrose secondaire ou leucémie aigüe (40). L'association entre les mutations additionnelles et le pronostic a surtout été décrit dans la myélofibrose primitive, où les mutations dite de « haut risque moléculaires » (HMR) des gènes *ASXL1*, *EZH2*, *SRSF2*, *IDH1* et *IDH2* sont associées à plus de transformation en leucémie aigüe et à une survie globale diminuée (41). Dans la

thrombocytémie essentielle, les mutations de *SRSF2*, *SF3B2*, *U2AF1* et *TP53* sont associées à un mauvais pronostic et incluses dans le score MIPSS-ET (Mutation-enhanced international prognostic systems-Essential thrombocytemia), qui prédit la survie globale chez les patients atteints de thrombocytémie essentielle (42).

Une association entre paysage mutationnel et réponse au traitement ?

Les patients ayant une mutation du gène *CALR* ou *MPL* semblent moins bien répondre au traitement de première ligne que les patients avec une mutation du gène *JAK2V617F* ou que ceux triples-négatifs (35). Bien que les mutations additionnelles soient associées au pronostic, peu d'études se sont intéressées à leur effet sur la réponse au traitement. Une première étude menée par Quintas-Cardama sur 82 patients (43 PV et 39 TE) traités par Peginterferon 2-alpha dans le cadre d'une étude de phase II, a mis en évidence une fréquence plus élevée de mutations additionnelles chez les patients qui n'obtenaient pas de réponse hématologique complète (43). Dans une deuxième étude sur 31 patients atteints de thrombocytémies essentielles mutées *CALR* traités par interféron pegylé, les patients porteurs d'une mutation additionnelle répondaient moins bien, avec un taux plus élevé de non réponse et de réponse moléculaire mineure (44). Ces deux études ne concernaient que la réponse sous interféron et les patients avaient majoritairement déjà été traités par un traitement cytoréducteur.

HYPOTHESES ET OBJECTIFS

Alors que l'absence de réponse au traitement est associée à un pronostic péjoratif, il est encore difficile de déterminer quels patients vont répondre ou non au traitement. Il apparaît donc important de développer des outils permettant de prédire au mieux quels patients ne répondront pas de manière optimale au traitement afin d'adapter d'emblée le traitement chez eux. Dans cette optique, l'apport du profil moléculaire n'a été que peu étudié. Le but de ce travail est donc de décrire l'association éventuelle entre les mutations additionnelles au diagnostic et la réponse au traitement de première ligne par hydroxurée ou interféron pegylé dans la thrombocythémie essentielle.

Les objectifs sont :

- objectif principal : association entre profil mutationnel évalué par NGS et réponse au traitement évalué à 12 mois
- objectifs secondaires :
 - évaluation de la réponse au traitement évalué après un an
 - évaluation de l'association potentielle des mutations additionnelles et le risque de progression en myélofibrose et en leucémie aigue
 - évaluation de l'association potentielle des mutations additionnelles et la survenue d'un évènement thrombotique au cours du suivi

Additional mutations at diagnosis impact the response to first-line treatment in essential thrombocythemia

Authors

Carole Mosnier^{1,2}, Laurane Cottin^{1,3}, Françoise Boyer², Sandrine Lemoine¹, Amélie Bachelot^{1,3}, Joris Argentin³, Mathilde Hunault-Berger^{1,2,4}, Valérie Ugo^{1,4}, Corentin Orvain^{1,2,4*} et Damien Luque Paz^{1,3,4*}

¹ Univ Angers, Nantes Université, CHU Angers, Inserm, CNRS, CRCI2NA, F-49000, Angers, France

² Maladies du Sang, CHU d'Angers, Angers, France.

³ Laboratoire d'Hématologie, CHU Angers, Angers, France.

⁴ Fédération Hospitalo-Universitaire Grand-Ouest Acute Leukemia (FHU-GOAL), Angers, France

*these authors contributed equally to this work

Short title : Additional mutations and response to treatment in essential thrombocythemia

Keywords : Additional mutation, Interferon- α , Hydroxyurea, Essential thrombocythemia,

Total number of :

Abstract words : 356 Text words : 3078

Figures : 6, Supplemental Figure : 3

Tables : 1, Supplemental Tables : 3

ABSTRACT

Introduction

Essential thrombocythemia (ET) are *BCR::ABL1* negative myeloproliferative neoplasms that require treatment to reduce thromboembolic events which are the main cause of morbidity during follow-up. Since patients with resistance or intolerance have an adverse prognosis, it would be interesting to predict which patient will respond to first-line treatment. We therefore aim to describe the association between additional mutations at diagnosis and response to first-line treatment in essential thrombocythemia.

Methods

In this retrospective monocentric study at Angers University Hospital, patients diagnosed with ET and who had a DNA blood sample from diagnosis available for Next-Generation-Sequencing, were eligible. For inclusion, first line treatment with hydroxyurea (HU) or pegylated interferon therapy (peg-IFN) with a follow-up available at one year was necessary.

Results

We included 121 patients diagnosed between 2005 and 2022, receiving HU as first-line therapy (n=86, 71%) or peg-IFN (n=35, 29%), with a median follow-up of 8 and 6 years, respectively. The most frequent additional mutations were: *TET2* 19/121 patients (15,7%) *DNMT3A* 13/121 (10,7%), *MPL* not W515 K/L 8/121 (6,6%), *ASXL1* 5/121 (4,13%), and mutations of splicing factors *SRSF2* and *SF3B1* 8/121 (6,6%). None of the patients with peg-IFN therapy progressed to myelofibrosis (MF), whereas 16/86 patients (19%) treated with HU developed secondary myelofibrosis. At 12 months of treatment, 75 (62%) patients achieved complete response, 37 (31%) partial response, and 7 (6%) no response. At least one additional mutation at diagnosis was associated with less complete response (HR 0,66 [0,44-0,99] p=0,045) whereas peg-IFN therapy was associated with complete response (HR 2,01 [1,29-3,15] p=0,002). The presence of additional mutation or *TET2* mutation at diagnosis was associated with progression to MF or

acute myeloid leukemia ($p < 0.0001$) and only *TET2* was significantly associated with reduced overall survival ($p < 0.001$).

Conclusion

In conclusion, our results suggests that additional mutations at diagnosis is a risk factor for not achieving complete response. Furthermore, additional mutation and *TET2* mutations are associated with hematological evolutions.

INTRODUCTION

Essential thrombocythemia (ET) is a *BCR::ABL1* negative myeloproliferative neoplasm (MPN) driven by mutations in the *JAK2* V617F (50-60% of patients), *CALR* (20-30%), or *MPL* (2-5%) driver genes whereas 10 to 20% of patients have no driver mutation detected, called "triple-negative" (2-7,11,12,15,42,45). A history of thrombosis at or before diagnosis occurs in about 20-40% of cases and ET can progress to myelofibrosis (MF) in 13% of cases and to acute myeloid leukemia (AML) in 2,6-3,8% at 20 years (8,16).

The main goal of treatment is to reduce vascular events, the main source of morbidity during the follow-up, with an incidence of 1,9 patients-years of thrombosis recurrence (23). According to the ELN (46) and the National Comprehensive Cancer Network (NCCN) guidelines (28), cytoreduction is recommended for patients at high risk of thrombosis defined by an age over 60 years, prior thrombosis and/or *JAK2* mutation. Hydroxyurea (HU) is the recommended first-line cytoreductive therapy but interferon may be used as an alternative especially in younger patients, as it is known to reduce the *JAK2* allele burden (29,30,47) which may limit progression. Twenty percent of patient developed resistance/intolerance to HU, which is associated with a higher rate of transformation to myelofibrosis and a high risk of death (36). With the rise of high-throughput sequencing, also known as next-generation sequencing (NGS), the mutational landscape of MPN is being better understood (38). An additional somatic mutation to the driver mutation occurs in 44% of patients with ET and some of them, such as *TP53* or spliceosome mutations, may be associated with progression in myelofibrosis or acute leukemia (39,40). This has led to the development of a prognostic score, the mutation-enhanced international prognostic systems (MIPSS-ET), which predicts overall survival in ET by incorporating the 'adverse mutations' in *SRSF2*, *SF3B1*, *U2AF1* and *TP53* genes (42).

Although additional mutations are associated with prognosis, few studies have evaluated their association with treatment response, in contrast to primary myelofibrosis (PMF). Indeed,

ASXL1 and *EZH2* mutations are associated with a shorter time to treatment failure, and high molecular risk (HMR) mutations are associated with a loss of response to ruxolitinib in PMF (48–50). In ET, two studies found that the frequency of additional mutations was correlated with a worse response, but they only included interferon therapy and had small sample size (43,44).

Therefore, we aim herein to describe the association between additional mutations at diagnosis and response to first-line treatment with hydroxyurea or pegylated interferon in essential thrombocythemia.

METHODS

1. Patients selection

In this monocentric retrospective study at Angers University Hospital, patients were included if they were ≥ 18 years old with a diagnostic of ET according to the diagnosis criteria of the WHO classification (2016 or 2022) or ICC 2022 (20,21,25), receiving first-line therapy with hydroxyurea (HU) or pegylated interferon (peg-IFN) and had a minimum follow-up of one year. Patients who experienced intolerance or no response during the first year of treatment were also included. Patients were excluded if the diagnosis was before 2005, if they were diagnosed with a second hematologic malignancy that required therapy, if first-line treatment was not HU or peg-IFN (e.g., anagrelide or pipobroman), or if they denied participating in clinical trials. All patients were enrolled into the collection “Hémopathies Malignes” of the hospital of Angers who was approved by the CPP (Comité de Protection des Personnes) of Angers (France) Ouest II. A written informed consent was obtained from the patient for the use of clinical and biological data including DNA sequencing. This study was registered by the French authority CNIL (Commission nationale de l'informatique et des libertés, French Data Protection Authority, authorization ar23-0018v0).

2. Definitions for risk stratification and response

Patients were assigned to risk categories of thrombosis according to the conventional risk classification defined by the European Leukemia Net (ELN) (47), the International Prognostic Score for Thrombosis in Essential Thrombocythaemia-thrombosis (IPSET) (46), and the revised IPSET score (r-IPSET) updated in 2015 (51). In the conventional classification, patients are considered as high thrombotic risk if they are older than 60 years and/or have an history of thrombosis. There are four categories in the r-IPSET: “very low risk” (no history of

thrombosis, age ≤ 60 years and mutation other than *JAK2*); "low risk" (no history of thrombosis, age ≤ 60 years with *JAK2* mutation); "intermediate risk" (no history of thrombosis, age ≥ 60 years and mutation other than *JAK2*), and "high risk" (history of thrombosis or age ≥ 60 years with *JAK2* mutation).

Response is defined according to the 2009 ELN criteria (33) : complete response (CR), durable (≥ 12 weeks) platelets count $\leq 400 \times 10^9/L$, WBC $\leq 10 \times 10^9/L$, no disease-related symptoms, and normal spleen size on imaging; partial response (PR), not fulfilling criteria for CR, platelet count $\leq 600 \times 10^9/L$ or decrease $> 50\%$ from baseline; and no response (NR) is any response that does not satisfy partial response. Timing of CR was the day when a count of platelets < 400 G/L was first observed, only if two consecutive results were obtained. Loss of response was defined as the situation in which a patient achieving a CR loses response (NR), and loss of partial response when a patient in CR becomes in PR. Overall rate of response is the proportion of patients achieving CR and PR.

Intolerance is defined as interruption of treatment due to a side effect. Ineffectiveness is when the treatment was changed because of the failure of therapy.

Here, we defined high risk mutations (HMR-ET) as the combination of adverse mutations in the MIPSS-ET and those considered at high molecular risk in PMF : *SRSF2*, *SF3B1*, *U2AF1*, *TP53*, *ASXL1*, *EZH2*, *IDH1*, *IDH2* (41,42).

3. Data collection

At diagnosis, the following data were collected: age at diagnosis, gender, type of driver mutation, laboratory parameters (hemoglobin [Hb], white blood counts [WBC], platelet counts [PLT], lactate deshydrogenase levels [LDH]), symptoms, splenomegaly, cardiovascular risk factors, history of thrombosis before or at diagnosis and the presence of *JAK2V617F*, *CALR*,

or *MPL* mutations with the variant allele frequency (VAF). At initiation treatment, we recorded age, laboratory parameters, and history of thrombosis.

The response was evaluated at 12 months (less or more than one month) or earlier if the treatment was stopped, and at 24, 36, 48 and 60 months (less or more than 3 months). When assessing response, follow-up data were censored at the time of treatment stopped or change, or in case of hematological evolution such as secondary MF, polycythemia vera (PV) or AML.

During the follow-up the following data were collected: transformation in PV, secondary myelofibrosis or AML, arterial or venous thrombosis, death and if it was related to ET, and date of last follow-up.

Clinical data were collected until last follow-up on December 2023.

4. Biological analysis

For every patient, Next Generation Sequencing (NGS) was performed on DNA sample from peripheral blood at diagnosis stored in the biobank "Centre de Ressources Biologiques" in Angers University hospital, on an Illumina. The panel was designed to cover all exons of 52 genes involved in myeloid malignancies, listed in Table SI. The sensitivity was set to 2%. Only pathogenic (A) or likely pathogenic (B) mutations were retained for the analysis.

5. Statistical analysis

Statistical analysis were performed with R v4.2 (R: A Language and Environment for Statistical Computing, Vienna, Austria). For comparison between groups, t-test or ANOVA was used for continuous normal-distributed variable and Kruskal-Wallis test was used for continuous non-normally distributed variables. Chi-squared or exact Fisher's exact test was used for categorical variables. To evaluate the factors associated with response at each time-point, we used a

multinomial logistic regression and results were represented in a forest plot (ggplot2). Hematological evolution free survival is defined as the time from initiation of treatment until disease progression to acute leukemia or myelofibrosis. Survival was represented by Kaplan-Meier curves and Cox models were performed including all variables of interest with a step-by-step downward selection. Competitive Fine and Gray models were used to study the incidence of complete remission with treatment discontinuation as competitor and the specific effect of variables in each transition was accessed by a multistate model.

RESULTS

1. Patient characteristics

We screened 322 ET patients followed at the Angers University Hospital and included 121 patients diagnosed between 2005 and 2022, who received HU (n=86, 71%) or peg-IFN (n=35, 29%) as a first-line therapy (**Figure 1S**).

Most patients were treated during the first year following diagnosis but some of them were treated several years after, with a maximum of 11 years (**Figure S2**). At treatment initiation, patients in the peg-IFN group were younger (median 60 years [19-72]) than patients treated with HU (67 years [23-90]), explaining why most patients who received HU were considered high-risk according to r-IPSET compared to those treated with peg-IFN (63% vs 46%, $p=0.021$) (**Table I**). Among patients, 36% of patients treated by HU and 22.9% of those treated by peg-IFN had an history of thrombosis before or at initiation of therapy ($p=0.233$).

Of the 121 patients, 70 (58%) had a *JAK2V617F* driver mutation, 26 (21.5%) a *CALR* mutation, 5 (4%) a *MPL* mutation, and 20 (16.5%) were triple negative (**Figure 1A**). Sixty-three patients (52%) had one or more additional mutation at diagnosis, with similar distribution between the two treatment groups (**Table I**). Most patients harbored only one additional mutation (**Figure 1B**). The most frequent additional mutations involved *TET2* (19/121 patients, 15.7%) *DNMT3A* (13/121, 10.7%), non-W515K/L *MPL* (8/121, 6.6%), *ASXL1* (5/121, 4.13%) genes, and splicing factors *SRSF2* and *SF3B1* (8/121, 6.6%) (**Table 1, Figure 1C**). The proportion of patients with mutations in HMR-ET genes was 19/121 (15.7%). The distribution of variant allele frequency of the most prevalent genes *JAK2V617F*, *CALR*, *TET2* and *DNMT3A* are depicted in **Figure 1D**.

2. Response to treatment

At 12 months of treatment with HU, 57% achieved CR, 37% PR, and 6% had no response. With peg-IFN therapy, 74% achieved CR, 20% PR, and 6% did not respond. Seventeen patients discontinued their treatment at 12 months or earlier, including 9 patients intolerant (4/35 patients (11.4%) with peg-IFN and 5/86 patients (5.8%) treated with HU). The reasons for discontinuation and their response to second-line therapy are listed in **Table S1**. The evolution of responses at each year during the first 5 years of treatment was represented by a Sankey diagram in **Figure 2**. During follow-up, the majority of patients under first-line therapy remained in CR (66%, 58%, 59% and 65% at 2, 3, 4 and 5 years respectively, **Figure 2**). At 5-years, a total of 34 patients discontinued their first-line treatment.

Analysis of treatment response at 12 months showed that no factor was statistically associated with complete response (**Figure 3**). Patients without response at 12 months were more likely to have *TET2* mutations although this did not reach statistical significance (OR 4.9 [0.9-25.6], $p=0.058$), independently of therapy used.

Then, the global dynamics of complete response and treatment discontinuation were studied using a multistate model (**Figure 4**). The presence of at least one additional mutation at diagnosis was a risk factor for not achieving complete response (HR 0,66, [0,44-0,99] $p=0,045$) whereas the presence of *JAK2V617* mutation or a treatment with peg-IFN were associated with complete response (HR 1,69, [1,10-2,58] $p=0,015$; HR 2,01, [1,29-3,15] $p=0,002$, respectively). For patients achieving CR, the presence of at least one additional mutation was a risk factor of treatment interruption (HR 4,45, [1,23-16,12] $p=0,002$), whereas peg-IFN was a protective factor against treatment interruption (HR 0,17 [0,04-0,66] $p=0,01$). No risk factors were found for the patients transitioned from initiation treatment to interruption treatment without achieving complete response.

Patients with peg-IFN therapy responded earlier than those treated with HU with a median time of CR of 3.2 months with peg-IFN and 6,2 months with HU (**Figure 5A**). Patients with a *JAK2* driver mutation experienced an earlier response dynamic than triple negative patients and in to a lesser extend *CALR*-mutated patients (**Figure 5B**). Patients with mutations in *TET2* gene responded later than those without, similar to those with at least one additional mutation compared to patients without (**Figure 5C and 5D**).

3. Thrombosis and progression to myelofibrosis/acute leukemia

Median follow-up was 8,4 and 6,1 years from treatment initiation until last follow-up, for patients treated with HU and peg-IFN, respectively. Fifteen patients died during the follow-up, with 47% of the cases related to ET. During follow-up, a first thrombotic event occurred in 22% of patients treated with HU and 9% of those treated with peg-IFN. The presence of an additional mutation was not associated with a thrombotic risk during follow-up ($p=0.86$) (data not shown). Leukemic evolution occurred in 6% and 3% in the HU-group and peg-IFN group, respectively. None of the patients with peg-IFN therapy progressed to myelofibrosis, whereas 16/86 patients (19%) treated with HU developed secondary myelofibrosis.

At diagnosis, the presence a *TET2* mutation and of any other additional mutation was associated with progression to MF or AML ($p<0,001$) (**Figure 6**). This finding was confirmed in multivariate analysis considering the following variables: age (> 60 years), gender, thrombocytosis (> 700 G/L), leukocytosis (>11 G/L), response at 12 months. Indeed, *TET2* mutations (HR: 13.4 [2.96-60.1], $p=0.0007$) and the presence of any other additional mutation (HR: 4.3 [1.09-16.72], $p=0,037$) were associated with a risk of hematological

transformation, and other variables were not significant. The presence of *TET2* mutations, but not of any other additional mutation, was also associated with a reduced overall survival (HR 7.2 [1,95-26,9] $p=0,03$; **Figure 6**), independently of the age at the time of diagnosis.

Of note, the presence of mutations classified as HMR-ET was not associated with hematological progression or overall survival (**Figure 6B and 6D**).

DISCUSSION

Essential thrombocythemia is characterized by chronic, and more often indolent evolution. The aim of cytoreductive treatment is to prevent the thrombotic complications. A Spanish cohort of 166 patients with ET reported a higher rate of transformation to myelofibrosis and high risk of death among patient resistant to HU (HR: 6.2, 95% CI: 2-3-16-7, $P < 0.001$) (36). To date, there is no predictive marker at diagnosis for treatment response. It would therefore be of interest to identify these patients at diagnosis in order to personalize the choice of treatment and the monitoring during the follow-up. Here, we present data from a real-life cohort of first-line treated ET with an extensive characterization of the mutational landscape by high-throughput sequencing.

We observed a high level of response to first-line treatment, with 57% achieving CR with HU and 74% with peg-IFN, and a global ORR of 94% at one year of treatment. The only randomized trial comparing HU and peg-IFN as first line treatment in ET found lower rates of CR at 12-months with 45% for HU (ORR : 71%) and 44% for peg-IFN (ORR : 69%) (52). Of note, these results were in intention-to-treat (ITT) whereas our study included only patients who received treatment. However, our results are consistent with those of Desterro et al, who reported their real-life experience in United-Kingdom of first-line therapy with interferon, with a follow-up of 17 years (53). They observed CR in 75% of cases and partial hematological response (defined as platelet count $< 700 \times 10^9/l$ in their study) in 25% of cases. In a national registry from Spain, Alvarez-Larran and al reported 1104 patients first-line treated (88% with HU) with 69% achieved CR, 26% PR and 5% no response (35). In their study, the time to achieve complete hematological response was longer and the probability of developing resistance/intolerance was higher among patients with *CALR* and *MPL* mutation compared to

those with *JAK2* mutation or TN. In our study, *JAK2* mutation was a protective factor to achieve CR.

Here, patients seemed to benefit from peg-IFN therapy. Surprisingly, we noted a shorter time to response with peg-IFN compared to HU (3.2 vs 6.2 months). In the UK cohort, the median time to achieve a complete hematological response with peg-IFN was 6.5 months (53). In the Spanish cohort, the median time of CR with HU was different according to the driver mutation with 5.6 months, 12.7 months, 14.2 months, and 27 months for patients with *JAK2*, TN, *MPL*, or *CALR* mutations, respectively (35). It is noteworthy that none of the patient treated with peg-IFN progressed to myelofibrosis, consistent with the findings of Desterro et al(53). Although peg-IFN is not recommended as the first-line cytoreductive therapy, this result supports our practice, shared by others (54), to propose peg-IFN as first line treatment to younger patients to limit the risk of progression. Furthermore, peg-IFN therapy appeared to be a protective factor in achieving complete remission (CR) and in preventing treatment interruption for patients who achieved CR.

Additional mutations and association with prognosis is mainly described in myelofibrosis, were *ASXL1*, *EZH2*, *SRSF2*, and *IDH* mutations are considered as “high molecular risk” mutations because associated with transformation to AML and worse overall survival (41). In ET, *SRSF2*, *SF3B1*, *U2AF1* and *TP53* are considered as adverse mutations and included in de MIPSS-ET score for predicting survival (42). However, there is few studies about their association with response treatment (43,44). Here, as Quintás-Cardama and al. and Verger and al. found that the frequency of additional mutations was correlated with a worse molecular response, we observed that the presence of additional mutations was a risk factor for not achieving complete

response not only for patients treated with peg-IFN but also for patients treated with HU. Furthermore, additional mutations were associated with transformation to MF and AML.

We are aware of some limitations in our study. First, clinical data were collected retrospectively and in a single center, which may introduce biases or errors in data interpretation. Second, the number of patients without response at 12 month is small, potentially limiting the statistical power to detect significant differences in treatment response. Third, the number of patients treated more than two years over subsequent years is decreasing, and these results should therefore be interpreted with caution. Larger multicentric cohorts and external validation cohorts are needed to confirm the adverse prognosis associated with *TET2*.

In conclusion, our results suggest that the presence of at least one or more additional mutation at diagnosis is a risk factor for not achieving complete response. Additional mutations and *TET2* mutations appeared to be adverse prognosis factors, as they were associated with transformation to myelofibrosis and acute leukemia. Patients seemed to benefit from peg-IFN therapy which was a protective factor in achieving CR, allowed patients to achieve CR earlier than those treated with HU, and had no progression to secondary myelofibrosis. Larger multicentric cohorts and external validation cohorts are needed to confirm the association between additional mutations at diagnosis and treatment response.

ACKNOWLEDGEMENT

This work was supported in part by the French National Institute of Cancer (FIMBANK, INCa BCB 2013 and 2022). We thank Rébecca Jouanneau-Courville and Anaïs Malinge for technical support.

AUTORSHIP

C.M. performed research, analyzed data, and wrote the paper; L.C., S.L., A.M provided clinical and biological data and analyzed mutational profiles; F.B. provided clinical data; J.A. performed bioinformatic analyses; M.H.B. provided clinical data and wrote the paper; V.U. wrote the paper; C.O. and D.LP. conceived the research, analyzed data, and wrote the paper. All authors reviewed and approved the manuscript.

Conflict-of-interest disclosure: The authors declare no competing financial interests.

Correspondence: Damien Luque Paz and Corentin Orvain, Univ Angers Nantes Université, CHU Angers, Inserm, CNRS, CRCI2NA, F-49000, Angers, France ; e-mail: damien.luquepaz@univ-angers.fr and Corentin.Orvain@chu-angers.fr

CONCLUSION/PERSPECTIVES

Pour les patients atteints de TE recevant un traitement de première ligne, nos résultats suggèrent que la présence d'au moins une mutation additionnelle au diagnostic est un facteur de risque de ne pas obtenir de réponse complète, et est associée à la progression en myélofibrose ou leucémie aigüe. Dans notre cohorte, les mutations de *TET2* sont associées à un risque de transformation hématologique ainsi qu'à une survie globale diminuée.

Les patients semblent bénéficier du traitement par interféron pegylé, qui semble être un facteur protecteur à l'obtention d'une réponse complète et permet d'obtenir une réponse plus rapidement que sous hydroxyurée. Enfin, aucun patient sous interféron pegylé n'a développé de myélofibrose secondaire, contrairement à ceux traités par hydroxyurée.

Il semble que la prise en compte des mutations additionnelles au diagnostic puisse être intéressant pour prédire quels patients vont répondre au traitement de première ligne. Ces résultats doivent être confirmés par des études multicentriques ou une cohorte de validation externe. C'est l'objectif d'un des projets réalisé au CHU d'Angers, BioPredictorSMP. Cette étude a pour but d'établir un score au diagnostic intégrant les données moléculaires obtenues par NGS associées à dosage de cytokines plasmatiques afin d'aider au choix du traitement de première ligne des patients atteints de TE. Cette étude prospective multicentrique est en cours d'inclusion.

BIBLIOGRAPHIE

1. SPF. 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]. [cité 26 janv 2024]. Disponible sur: <https://www.santepubliquefrance.fr/import/estimations-nationales-de-l-incidence-et-de-la-mortalite-par-cancer-en-france-metropolitaine-entre-1990-et-2018-hemopathies-malignes-etude-a-pa>
2. 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*. 28 avr 2005;434(7037):1144-8.
3. Kralovics R, Passamonti F, Buser AS, Teo SS, Tiedt R, Passweg JR, et al. A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. *N Engl J Med*. 28 avr 2005;352(17):1779-90.
4. 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. *PLoS Med*. juill 2006;3(7):e270.
5. Nangalia J, Massie CE, Baxter EJ, Nice FL, Gundem G, Wedge DC, et al. Somatic CALR mutations in myeloproliferative neoplasms with nonmutated JAK2. *N Engl J Med*. 19 déc 2013;369(25):2391-405.
6. Klampfl T, Gisslinger H, Harutyunyan AS, Nivarthi H, Rumi E, Milosevic JD, et al. Somatic Mutations of Calreticulin in Myeloproliferative Neoplasms. *N Engl J Med*. 19 déc 2013;369(25):2379-90.
7. Vainchenker W, Kralovics R. Genetic basis and molecular pathophysiology of classical myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 9 févr 2017;129(6):667-79.

8. 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.
9. 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.
10. Araki M, Yang Y, Masubuchi N, Hironaka Y, Takei H, Morishita S, et al. Activation of the thrombopoietin receptor by mutant calreticulin in CALR-mutant myeloproliferative neoplasms. *Blood.* 10 mars 2016;127(10):1307-16.
11. Inano T, Araki M, Morishita S, Imai M, Kihara Y, Okuda M, et al. Cell-autonomous megakaryopoiesis associated with polyclonal hematopoiesis in triple-negative essential thrombocythemia. *Sci Rep.* 6 sept 2021;11(1):17702.
12. Angona A, Fernández-Rodríguez C, Alvarez-Larrán A, Camacho L, Longarón R, Torres E, et al. Molecular characterisation of triple negative essential thrombocythaemia patients by platelet analysis and targeted sequencing. *Blood Cancer J.* 26 août 2016;6(8):e463.
13. Usseglio F, Beaufils N, Calleja A, Raynaud S, Gabert J. Detection of CALR and MPL Mutations in Low Allelic Burden JAK2 V617F Essential Thrombocythemia. *J Mol Diagn JMD.* janv 2017;19(1):92-8.
14. Beucher A, Dib M, Orvain C, Bouvier A, Jouanneau-Courville R, Dobo I, et al. Next generation sequencing redefines a triple negative essential thrombocythaemia as double-positive with rare mutations on JAK2 V617 and MPL W515 hotspots. *Br J Haematol.* sept 2019;186(5):785-8.
15. Loscocco GG, Guglielmelli P, Gangat N, Rossi E, Mannarelli C, Betti S, et al. Clinical and molecular predictors of fibrotic progression in essential thrombocythemia: A multicenter study involving 1607 patients. *Am J Hematol.* 1 nov 2021;96(11):1472-80.

16. 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; quiz 2615.
17. Mital A, Prejzner W, Bieniaszewska M, Hellmann A. Prevalence of acquired von Willebrand syndrome during essential thrombocythemia: a retrospective analysis of 170 consecutive patients. *Pol Arch Med Wewn*. 2015;125(12):914-20.
18. Mesa RA, Niblack J, Wadleigh M, Verstovsek S, Camoriano J, Barnes S, et al. The burden of fatigue and quality of life in myeloproliferative disorders (MPDs): an international Internet-based survey of 1179 MPD patients. *Cancer*. 1 janv 2007;109(1):68-76.
19. Geyer HL, Mesa RA. Therapy for myeloproliferative neoplasms: when, which agent, and how? *Blood*. 4 déc 2014;124(24):3529-37.
20. Khoury JD, Solary E, Abla 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.
21. 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.
22. SPF. Survie des personnes atteintes de cancer en France métropolitaine 1989-2018 - Syndromes myéloprolifératifs chroniques autres que leucémie myéloïde chronique - Thrombocytémie essentielle [Internet]. [cité 11 mai 2024]. Disponible sur: <https://www.santepubliquefrance.fr/import/survie-des-personnes-atteintes-de-cancer-en-france-metropolitaine-1989-2018-syndromes-myeloproliferatifs-chroniques-autres-que-leucemie-myeloide>

23. 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.
24. 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.
25. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 19 mai 2016;127(20):2391-405.
26. 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 Off J Am Soc Clin Oncol*. 10 août 2011;29(23):3179-84.
27. Barbui T, Tefferi A, Vannucchi AM, Passamonti F, Silver RT, Hoffman R, et al. Philadelphia chromosome-negative classical myeloproliferative neoplasms: revised management recommendations from European LeukemiaNet. *Leukemia*. mai 2018;32(5):1057-69.
28. NCCN [Internet]. [cité 16 mars 2024]. Guidelines Detail. Disponible sur: <https://www.nccn.org/guidelines/guidelines-detail>
29. Bewersdorf JP, Giri S, Wang R, Podoltsev N, Williams RT, Tallman MS, et al. Interferon alpha therapy in essential thrombocythemia and polycythemia vera—a systematic review and meta-analysis. *Leukemia*. juin 2021;35(6):1643-60.
30. Kiladjian JJ, Cassinat B, Chevret S, Turlure P, Cambier N, Roussel M, et al. Pegylated interferon-alfa-2a induces complete hematologic and molecular responses with low toxicity in polycythemia vera. *Blood*. 15 oct 2008;112(8):3065-72.

31. Harrison CN, Mead AJ, Panchal A, Fox S, Yap C, Gbandi E, et al. Ruxolitinib vs best available therapy for ET intolerant or resistant to hydroxycarbamide. *Blood*. 26 oct 2017;130(17):1889-97.
32. Barosi G, Mesa R, Finazzi G, Harrison C, Kiladjian JJ, Lengfelder E, et al. Revised response criteria for polycythemia vera and essential thrombocythemia: an ELN and IWG-MRT consensus project. *Blood*. 6 juin 2013;121(23):4778-81.
33. Barosi G, Birgegard G, Finazzi G, Griesshammer M, Harrison C, Hasselbalch HC, et al. Response criteria for essential thrombocythemia and polycythemia vera: result of a European LeukemiaNet consensus conference. *Blood*. 14 mai 2009;113(20):4829-33.
34. Barosi G, Besses C, Birgegard G, Briere J, Cervantes F, Finazzi G, et al. A unified definition of clinical resistance/intolerance to hydroxyurea in essential thrombocythemia: results of a consensus process by an international working group. *Leukemia*. févr 2007;21(2):277-80.
35. Alvarez-Larrán A, Angona A, Andrade-Campos M, Soledad Noya M, Teresa Gómez-Casares M, Cuevas B, et al. Cytoreductive treatment in patients with CALR-mutated essential thrombocythaemia: a study comparing indications and efficacy among genotypes from the Spanish Registry of Essential Thrombocythaemia. *Br J Haematol*. mars 2021;192(6):988-96.
36. Hernández-Boluda JC, Alvarez-Larrán A, Gómez M, Angona A, Amat P, Bellosillo B, et al. Clinical evaluation of the European LeukaemiaNet criteria for clinicohaematological response and resistance/intolerance to hydroxycarbamide in essential thrombocythaemia. *Br J Haematol*. janv 2011;152(1):81-8.
37. Delic S, Rose D, Kern W, Nadarajah N, Haferlach C, Haferlach T, et al. Application of an NGS-based 28-gene panel in myeloproliferative neoplasms reveals distinct mutation patterns in essential thrombocythaemia, primary myelofibrosis and polycythaemia vera. *Br J Haematol*. nov 2016;175(3):419-26.

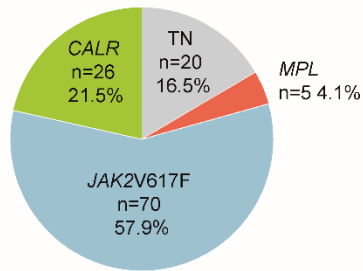
38. Luque Paz D, Kralovics R, Skoda RC. Genetic basis and molecular profiling in myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 20 avr 2023;141(16):1909-21.
39. Paz DL, Mansier O, Riou J, Conejero C, Roy L, Belkhodja C, et al. Positive impact of molecular analysis on prognostic scores in essential thrombocythemia: a single center prospective cohort experience. *Haematologica*. avr 2019;104(4):e134-7.
40. 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.
41. 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.
42. Tefferi A, Guglielmelli P, Lasho TL, Coltro G, Finke CM, Loscocco GG, et al. Mutation-enhanced international prognostic systems for essential thrombocythaemia and polycythaemia vera. *Br J Haematol*. avr 2020;189(2):291-302.
43. Quintás-Cardama A, Abdel-Wahab O, Manshouri T, Kilpivaara O, Cortes J, Roupie AL, et al. Molecular analysis of patients with polycythemia vera or essential thrombocythemia receiving pegylated interferon α -2a. *Blood*. 8 août 2013;122(6):893-901.
44. Verger E, Cassinat B, Chauveau A, Dosquet C, Giraudier S, Schlageter MH, et al. Clinical and molecular response to interferon- α therapy in essential thrombocythemia patients with CALR mutations. *Blood*. 10 déc 2015;126(24):2585-91.
45. Cazzola M, Kralovics R. From Janus kinase 2 to calreticulin: the clinically relevant genomic landscape of myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 12 juin 2014;123(24):3714-9.
46. Barbui T, Finazzi G, Carobbio A, Thiele J, Passamonti F, Rumi E, et al. Development and validation of an International Prognostic Score of thrombosis in World Health Organization-essential thrombocythemia (IPSET-thrombosis). *Blood*. 20 déc 2012;120(26):5128-33; quiz 5252.

47. Barbui T, Barosi G, Birgegard G, Cervantes F, Finazzi G, Griesshammer M, et al. Philadelphia-negative classical myeloproliferative neoplasms: critical concepts and management recommendations from European LeukemiaNet. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 20 févr 2011;29(6):761-70.
48. Spiegel JY, McNamara C, Kennedy JA, Panzarella T, Arruda A, Stockley T, et al. Impact of genomic alterations on outcomes in myelofibrosis patients undergoing JAK1/2 inhibitor therapy. *Blood Adv*. 12 sept 2017;1(20):1729-38.
49. Pacilli A, Rotunno G, Mannarelli C, Fanelli T, Pancrazzi A, Contini E, et al. Mutation landscape in patients with myelofibrosis receiving ruxolitinib or hydroxyurea. *Blood Cancer J*. 22 nov 2018;8(12):122.
50. Patel KP, Newberry KJ, Luthra R, Jabbour E, Pierce S, Cortes J, et al. Correlation of mutation profile and response in patients with myelofibrosis treated with ruxolitinib. *Blood*. 6 août 2015;126(6):790-7.
51. 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.
52. Mascarenhas J, Kosiorek HE, Prchal JT, Rambaldi A, Berenzon D, Yacoub A, et al. A randomized phase 3 trial of interferon- α vs hydroxyurea in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Blood*. 12 mai 2022;139(19):2931-41.
53. Desterro J, McLornan DP, Curto Garcia N, O'Sullivan J, Alimam S, Keohane C, et al. Essential thrombocythaemia treated with recombinant interferon: « real world » United Kingdom referral centre experience. *Br J Haematol*. août 2019;186(4):561-4.
54. Rumi E, Cazzola M. How I treat essential thrombocythemia. *Blood*. 17 nov 2016;128(20):2403-14.

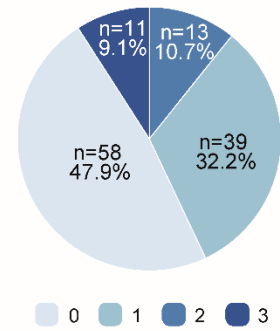
LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Molecular characteristic of the cohort at diagnosis	47
Figure 2: Response at 1, 2, 3, 4 and 5 years	49
Figure 3 : Factors associated with response at 1, 2, 3, 4 and 5 years	50
Figure 4 : Outcomes in patients with first-line treatment	51
Figure 5 : Cumulative incidence of complete response	53
Figure 6 : Comparison of hematological evolution and overall survival according to mutational status at diagnosis.	55

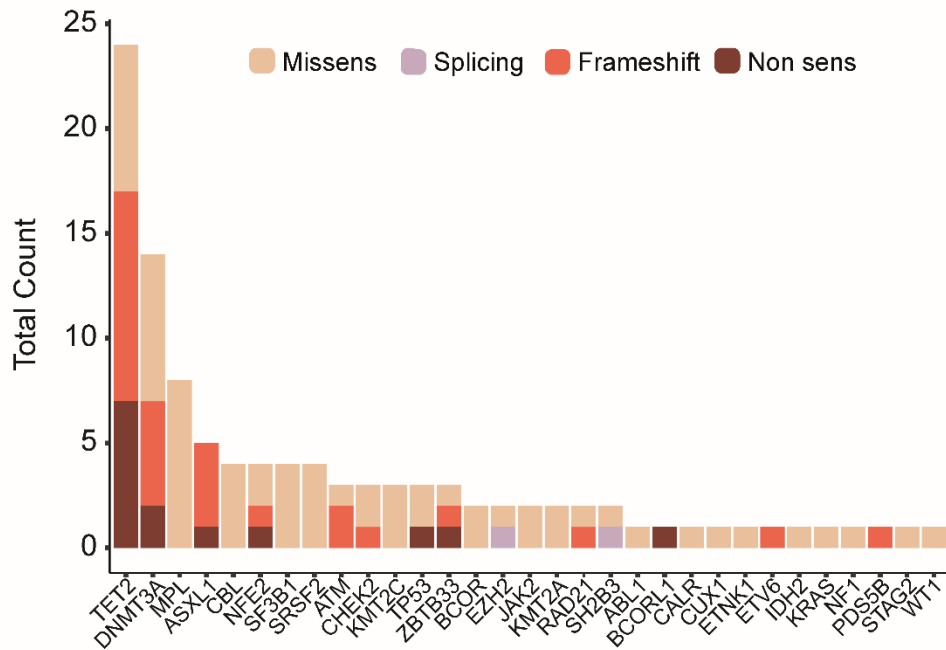
A Distribution of driver mutations at diagnosis



B Number of additional clonal mutation per patient



C Frequency of additional clonal mutation at diagnosis



D Distribution of variant allele frequency

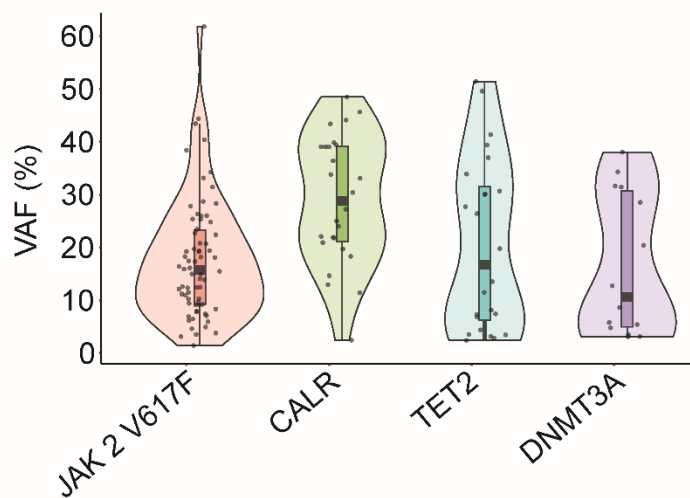


Figure 1 : Molecular characteristics of 121 patients at diagnosis.

A. Distribution of driver mutations *JAK2*, *CALR*, *MPL* and patients triple-negatives (TN). **B.** Distribution of the number of additional clonal mutation per patient. **C.** Number of additional mutation by gene in the whole cohort. The y-axis represents total count of mutations founded, x-axis the 32 mutated genes classed by order of frequency in our cohort. **D.** Distribution of variant allele frequency (VAF). The violin plots represent the distribution of VAF among patients with mutations in the genes *JAK2*V617F, *CALR*, *TET2*, *DNMT3A*, respectively.

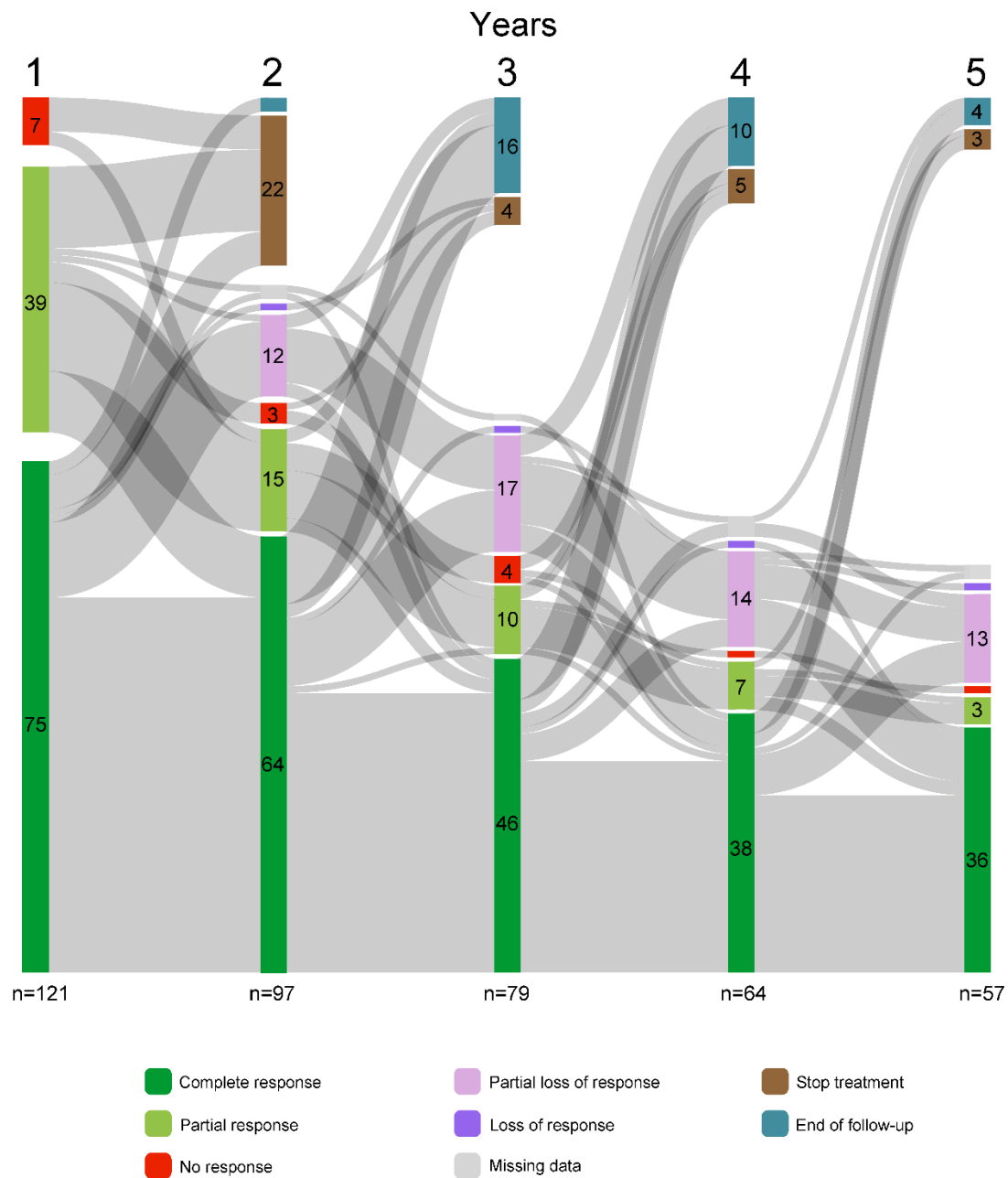


Figure 2: Response at 1, 2, 3, 4 and 5 years

Time points of evaluation of the response at 1, 2, 3, 4 and 5 years were represented with transitions between each. The total height of the columns is proportional to sample size at each time point. Number of patients undergoing therapy is indicated below the columns. This Sankey diagram represents flow among eight states: complete response, partial response, no response, partial loss of response, loss of response, missing data, stop treatment, end of follow up.

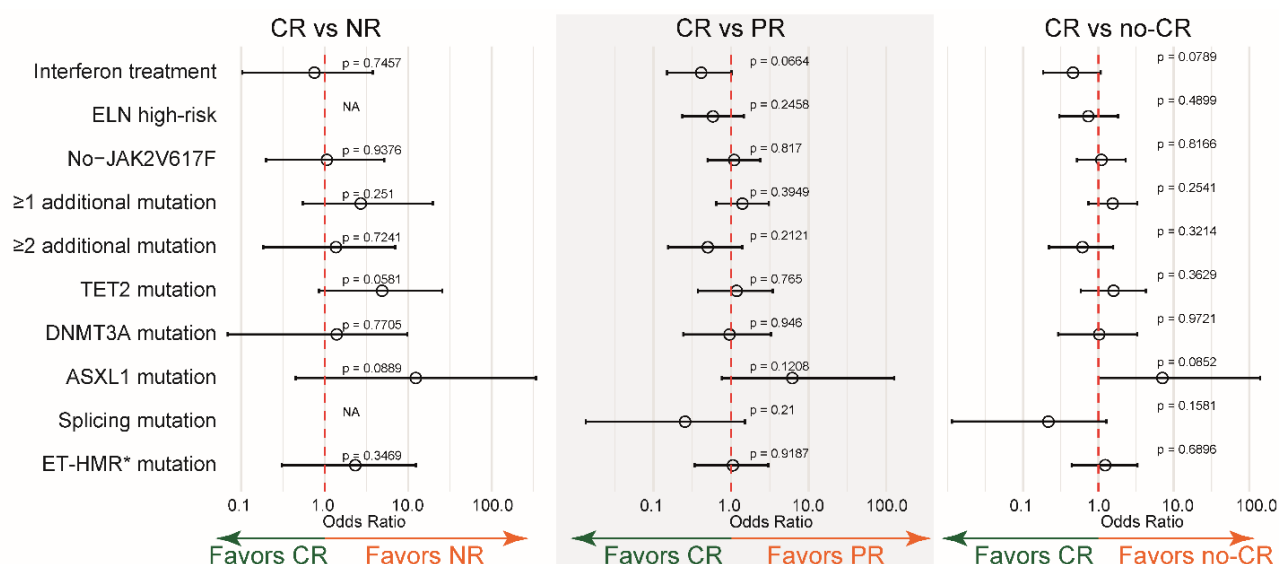


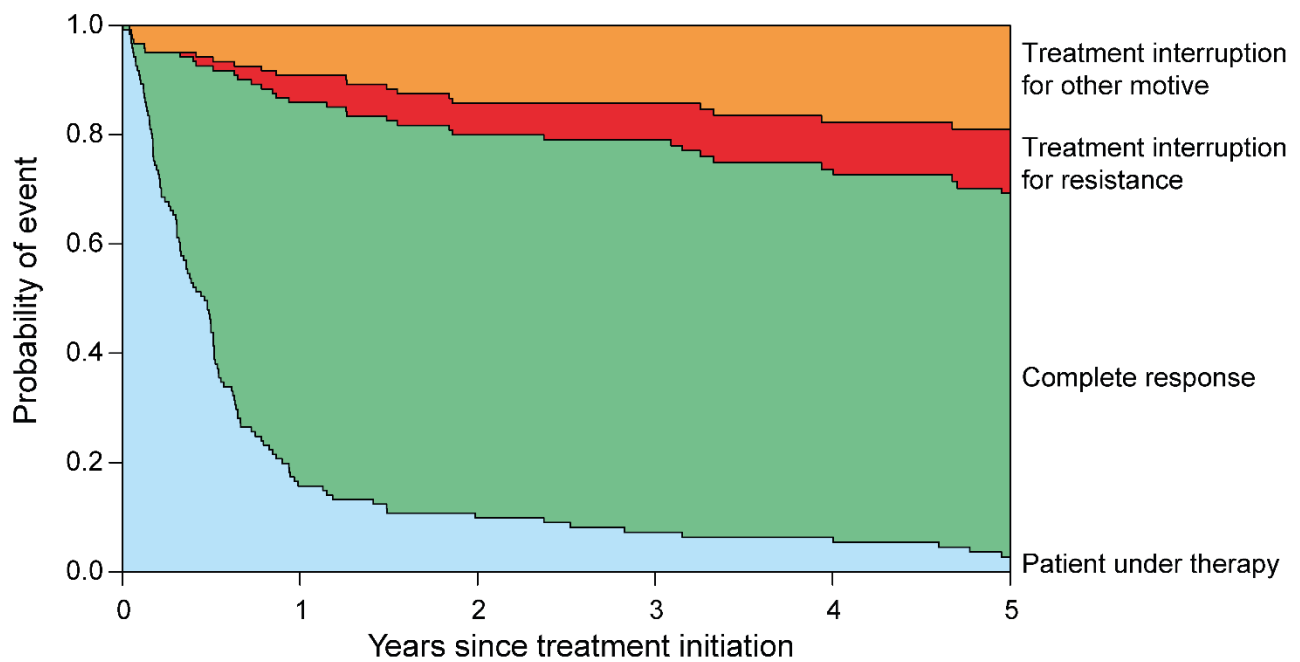
Figure 3. Factors associated with response at 1 year (A), 2, 3, 4 and 5 years (B)

Forest plot representing odds ratio and 95% confidence interval for the different factors.

A. Represents the factors associated with CR, PR and NR at 1 year. **B.** Are represented the factors associated with CR at 2, 3, 4 and 5 years of follow-up.

CR: complete response, PR: partial response, NR: no response, ELN high risk : ≥ 60 years and/or history of thrombosis. No-JAK2V617F : absence of JAK2V617F mutation. HMR-ET: *SRSF2*, *SF3B1*, *U2AF1*, *TP53*, *ASXL1*, *EZH2*, *IDH1*, *IDH2*.

A Outcomes in patient with first-line treatment



B Factors associated with state transition

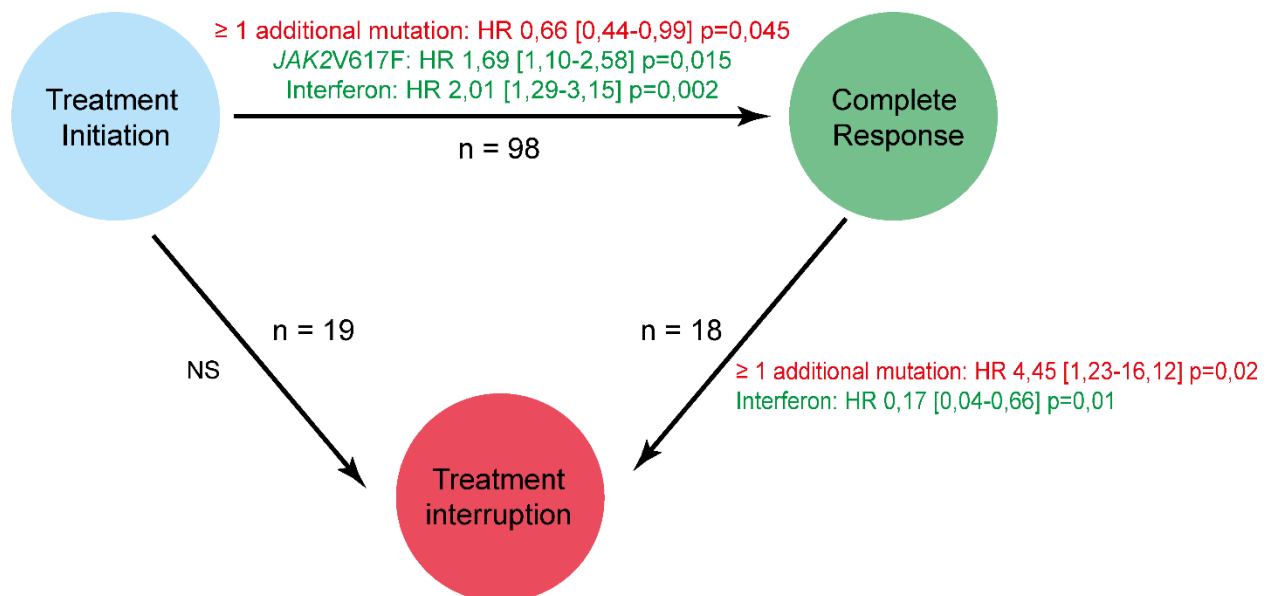


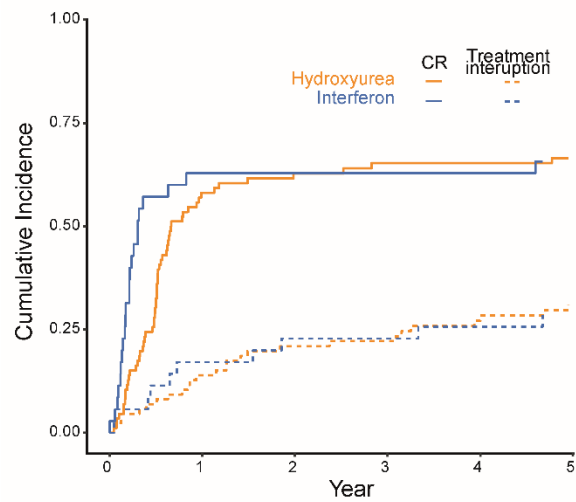
Figure 4. Outcomes in patients with first-line treatment (A) and factors associated with state transition (B).

A. Predicted outcomes in patient with first-line treatment, illustrated by multi-state model. Four states are represented: treatment interruption because of resistance (in red), treatment interruption for other reason (in orange), patients in complete response (in green), and patient under therapy (in blue) who did not achieved any of the three preceding states. Black curves show the predicted Kaplan-meier curves of event-free-survival until achievement of complete response, interruption treatment for resistance and complete response, respectively. The x-axis represents time in years, with 0 indicating the treatment initiation.

B. Multi-state model analysis with proportional cox model results for each transition. Significant factors associated with state transition are indicated, with risk factor written in red and protective factors in green. Treatment interruptions for resistance or other motive were gathered for analysis. Hazard ratios (HR) are presented with their 95% interval confidence. For each transition, the following factors age > 60 years, driver mutation, $\geq$ additional mutation and type of treatment were tested, followed by a backward step by step selection.

Cumulative incidence of complete response

A



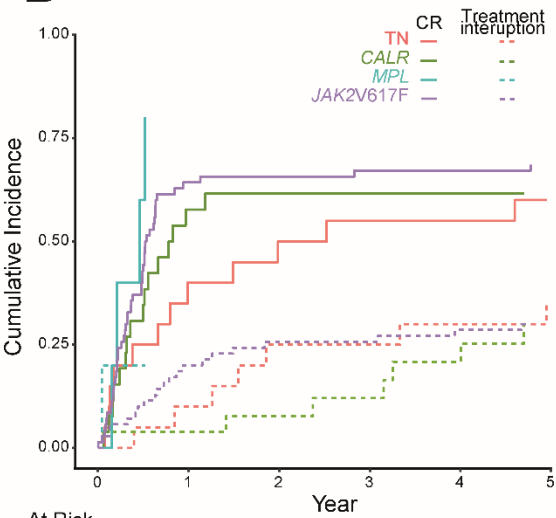
Hydroxyurea

At Risk	86	24	14	10	6	2
Events	0	62	72	75	79	83

Pegylated Interferon

At Risk	35	7	5	5	4	2
Events	0	28	30	30	31	33

B



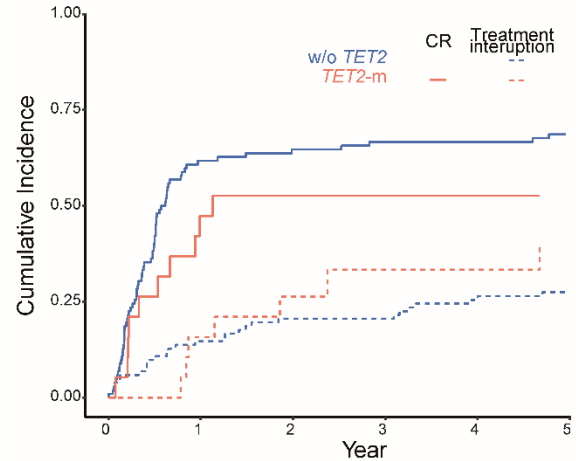
At Risk

TN	20	10	5	4	3	1
CALR	26	10	8	6	4	2
MPL	5	0	0	0	0	0
JAK2V617F	70	11	6	5	3	1

Events

TN	0	10	15	16	17	19
CALR	0	16	18	19	21	23
MPL	0	5	5	5	5	5
JAK2V617F	0	59	64	65	67	69

C



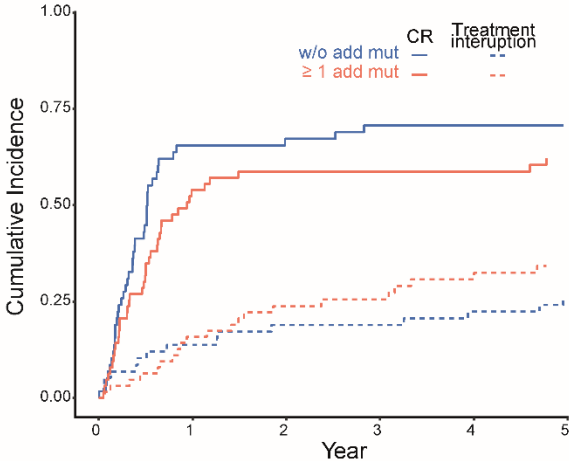
w/o TET2

At Risk	102	24	15	13	8	3
Events	0	78	87	89	94	99

TET2-m

At Risk	19	7	4	2	2	1
Events	0	12	15	16	16	17

D



w/o additional mutation

At Risk	58	12	8	6	4	2
Events	0	46	50	52	54	56

≥ 1 additional mutation

At Risk	63	19	11	9	6	2
Events	0	44	52	53	56	60

Figure 5 : Cumulative incidence of complete response.

Competitive Fine and Gray models show the cumulative incidence function curves of complete remission with treatment discontinuation as competitor according to treatment (**A**), driver mutation (**B**), presence of *TET2* mutation (**C**), and presence of at least one additional mutation at diagnosis (**D**).

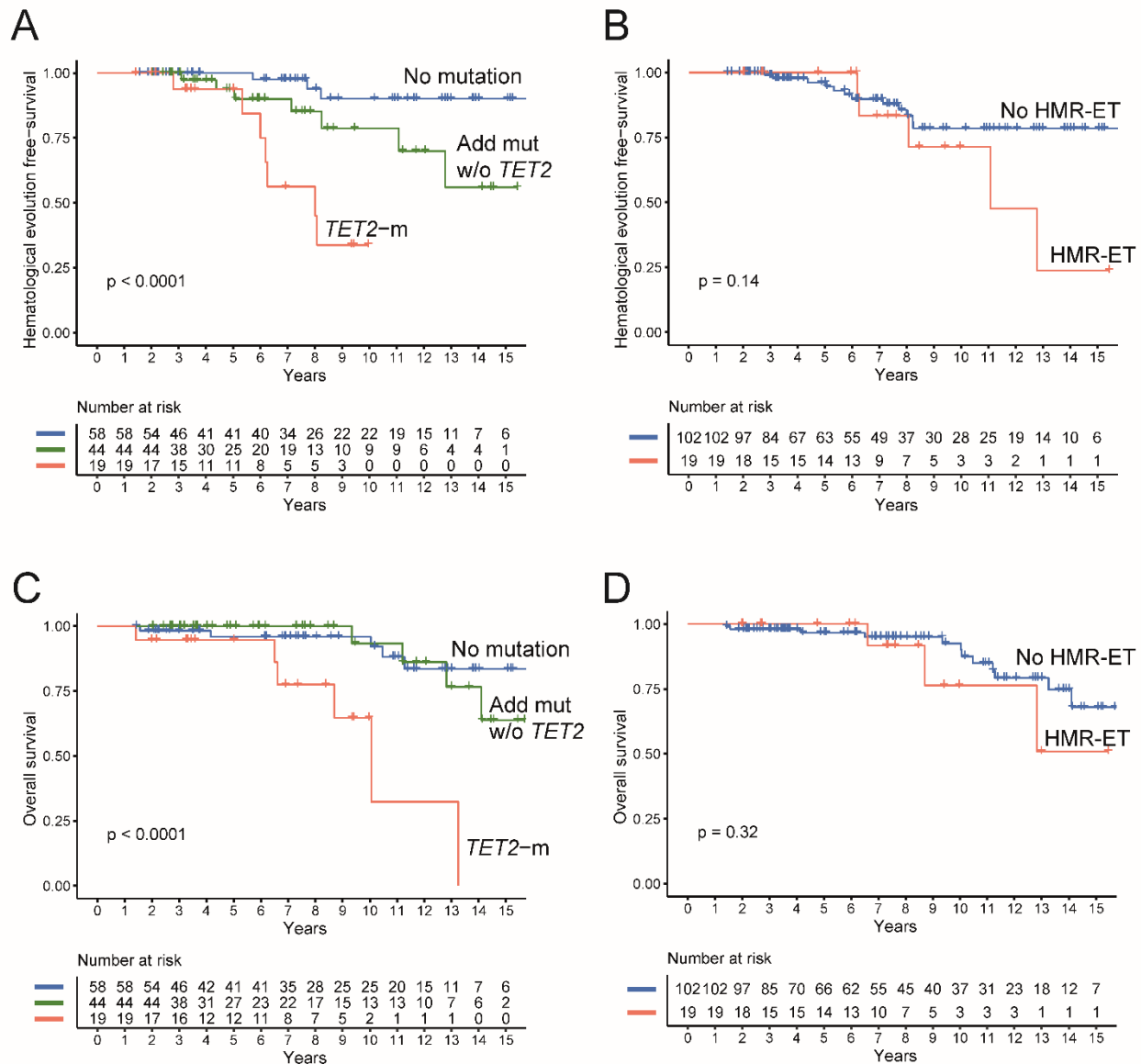


Figure 6 : Comparison of hematological evolution and overall survival according to mutational status at diagnosis. Kaplan-meier curves for hematological evolution free-survival (A, C) and overall survival (B, D) according to mutational status at diagnosis. The number patient at risk for each groups are shown in the each table below the curves.

A and B: In blue, patient with no additional mutations. In green, patients with at least one additional mutation except those with a *TET2* mutation. In red, patients with *TET2* mutations.

C and D: In blue, patient without any mutations in HMR-ET genes .In red, patients with at least one mutation "HMR-ET" (*SRSF2*, *SF3B1*, *U2AF1*, *TP53*, *ASXL1*, *EZH2*, *SRSF2*, *IDH1*, *IDH2*).

LISTE DES TABLEAUX

Table I : Characteristics at treatment initiation 57

Table I : Characteristics at treatment initiation

Characteristics at treatment initiation	peg-IFN N = 35	HU N = 86	p value
Clinical data			
Median age - (y)	60 [19-72]	67 [23-90]	<0,001
Male sex - no (%)	18 (51,4)	31 (36)	0,17
Thrombosis, no (%)	8 (23)	31 (36)	0,11
Arterial thrombosis, no (%)	5 (14)	17 (20)	0,57
Veinous thrombosis, no (%)	3 (9)	14 (16)	
Biology			
Hemoglobin (g/dL)	14,5 [11,9-17,2]	14,5 [8,8-17,7]	0,831
Platelet count (G/L)	665 [335-1772]	729 [435-1963]	0,632
Leucocyte count (G/L)	7,8 [3,4-12,8]	8,3 [2,9-17,4]	0,221
r-IPSET			0,021
High risk	16 (46)	54 (63)	
Intermediate risk	6 (17)	19 (22)	
Low risk	3 (9)	7 (8)	
Very low risk	10 (29)	6 (7)	
ELN			0,035
High risk	23 (66)	73 (85)	
Low risk	12 (34)	13 (15)	
Driver mutation			0,47
<i>JAK2</i> V617F - no (%)	19 (54)	51 (59)	
<i>CALR</i> - no (%)	9 (26)	17 (20)	
<i>MPL</i> - no (%)	0 (0)	5 (6)	
TN - no (%)	7 (20)	13 (15)	
Patients with additional mutations			
None - no (%)	20 (57,1)	38 (44,2)	0,27
≥ 1 - no (%)	15 (42,9)	48 (55,8)	
≥ 2 - no (%)	6 (17,1)	18 (20,9)	0,82
<i>TET2</i> - no (%)	3 (8,6)	16 (18,6)	0,27
<i>DNMT3A</i> - no (%)	4 (11,4)	9 (10,5)	1
<i>ASXL1</i> - no (%)	2 (5,7)	3 (3,5)	0,63
<i>MPL</i> (notW515) - no (%)	5 (14,3)	3 (3,5)	0,04
Splicing - no (%)	1 (2,9)	7 (8,1)	0,43
HMR-ET - no (%)	4 (11,4)	15 (17,4)	0,59

Peg-IFN : Peginterferon alpha-2a; ELN: ≥ 60 years and/or history of thrombosis, HMR-ET : *SRSF2*, *SF3B1*, *U2AF1*, *TP53*, *ASXL1*, *EZH2*, *SRSF2*, *IDH1*, *IDH2*; HU : Hydroxyurea; LDH : Lactate deshydrogenase, r-IPSET : revised IPSET : high risk (thrombosis history or age ≥ 60 years with *JAK2* mutation), "intermediate risk" (no thrombosis history, age ≥ 60 years and *JAK2*-unmutated), "low risk" (no thrombosis history, age ≤ 60 years and *JAK2*-mutated) and "very low risk" (VRL) (no thrombosis history, age ≤ 60 years and *JAK2*-unmutated)

TABLE DES MATIERES

SERMENT D'HIPPOCRATE.....	
CONTEXTE	11
HYPOTHESES ET OBJECTIFS	20
ABSTRACT	22
INTRODUCTION	24
METHODS	26
1. Patients selection.....	26
2. Definitions for risk stratification and response	26
3. Data collection	27
4. Biological analysis.....	28
5. Statistical analysis	28
RESULTS.....	30
1. Patient characteristics	30
2. Response to treatment.....	31
3. Thrombosis and progression to myelofibrosis/acute leukemia	32
DISCUSSION	34
ACKNOWLEDGEMENT	36
AUTORSHIP.....	37
CONCLUSION/PERSPECTIVES.....	38
BIBLIOGRAPHIE.....	39
LISTE DES FIGURES	46
LISTE DES TABLEAUX.....	56
TABLE DES MATIERES	59
SUPPLEMENTAL.....	I

SUPPLEMENTAL

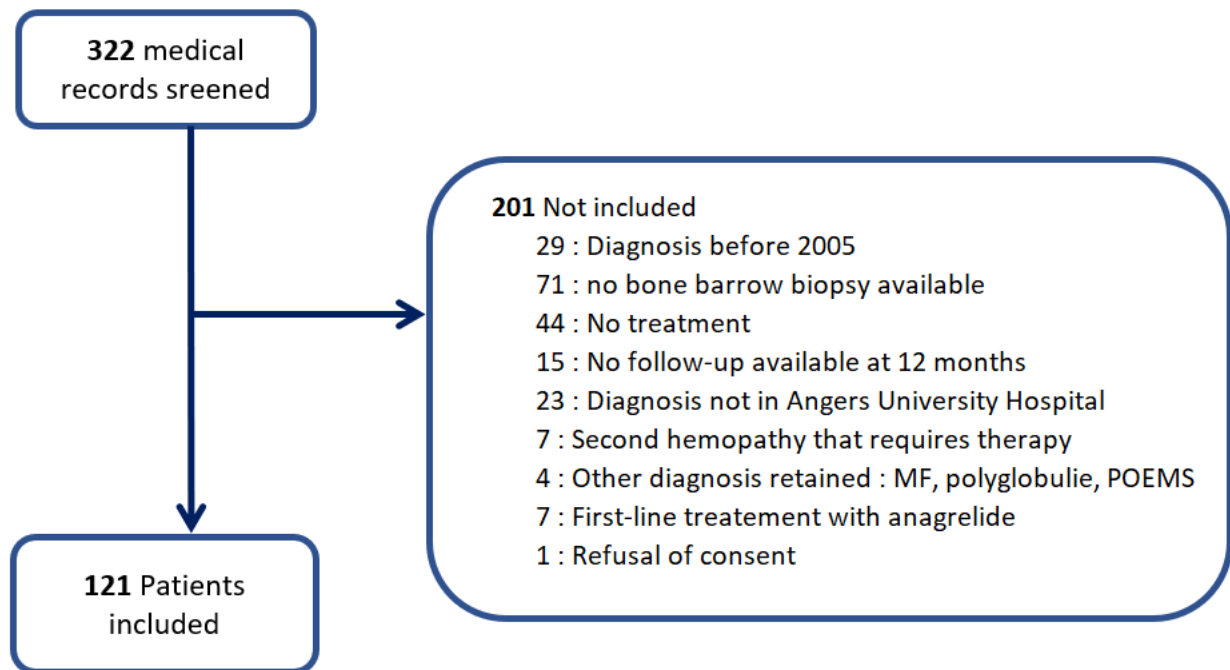


Figure S1. Flow chart. 322 medical records screened, 201 patients with the reason for no inclusion. 121 patients included.

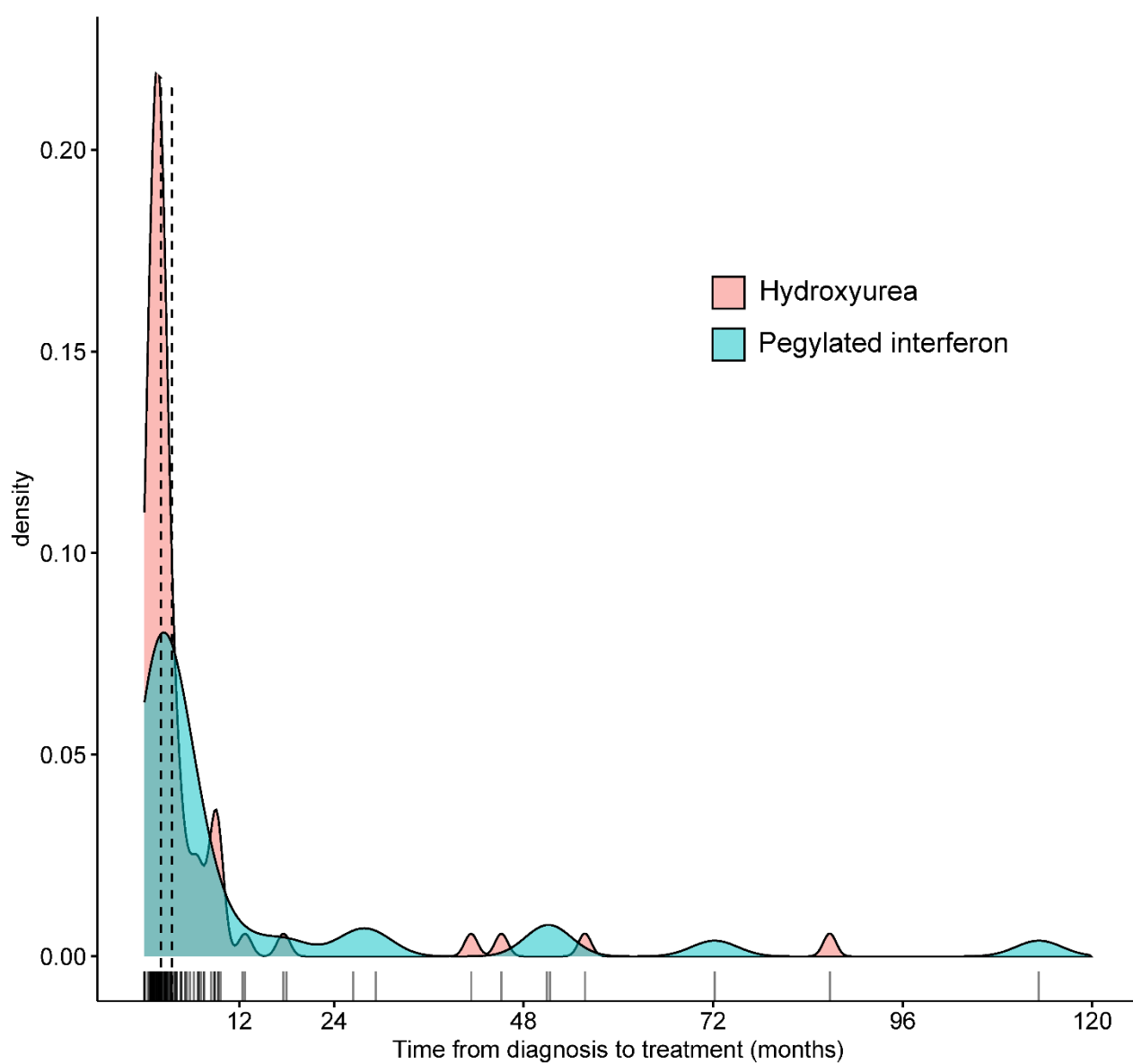


Figure S2 : Time from diagnosis to treatment. Density plot. In blue, patients treated with Peg-IFN and in pink patients with HU.

Comparison of hematological evolution and overall survival according to response at 12 months

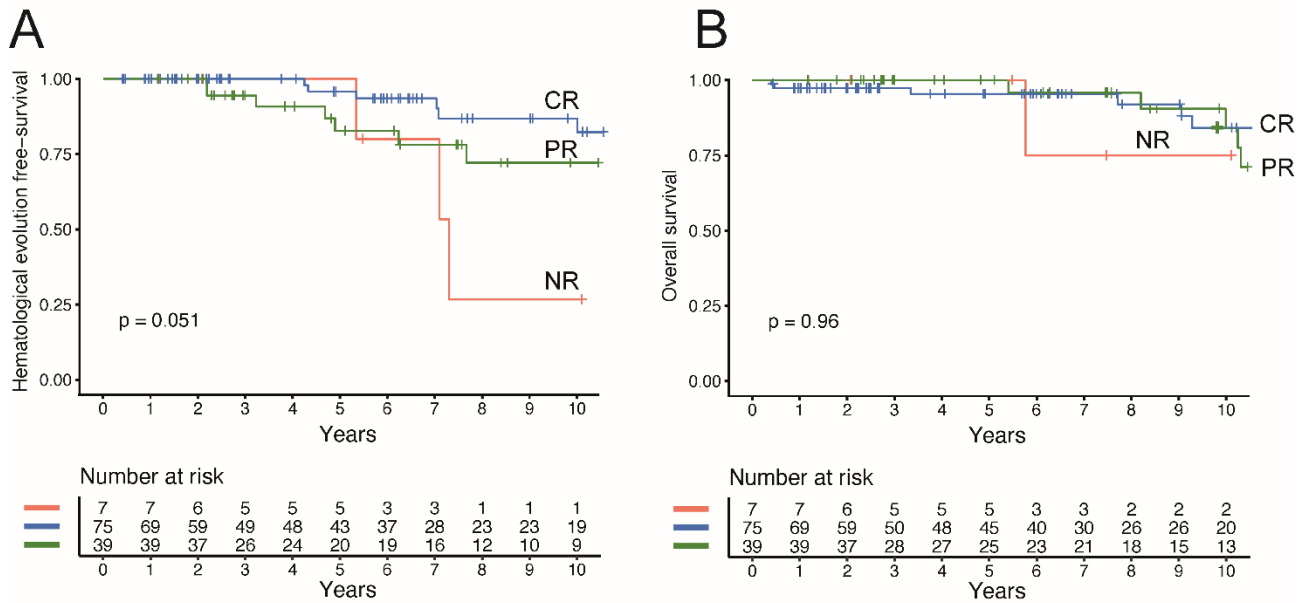


Figure S3. Comparison of hematological evolution and overall survival according to response at 12 months. Kaplan-meier curves. Complete response (CR) is represented in blue, Partial response (PR) is represented in green, No response (NR) in red. The number patient at risk for each groups are shown in the each table below the curves.

Table S1 : Panel of genes

<i>ASXL1</i>	<i>ATM</i>	<i>ATRX</i>	<i>BCOR</i>	<i>BCOR1</i>	<i>CALR</i>	<i>CBL</i>	<i>CEBPa</i>
<i>CHEK2</i>	<i>CSF3R</i>	<i>CUX1</i>	<i>DDX41</i>	<i>DNMT3A</i>	<i>DOTL1</i>	<i>EED</i>	<i>ETNK1</i>
<i>ETV6</i>	<i>EZH2</i>	<i>FLT3</i>	<i>GATA2</i>	<i>IDH1</i>	<i>IDH2</i>	<i>IKZF1</i>	<i>JAK2</i>
<i>KDM6A</i>	<i>KIT</i>	<i>KMT2A</i>	<i>KRAS</i>	<i>MPL</i>	<i>NF1</i>	<i>NFE2</i>	<i>NMP1</i>
<i>NRAS</i>	<i>PDS5B</i>	<i>PHF6</i>	<i>PTEN</i>	<i>PTPN11</i>	<i>RAD21</i>	<i>RUNX1</i>	<i>SETBP1</i>
<i>SF3B1</i>	<i>SH2B3</i>	<i>SMC1A</i>	<i>SMC3</i>	<i>SRSF2</i>	<i>STAG2</i>	<i>SUZ12</i>	<i>TET2</i>
<i>TP53</i>	<i>U2AF1</i>	<i>WT1</i>	<i>ZRSR2</i>				

Table S2. Interruption of treatment at 12 months or before

1st line Tx		Motive	Type of intolerance	2nd line Tx	Evolution
HU	11m	Ineffectiveness		Anagrelide	CR at 2m, loss of response at 22m Transformation to MF at 9y after diagnosis/8y after 1st line Tx
HU	3m	Ineffectiveness		peg-IFN	No response, addition of HU at 3m. RC with bithrapy at 11 m
HU	4m	Ineffectiveness		Anagrelide	CR at 3m, first lost of response at 4m
HU	10m	Ineffectiveness		Anagrelide	CR at 3m
HU	15d	Intolerance	MAS	Anagrelide	PR Transformation to MF at 7y after diagnosis/after 1st line treatment
HU	1m	Intolerance	Fever	Pipobroman	CR at 11m, first loss of response after 9y of 2nd line Tx
HU	3w	Intolerance	Fever, myalgia	Anagrelide	CR at 5m, loss partial of response at 5y, fluctuations
HU	6m	Intolerance	Cutaneous ¹	Anagrelide	Stopped at 15d for dyspnea. No Tx during 4y and 3rd line with Pipobroman wich led to PR.
HU	1m	Intolerance	Fever	Anagrelide	CR at 2m
HU	9m	Young age		peg-IFN	CR at 1,5m, loss of response at 8m which leads to adjunction of HU
HU	7m	Other*		peg-IFN	CR at 13d, 1first loss of partial response at 2m, fluctuations
peg-IFN	8m	Ineffectiveness		Anagrelide	CR at 6m
peg-IFN	7m	Ineffectiveness		HU	CR at 1m, after 8m by HU switch by IFN- α (patient request) which led to CR during 6m until loss of response
peg-IFN	18d	Intolerance	Cutaneous ³	Anagrelide	PR
peg-IFN	5m	Intolerance	Myalgia	No Tx	Platelet count between 400 and 500 G/L, Transformation to PV at 9y after diagnosis/initiation of 1st line traitement
peg-IFN	20d	Intolerance	Hepatic cytolysis	HU	CR at 8m and stopped at 5y for cutaneous toxicity (cancer) 3d line with anagrelide : RP but relapse atrial fibrillation, resuming HU
peg-IFN	4m	Intolerance	Cutaneous ⁴	HU	PR then NR, stopped at 4y for no response 3d line with anagrelide ineffective; resuming HU in 4th line : PR

*choice of heamatologist

¹: sclerodermia, ²: ulcer, ³:vesicular eruption, ⁴:without specification

d : day, peg-IFN : perginterferon alpha-2b, m : months, MAS : macrophage activation syndrome, PV : polychemia vera, Tx : treatment

Table S3. Characteristics of patient with or without *TET2* mutations

Characteristics at treatment initiation	<i>TET2</i> -nm N = 102	<i>TET2</i> -m N = 19	p value
Clinical data			
Median age - (y)	65 [19-90]	67 [51-80]	0,053
Male sex - no (%)	45 (44,1)	4 (21,1)	0,104
Thrombosis, no (%)	33 (32,4)	5 (26,3)	0,802
Arterial thrombosis, no (%)	19 (18,6)	3 (15,8)	1
Venous thrombosis, no (%)	14 (13,7)	2 (10,5)	
Biology			
Hemoglobin (g/dL)	14,5 [8,8-17,7]	14,2 [12,2-17,2]	0,492
Platelet count (G/L)	703 [335-1963]	700 [562-1513]	0,4
Leucocyte count (G/L)	8,20 [3,40-17,4]	9,07 [2,85-16]	0,359
r-IPSET			0,08
High risk	60 (58,8)	10 (52,6)	
Intermediate risk	19 (18,6)	6 (31,6)	
Low risk	7 (6,86)	3 (15,8)	
Very low risk	16 (15,7)	0 (0)	
ELN			0,761
High risk	80 (78,4)	16 (84,2)	
Low risk	22 (21,6)	3 (15,8)	

Table S4 : List of additional clonal mutations at diagnosis

GENE	Nucleotide nomenclature	Protein consequence	VAF (%)	Classification
ABL1	c.C3152T	p.A1051V	2,2	B
ASXL1	c.1934dupG	p.G646Wfs*12	20	A
ASXL1	c.1934dupG	p.G646Wfs*12	10,5	A
ASXL1	c.1934dupG	p.G646Wfs*12	7,5	A
ASXL1	c.1934dupG	p.G646Wfs*12	22	A
ASXL1	c.C2083T	p.Q695X	44	A
ATM	c.5889dup	p.K1964fs*0	2,1	A
ATM	c.1523delT	p.G509Efs*2	45	A
ATM	c.C7354G	p.L2452V	3	B
BCOR	c.G4741T	p.D1581Y	57	B
BCOR	c.G4514A	p.C1505Y	5,1	B
BCORL1	c.C4258T	p.R1420X	5,8	A
CALR	c.A92G	p.D31G	32,1	B
CBL	c.C1250T	p.P417L	11,3	A
CBL	c.1363_1364insATG	p.Y455delinsYD	18,7	B
CBL	c.G1211A	p.C404Y	4	A
CBL	c.A1112G	p.Y371C	3,1	A
CHEK2	c.A880T	p.I294F	47,3	B
CHEK2	c.T856C	p.C286R	52,2	B
CHEK2	c.1591delG	p.D531fs	5,4	A
CUX1	c.G262A	p.V88I	51	B
DNMT3A	c.G1227A	p.W409X	3,1	A
DNMT3A	c.C2644T	p.R882C	20	A
DNMT3A	c.G2645A	p.R882H	37,6	A
DNMT3A	c.1278_1279de	p.E427Rfs*16	4,4	A
DNMT3A	c.G2059T	p.V687F	28,1	A
DNMT3A	c.1061_1076de	p.F354Sfs*47	8,2	A
DNMT3A	c.2401_2408del	p.M801Afs*7	2,7	A
DNMT3A	c.C2185T	p.R729W	5,4	A
DNMT3A	c.2656delC	p.Q886Rfs*19	31,2	A
DNMT3A	c.2322+1G>A		12,3	B
DNMT3A	c.C2309A	p.S770X	33,9	A
DNMT3A	c.C2185G	p.R729G	2,7	B
DNMT3A	c.G2645A	p.R882H	31	A
DNMT3A	c.1061delT	p.F354Sfs*52	5	A
ETNK1	c.A731G	p.N244S	6,1	A
ETV6	c.1139dupG	p.N382Kfs*2	5,7	A
EZH2	c.T401C	p.M134T	11,8	B
EZH2	c.1876-2A>G		6,8	B
IDH2	c.C418T	p.R140W	7,4	A
JAK2	c.A1838G	p.Y613C	2,4	B
JAK2	c.G1849A	p.V617I	12	B
KMT2A	c.T9778A	p.F3260I	11,8	B
KMT2A	c.G8965A	p.E2989K	42,8	B
KMT2C	c.G2926A	p.A976T	5,7	B
KMT2C	c.T918G	p.Y306X	4,7	A
KMT2C	c.G3401A	p.S1134N	0,4	B

KRAS	c.G34C	p.G12R	12,5	A
MPL	c.1543_1552delinsAAGT	p.(Trp515_Pro518delinsLysSer)	17,2	A
MPL	c.T1771G	p.Y591D	3,8	A
MPL	c.G1514A	p.S505N	25	A
MPL	c.G1544C	p.W515S	10	A
MPL	c.T610C	p.S204P	2	A
MPL	c.C791T	p.S264F	6	B
MPL	c.T1796C	p.L599P	10,6	B
MPL	c.T610C	p.S204P	87	A
NF1	c.G7781A	p.R2594H	5,2	B
NFE2	c.889_900del	p.E297_R300del	3,4	B
NFE2	c.C814T	p.R272X	7,7	A
NFE2	c.T791C	p.L264P	2,1	B
NFE2	c.750delT	p.F250Lfs*9	3,5	A
PDS5B	c.4193delA	p.A1399Qfs*11	7,7	A
RAD21	c.T2A	p.M1K	5,4	B
RAD21	c.1548dupA	p.P517Tfs*20	37,4	A
SF3B1	c.A1877G	p.N626S	2,4	B
SF3B1	c.A2098G	p.K700E	25,6	A
SF3B1	c.T1909A	p.S637T	13	B
SF3B1	c.G2225A	p.G742D	7	B
SH2B3	c.C664G	p.L222V	39,9	B
SH2B3	c.955-1G>C		38,8	B
SRSF2	c.C284A	p.P95H	41,9	A
SRSF2	c.C283G	p.P95A	45,5	A
SRSF2	c.C284A	p.P95H	17,6	A
SRSF2	c.C284A	p.P95H	42,8	A
STAG2	c.C2360A	p.A787D	8,8	B
TET2	c.A3467T	p.N1156I	2	B
TET2	c.971dupA	p.Q325Tfs*5	39	A
TET2	c.C4042T	p.Q1348X	3	A
TET2	c.C970T	p.Q324X	49,2	A
TET2	c.5933dupT	p.T1979Dfs*35	3,1	A
TET2	c.5514delT	p.G1839Vfs*47	2,4	A
TET2	c.G670T	p.E224X	11,1	A
TET2	c.680delA	p.T229Hfs*20	2,8	A
TET2	c.T3692C	p.L1231P	6,9	A
TET2	c.1567_1568insGA	p.L525Sfs*8	36,6	A
TET2	c.4131delC	p.C1378Vfs*69	30,3	A
TET2	c.G5633A	p.R1878H	7,7	A
TET2	c.1403delA	p.H468Lfs*18	19,4	A
TET2	c.C4879T	p.Q1627X	29,7	A
TET2	c.T5618A	p.I1873N	4	B
TET2	c.5008delC	p.L16770Sfs*24	27,3	A
TET2	c.T5618C	p.I183T	6,4	A
TET2	c.C4106T	p.S1369L	29,6	B
TET2	c.C1588T	p.Q530X	26	A
TET2	c.3901_3905delinsC	p.A1301fs	7	A
TET2	c.G5152T	p.V1718L	51	A
TET2	c.G1051T	p.E351X	13,1	A

TET2	c.C4870T	p.Q1624X	33,5	A
TET2	c.3107dupA	p.H1036Qfs*5	41	A
TP53	c.T326C	p.F109S	2,1	A
TP53	c.G856T	p.E286X	2,2	A
TP53	c.G469A	p.V157I	49,5	A
WT1	c.C185A	p.S62Y	3.5	B
ZBTB33	c.T1112A	p.L371X	94,3	A
ZBTB33	c.1635_1636del	p.E547Afs*26	43.1	A
ZBTB33	c.G1487A	p.C496Y	27,6	B

Les mutations additionnelles au diagnostic influencent la réponse au traitement de première ligne dans la thrombocythémie essentielle

RÉSUMÉ

Introduction : L'objectif du traitement dans la thrombocythémie essentielle (TE), appartenant aux néoplasies myéloprolifératives *BCR::ABL1* négatives, est de réduire le risque de récurrence thrombotique. Les patients résistants ou intolérants ayant un mauvais pronostic, il serait intéressant de pouvoir prédire lesquels vont répondre au traitement de première ligne. Notre objectif est donc de décrire l'association entre les mutations additionnelles au diagnostic et la réponse au traitement de première ligne dans la thrombocythémie essentielle.

Méthode : Dans cette étude rétrospective et monocentrique réalisée au CHU d'Angers, les patients étaient éligibles s'ils avaient reçu en première ligne un traitement par interféron pegylé (peg-IFN) ou hydroxurée (HU). Pour tous les patients, un séquençage haut débit a été réalisé sur les prélèvements sanguins du diagnostic.

Résultats : Nous avons inclus 121 patients dont le diagnostic a été posé entre 2005 et 2022 dont 86 (71%) ont été traités par HU et 35 (29%) par peg-IFN avec un suivi médian de 8 et 6 ans, respectivement. Les mutations additionnelles les plus fréquentes étaient : *TET2* (19/121 patients), *DNMT3A* (13/121), *MPL* autre que W515 K/L (8/121), *ASXL1* (5/121) et les mutations du splicing (*SRSF2*, *SF3B1* 8/121). Aucun patient traité par peg-IFN n'a évolué en myélofibrose alors que 16/86 (19%) patients traités par HU ont progressé en myélofibrose secondaire. A un an, 75 (62%) patients étaient en réponse complète, 37 (31%) en réponse partielle et 7 (6%) sans réponse. La présence d'au moins une mutation additionnelle au diagnostic est un facteur de risque de ne pas obtenir de réponse complète (HR 0,66 [0,44-0,99] $p=0,045$) alors que le traitement par interféron est un facteur protecteur (HR 2,01 [1,29-3,15] $p=0,002$). La présence d'au moins une mutation additionnelle ou de *TET2* au diagnostic est associée à la progression en myélofibrose et leucémie aiguë myéloïde ($p<0,0001$), et seules les mutations de *TET2* sont associées à une survie globale diminuée ($p<0,0001$).

Conclusion : Nos résultats suggèrent que la présence de mutations additionnelles au diagnostic est un facteur de risque de ne pas obtenir de réponse complète. De plus, les mutations additionnelles et de *TET2* sont associées à la progression en myélofibrose ou leucémie aiguë.

Mots-clés : Mutations additionnelles, *TET2*, Interféron pegylé, Hydroxurée, Thrombocythémie essentielle

Additional mutations at diagnosis impact the response of first-line treatment in essential thrombocythemia

ABSTRACT

Introduction: Essential thrombocythemia (ET) are *BCR::ABL1* negative myeloproliferative neoplasms that require treatment to reduce thromboembolic events which are the main cause of morbidity during follow-up. Since patients with resistance or intolerance have an adverse prognosis, it would be interesting to predict which patient will respond to first-line treatment. We therefore aim to describe the association between additional clonal mutations at diagnosis and response to first-line treatment in essential thrombocythemia.

Methods: In this retrospective monocentric study at Angers University Hospital, patients diagnosed with ET and who had a DNA blood sample from diagnosis available for Next-Generation-Sequencing, were eligible. For inclusion, first line treatment with hydroxyurea (HU) or interferon- α therapy (IFN- α) with a follow-up available at one year was necessary.

Results: We included 121 patients diagnosed between 2005 and 2022, receiving HU as first-line therapy ($n=86$, 71%) or IFN- α ($n=35$, 29%), with a median follow-up of 8 and 6 years, respectively. The most frequent additional mutations were: *TET2* 19/121 patients (15,7%), *DNMT3A* 13/121 (10,7%), *MPL* not W515 K/L 8/121 (6,6%), *ASXL1* 5/121 (4,13%), and splicing mutations *SRSF2*, *SF3B1* 8/121 (6,6%). None of the patients with IFN- α therapy progressed to myelofibrosis (MF), whereas 16/86 patients (19%) treated with HU developed secondary myelofibrosis ($p=0.006$). At 12 months of treatment, 75 (62%) patients achieved complete response, 37 (31%) partial response, and 7 (6%) no response. At least one additional mutation at diagnosis was a risk factor for achieving complete response (HR 0,66 [0,44-0,99] $p=0,045$) whereas peg-IFN therapy was a protective factor (HR 2,01 [1,29-3,15] $p=0,002$). The presence of additional mutation or *TET2* mutation at diagnosis was associated with progression to MF or acute myeloid leukemia ($p<0.0001$) and only *TET2* was significantly associated with reduced overall survival ($p<0.001$).

Conclusion: In conclusion, our results suggests that additional mutations at diagnosis is a risk factor for achieving complete response. Furthermore, additional mutations and *TET2* mutations are associated with progression to myelofibrosis or acute leukemia.

Keywords : Additional mutations, *TET2*, Pegylated interferon, Hydroxurea, Essential thrombocythemia