

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Animale

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم بيولوجيا الحيوان

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : *Génétique*

N° d'ordre :
N° de série :

Intitulé :

**Analyse cytogénétique des Leucémies Aigues Myéloïdes (LAM)
dans la région de Constantine.**

Présenté et soutenu par : BALOUL Nesrine
LEBSIR Mohamed

Le 01/07/2018

Jury d'évaluation :

Président : SATTA Dalila - Professeur - Université des Frères Mentouri, Constantine 1.

Encadreur : REZGOUN Mohamed Larbi - MC-A - Université des Frères Mentouri, Constantine 1.

Examineur : ZIADA Hadia - MC-B - Université des Frères Mentouri, Constantine 1.

Année universitaire
2017 - 2018

**Au Nom de Dieu, Le Tout Miséricordieux,
Le Très Miséricordieux**

**Nous remercions le tout puissant de nous avoir honorés
d'être parmi celles et ceux qui entretiennent la flamme du savoir
et de nous avoir donné le courage et la force de travailler
et continuer malgré les obstacles.**

**« La lumière de la connaissance est unique car quand elle éclaire quelque part,
elle éclaire partout » -Issac ASSIMOV-**

**À toutes les personnes souffrant de cette terrible maladie qu'est le Cancer,
puisse Dieu leurs venir en aide.**

**Et nous leur souhaitons qu'un jour la science apporte un répit à leurs
souffrances.**

Remerciements

Il nous est agréable aujourd'hui de rendre hommage et d'exprimer notre reconnaissance à tous ceux qui nous ont aidés et qui ont contribué à la réalisation de cette présente recherche.

Au Professeur **SATTA D**, pour tout ce que vous nous avez légué durant ces années, merci pour le savoir, pour la rigueur, et surtout pour nous avoir transmis votre passion pour la génétique et la recherche.

Nous voudrions remercier en premier lieu Dr **REZGOUNE ML**, d'abord de nous avoir choisis, ce fut un honneur et une joie de travailler sous son aile, et aussi de nous avoir prodigué de bons conseils qui nous serviront dans les travaux ultérieurs et pour le temps qu'il nous a consacré, ainsi que pour sa sympathie si particulière.

Nous tenons à remercier infiniment aussi Mme **NINI A** qui nous a très bien accueillis et aidé au cours de notre stage ainsi que pour la confiance et la liberté qu'elle nous a accordé, sans elle ce travail n'aurait pas pu avoir lieu.

Nous tenons également à remercier les docteurs **KEBAILI** et **OUCHNENE** pour leur accompagnements et leur sollicitude tout au long de notre travail de recherche au service d'hématologie.

Un grand merci au staff du service d'hématologie, aux infirmiers pour leur serviabilité, à **KAWTHAR** et **ZOUBEIDA** qui nous ont ouvert le bureau d'archive pour notre étude statistique, ainsi qu'aux résidents qui nous ont aidé pour notre travail.

Nous souhaitons aussi adresser nos sincères remerciements au Dr **HANNACHI** de l'unité de cytogénétique du laboratoire de Biologie et Génétique Moléculaire (BGM), pour nous avoir donné la possibilité de finaliser notre pratique et de nous familiariser avec la cytogénétique médicale, sans oublier **IMEN** de l'unité cytogénétique qui nous a accompagné et consacré du temps afin de terminer notre travail.

Nous tenons à exprimer nos meilleures reconnaissances à Dr **ZIADA H** qui a accepté de siéger dans notre jury et d'évaluer notre modeste travail de recherche.

Dédicaces

Du plus profond de mon cœur je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers :

À la mémoire de mon « Défunt Père » parti trop tôt, mon héros, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, qui m'a toujours poussé et motivé dans mes études, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, Pour toute l'éducation et l'enseignement que tu m'as transmis, aucune expression ne saurait traduire mon estime, mon respect, mon amour éternel et ma considération. J'espère, que du monde qui est sien maintenant, il apprécie cet humble geste comme preuve de reconnaissance de la part de ta fille qui a toujours prié pour le salut de ton âme. Tu nous manque à tous mon chère papa tu mérites ton repos que dieu tout puissant t'accueille dans son vaste paradis et t'ait en sa sainte miséricorde.

À la lumière de mes jours, ma vie et mon bonheur ; ma « CHÈRE MAMAN » aucun mot ne saurait exprimer l'amour, l'estime, et le respect que j'ai toujours eu pour toi, je te remercie pour tout le soutien et l'amour que tu me portes depuis mon enfance et j'espère que ta bénédiction m'accompagnera toujours. Tu as toujours été à mes côtés et tu as cru en moi, merci pour ta compréhension, ta patience et ton encouragement, tu m'as transmis ta force et ta bienveillance et appris le sens du sacrifice pour les êtres chers puisse le grand puissant t'accorder Santé, bonheur et longue vie.

À mon petit frère « HAFID » qui a toujours cru en moi et m'a défendus, qui m'a soutenus et encouragé au cours de mes études et qui a su succéder mon père.

À ma grand-mère « MAMASS » qui m'a considéré comme sa fille et qui a pris soin de moi au cours de ces 5 ans et qui m'a guidé vers le droit chemin avec ses bons conseils et qui m'a toujours encouragé et remonté le moral, merci de m'avoir supporté.

À mes oncles et leurs femmes : Khalou LYES, HAMID, BAZZIZ, KAMEL, NADIR et RAZEK qui ont toujours été à mes côtés et qui m'ont pris sous leur ailes, merci d'avoir comblé le vide que mon père a laissé et de ne m'avoir jamais délaissé ou me laisser dans le besoin, pour leur sollicitude et leur obligeance.

À mes tantes : Khalti LILA, NADIA et DAHBIA merci de m'avoir soutenus et d'être là pour moi.

À ma grand-mère « MANINI » d'avoir toujours cru en moi et encourager. Ainsi qu'une pensée pour mon grand-père « SI LAARBI » que dieu te garde dans son vaste paradis.

*À mes oncles et tantes paternel : Tonton DJIMOU, Tonton KARIM et Tonton YAHIA
Tata NABILA et Tata HASSINA de m'avoir soutenus et encourager.*

*À mes cousins et cousines paternel et maternel spécialement : ASMA, AMINE, AHMED,
AMINA, KAHINA et RAWENE qui ont toujours été à mes côtés dans les moments les plus
difficiles ainsi que dans ma réussite, ils m'ont été d'un soutien moral énorme ils ont toujours crus
en moi et en mes capacités.*

*À Mme NINI qui a su nous mettre à l'aise, pour sa sympathie et son optimisme, vous avez
su être une amie.*

*À tous mes professeurs depuis le primaire jusqu'à aujourd'hui, et spécialement Mr et Me
REZGOUNE merci de m'avoir encouragé à persévérer.*

*À une personne chère à mon cœur qui a été mon bras droit, qui m'a beaucoup aidé et
soutenu et encouragé et qui a été là pour moi dans toutes les circonstances.*

*À mes amies et spécialement ma meilleure amie « KHADIDJA » merci d'avoir toujours
gardé notre amitié malgré la distance, merci pour ton soutien.*

*À une très belle rencontre que j'ai faite au cours de mon stage AMIRA merci pour les bons
moments qu'on a passé, ton soutien et pour ton optimisme et ton enthousiasme, tu as éclairé
notre stage avec ta joie de vivre ça été un plaisir de te rencontrer et de travaillé avec toi.*

*Enfin à mon meilleur ami « mon binôme » MOHAMED comme on dit le meilleur pour la
fin, merci de m'avoir supporté, guidé, soutenu, compris, encouragé, de m'avoir donné des conseils
qui m'ont été très précieux, merci d'avoir été un très bon ami, un excellent binôme d'être
toujours à mes côtés, c'est le hasard qui fait la famille mais c'est le cœur qui fait les amis,
l'amitié c'est un cadeau rencontré sur le chemin de la vie merci pour ce merveilleux cadeau.*

BALOUL Nesrine.

Dédicaces

J'aimerai dédier ce modeste travail et exprimer toute ma reconnaissance :

À mon père qui n'a ménagé aucun effort pour que je ne manque de rien ainsi que son support afin que je puisse continuer sur le chemin des études.

À celle qui ne cesse de m'étonner par son abnégation, qui m'a inconditionnellement aimé et aidé ma TRÈS CHÈRE MAMAN, car le plus beau métier au monde mais aussi le plus ardu est bien celui d'être mère. J'espère que ce travail saura honorer l'amour et le respect que tu portes à ton fils.

À mes sœurs AMIRA et MERIEM qui m'ont toujours encouragé et fait rire,

À ma chère grand-mère FATIMA EZOÛRA pour son affection, son amour sans limite et son humour si unique, tu es un cadeau du ciel.

À toute ma famille (spécialement ma tante CHAFIA et ma petite cousine RANIA) pour leur affection et leurs encouragements.

Je voudrais aussi dédier ce travail à la mémoire de mes défunts grands parents, j'aurais tellement voulu que vous soyez là (surtout toi « BABA MOHAMED ECHERRIF » tu es un exemple pour moi).

À Mme BERCHI qui m'a donné du baume au cœur et la joie d'être un biologiste, vos cours de Biologie cellulaire et de Biologie animal ont été les meilleurs. Ainsi que tous mes autres professeurs depuis le collège jusqu'à aujourd'hui merci pour votre soutien.

À ma meilleure amie qui a toujours été à mes côtés et soutenue contre vents et marées, celle dont le sourire et la présence réchauffe mon cœur, NESRINE tu es et seras la meilleure amie de tous les temps.

À Mme NINI qui a facilité notre travail et nous a laissé profiter pleinement de cette expérience sans oublier ses encouragements et son implication dans notre pratique.

Spéciale dédicace à ma nouvelle amie et enquiquineuse : AMIRA « l'algéroise », merci pour les moments de délire et les conversations intéressantes que nous avons eues et surtout pour ta positive attitude.

À mon amie ZAINEB « Emi », pour les moments de rigolades alambiquées.

À mes camarades ZAKI, CHEMSEDDINE, LAARABA et ZINEDDINE

LEBSIR Mohamed.

Abréviations

AKT : serine/threonine kinase
AML1 : Acute Myeloid Leukemia 1 protein
Ara C : Cytosine Arabinoside
AREB : Anémie Réfractrice avec Excès de Blastés
ASXL : Additional SeX Comb-Like
ATRA : l'Acide tout-trans-rétinoïque
BOM : Biopsie Ostéo Médullaire
CBF : Core Binding Factor
CBL : Casitas B-cell Lymphoma
CEBP α : CCAAT/Enhancer Binding Protein α
CIVD : Coagulation Intra- Vasculaire Disséminée
C-Kit : proto-oncogene receptor tyrosine kinase
CMP : Common Myeloid Precursor
C-Myc : transcriptional regulator Myc-lik
CSF : Colony Stimulating Factor
CSH : Cellule Souche Hématopoïétique
CSL : Cellule Souche Leucémique
CXCR4 : C-X-C chemokine Receptor type4
DNMT3A : DNA Methyltransferases-3A
ECOG : Eastern Cooperative Oncology Group
ERK : Extracellular signal Regulated Kinase
EST : Estérase non spécifique
ETO : Eight-Twenty one Oncogene
FAB : Franco-Américano-britannique
FISH : Fluorescence *In Situ* Hybridization
FLT3 : FMS-like tyrosine kinase 3
FLT3-ITD : FLT3-Internal Tandem Duplication
FLT3-TKD : FLT3-Tyrosine Kinase Domain
G-CSF : Granulocyte
GM-CSF : Granulocyte macrophage -colony stimulating factor
GMP : Granulocyte Macrophage Progenitor
HLA : Human Leucocyte Antigen
HOX : HomeobOX
IDH1/IDH2 : Isocitrate DesHydrogenase
IFN : Interféron
IgE : Immunoglobuline E
IL : InterLeukine
JAK2 : Janus Kinase 2
K-RAS : Kirsten- Rat Sarcoma Viral Oncogene
LA : Leucémie Aigue
LAL : Leucémie Aigue Lymphoïde
LAM : Leucémie Aigue Myéloïde

LAM-CN : LAM à caryotype normal
LB : Lymphocytes B
LDH : Lactate Deshydrogenase
LMC : Leucémie Myéloïde Chronique
LMMC : Leucémie Myélo-Monocytaire Chronique
LLC : Leucémie Lymphoïde Chronique
LT : Lymphocytes T
MAPK : Mitogen- Activated Protein Kinases
M-CSF : Monocytes
MEP : progéniteur des mégacaryocytes et érythrocytes
MGG : May-Grunewald-Giemsa
MLL: Mixed Lineage Leukemia
MLP : progéniteurs lymphoïdes immatures
MPO : Myeloperoxydase
MPP: Progéniteurs multipotents
MYH11 : Myosin heavY cHain
NASDA : Naphtol-ASD-Acétate
NK : Natural Killer
NPM1 : Nucléophosmine
N-RAS : neuroblastoma- Rat Sarcoma Viral Oncogene
OMIM : Online Mendelian Inheritance in Man
OMS : Organisation Mondial de la Santé
PAS : réaction acide périodique-schiff
PCR : Polymérase Chaine Reaction
PI3K : Phosphoinositide-3 kinase
PML : ProMyelocytic Leukemia
PTD : Partial Tandem Duplications
RAR α : Retinoic Acid Receptor alpha
RAS : Rat Sarcoma Viral Oncogene
RC : Rémission Complète
REG : Réticulum Endoplasmique Granuleux
RUNX1 : Runt-related transcription factor 1
RPMI : Roswell Park Memorial Institute medium
RXR : Retinoid X Receptor
SCF : Stem Cell Factor
SDF1 : Stromal Cell Derived Factor-1 alpha
SMD : Syndrome Myélo-Dysplasique
SMMHC : Smooth muscle myosin heavy chain
SMP : Syndrome Myélo-Prolifératif
TET2 : TET oncogene family member 2
TGF : Tumor Growth factor
TPO : Thrombopoïétine
WT1 : Wilm's Tumor 1

Table des matières

| | |
|---|----|
| Introduction | 01 |
| Chapitre I : Historique | |
| 1. Historique..... | 03 |
| 2. Définition..... | 04 |
| Chapitre II : Sang et hématopoïèse | |
| I. Sang et caractéristiques physico-chimiques | 05 |
| I.1. Sang et ses composants | 05 |
| 1. Les Érythrocytes..... | 05 |
| 2. Les Leucocytes..... | 05 |
| 2.1. Les Monocytes..... | 05 |
| 2.2. Les polynucléaires..... | 05 |
| 2.2.1. Les Neutrophiles..... | 06 |
| 2.2.2. Les Eosinophiles..... | 06 |
| 2.2.3. Les Basophiles..... | 06 |
| 3. Les Lymphocytes..... | 06 |
| 4. Les Plaquettes..... | 06 |
| II. Hématopoïèse | 07 |
| 1. Les cellules souches hématopoïétiques (CSH)..... | 08 |
| 2. La niche hématopoïétique..... | 08 |
| 3. Ontogenèse..... | 09 |
| III. Régulation de l'hématopoïèse | 10 |
| 1. Microenvironnement..... | 10 |
| 2. Facteurs de croissance hématopoïétique..... | 10 |
| 3. Facteurs de transcription..... | 11 |
| 4. Vitamines et oligoéléments..... | 11 |
| Chapitre III : Classification des leucémies et étiologie | |
| I. Classification des leucémies aiguës | 12 |
| I.1. Définition..... | 12 |
| I.2. Classification des leucémies aiguës..... | 12 |
| I.3. Classification des LAM..... | 12 |
| I.3.1. Classification FAB..... | 12 |
| I.3.2. Classification OMS..... | 13 |
| II. Épidémiologie | 14 |
| III. Étiologie | 15 |
| III.1. Facteurs exogènes..... | 15 |
| III.1.1. Radiations ionisantes..... | 15 |

| | |
|--|----|
| III.1.2. Exposition au benzène..... | 15 |
| III.1.3. Chimiothérapie..... | 16 |
| III.1.4. Hygiène de vie..... | 16 |
| III.2. Facteurs prédisposant..... | 16 |
| III.2.1. L'âge..... | 16 |
| III.2.2. Maladies génétiques..... | 17 |
| III.2.3. Maladies pré-leucémiques..... | 17 |
| III.2.4. Cas de l'auto-immunité..... | 17 |

Chapitre IV : Symptomatologie clinique et biologique

| | |
|--|----|
| I. Symptomatologie des LAM..... | 18 |
| I.1. Symptomatologie clinique..... | 18 |
| I.2. Symptomatologie biologique..... | 19 |
| I.2.1. Hémogramme..... | 19 |
| I.2.2. Examens cytologiques..... | 19 |
| II. Prise en charge des LAM..... | 21 |
| II.1. Chimiothérapie..... | 21 |
| II.2. Thérapie ciblée..... | 22 |
| III. Facteurs pronostiques..... | 23 |
| III.1. L'Age..... | 23 |
| III.2. Paramètres biologiques..... | 23 |
| III.3. Impact de la cytogénétique..... | 23 |

Chapitre V : Génétique des LAM

| | |
|---|----|
| I. Cancérogénèse des LAM..... | 25 |
| I.1. La cellule souche leucémique..... | 25 |
| I.2. La niche tumorale..... | 27 |
| II. Altération géniques rencontrés dans les LAM..... | 27 |
| II.1. Mutations des gènes de type I, de type II et de type III..... | 28 |
| II.1.1. Les mutations de types 1..... | 28 |
| II.1.2. Les mutations de type 2..... | 30 |
| II.1.3. Mutations de type 3..... | 33 |
| II.1.4. L'expression des miARNs (ou micro ARN)..... | 36 |
| II.1.5. Anomalies épigénétiques dans les LAM..... | 36 |

Partie pratique

Patients et méthodes

| | |
|-------------------------------|----|
| I. Patients..... | 37 |
| II. Matériel et réactifs..... | 38 |
| 1. Matériel..... | 38 |
| 2. Réactifs..... | 39 |

| | |
|--|----|
| III. Méthodologie..... | 40 |
| 1. Prélèvement sanguin pour le caryotype..... | 40 |
| 2. Mise en culture..... | 40 |
| 3. Synchronisation..... | 41 |
| 4. Caryotype..... | 41 |
| 4.1. Lavage..... | 41 |
| 4.2. Remise en culture..... | 41 |
| 4.3. Blocage en métaphase..... | 41 |
| 4.4. Choc hypotonique et préfixation..... | 41 |
| 4.5. Fixation..... | 42 |
| 4.6. Etalement..... | 42 |
| 4.7. Dénaturation et coloration (R-banding)..... | 43 |
| 4.8. Observation des lames avant coloration..... | 43 |
| 4.9. Observation des lames après coloration..... | 43 |
| 4.10. L'interprétation des résultats..... | 44 |

Résultats

| | |
|--|-----------|
| Résultats et discussions | 45 |
| Conclusion et perspectives | 60 |
| Références bibliographiques | 62 |

Annexes

Résumés

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure 01 : Compartimentation de l'hématopoïèse (Zunic, 2016)..... | 07 |
| 02 : représentation de la niche hématopoïétique (Boyer, 2016)..... | 09 |
| 03 : Comparaison entre hématopoïèse normale et leucémique (Picot, 2017)..... | 25 |
| 04 : Modèles de leucémogénèse (Dos Santos, 2008) | 26 |
| 05 : Tableau représentant les trois cas des patients prélevés..... | 38 |
| 06 : Caryotype normal d'un homme (46, XY) | 44 |
| 07 : Caryotype normal d'une femme (46, XX) | 44 |
| 08 : Nombre de cas de LAM par année au cours de cinq ans (2012-2017)..... | 45 |
| 09 : Répartition des patients selon le sexe de l'incidence des LAM à Constantine..... | 46 |
| 10 : Nombre de cas de LAM selon le sexe par année au cours de cinq ans (2012-2017)..... | 47 |
| 11 : Répartition des patients selon leur origine géographique..... | 48 |
| 12 : Répartition des patients atteints de LAM en tranche d'âge..... | 48 |
| 13 : Répartition des patients selon le type cytologique de LAM..... | 50 |
| 14 : Répartition des patients LAM selon la consanguinité..... | 51 |
| 15 : Frottis sanguin avec des blastes contenant de très nombreux corps d'Auer..... | 53 |
| 16 : Caryotype de la patiente n° 01..... | 54 |
| 17 : aspect des chromosomes 15 et 17 issus du caryotype d'un patient atteint d'une LAM3 avec la translocation t(15;17)(q25;q22) | 55 |

| | |
|---|----|
| 18 : Frottis médullaire avec de rares blastes contenant de très nombreux corps d'Auer..... | 55 |
| 19 : Chromosome métaphasique d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé du patient n°02 ... | 56 |
| 20 : Caryotype du patient n° 02 | 56 |
| 21 : aspect des chromosomes 8 et 21 issus du caryotype d'un patient atteint d'une LAM2 avec la translocation t(8;21)(q22;22) | 57 |
| 22 : aspect des noyaux après caryotype du patient N°03 | 58 |

Les leucémies aiguës (LA) sont des proliférations clonales et malignes de cellules hématopoïétiques immatures (blastes) qui envahissent la moelle osseuse, le sang périphérique et de nombreux organes (**Allali, 2012**). D'après le type de cellules impliquées (lignée myéloïde, lignée lymphoïde B ou T), il est possible de distinguer quatre types de leucémies:

Leucémies Chroniques caractérisées par une évolution lente ainsi qu'une prolifération et une accumulation de cellules originaires de la moelle osseuse, s'il s'agit de cellules myéloïdes on parlera de Leucémie Myéloïde Chronique (LMC), et si cette prolifération concerne des cellules lymphocytaires on parlera de Leucémie Lymphoïde Chronique (LLC) (**Piedfer, 2012**).

Les leucémies aiguës myéloïdes ou myéloblastique (LAM) représentent un groupe hétérogène de cancers développés à partir des cellules souches hématopoïétiques ou de progéniteurs myéloïdes précoces, Elles sont caractérisées par un arrêt de la différenciation hématopoïétique conduisant à une accumulation médullaire de cellules hématopoïétiques immatures, appelés blastes, et à une diminution de la production de cellules hématopoïétiques matures normales on parlera de LAM si ce sont les myéloblastes qui sont touchés, ou bien on parlera de Leucémie Aigue Lymphoblastique (LAL) si les cellules concernées sont des lymphoblastes (**Piedfer, 2012 ; Pedrono, 2014 ; Sujobert, 2014**).

Les LA sont considérées dans le modèle classique de la leucémogénèse, comme des maladies clonales des progéniteurs hématopoïétiques, qui vont perdre leur capacité normale de différenciation, et acquérir des capacités anormales de prolifération et de survie. Les leucémies doivent être distinguées des lymphomes qui sont aussi des atteintes tumorales du sang (**Piedfer, 2012 ; Hirsch, 2016**).

Les LAM sont des hémopathies malignes caractérisées par une prolifération incontrôlée de précurseurs hématopoïétiques immatures. L'accumulation de clones malins au niveau médullaire puis sanguin est liée à un blocage du processus de différenciation qui aboutit à une hématopoïèse non fonctionnelle et une insuffisance médullaire (**Pourcelot, 2015**). Les LAM sont organisées en huit catégories de M0 à M7, selon la classification FAB (French-American-British) en regroupant les LAM selon la lignée d'origine de la population blastique, et le niveau de blocage de la maturation myéloïde résiduelle (**Itzykson, 2011**). Tandis que le système de classification de l'OMS (Organisation Mondial de la Santé) qui est plus récent que le système FAB se base sur les caractéristiques cytologiques, cytogénétiques et moléculaires de la LAM pour les regrouper en plusieurs catégories générales (**Ducassou, 2016**). Les signes cliniques révélateurs de cette malignité sont soit en rapport avec la masse tumorale soit en rapport avec l'insuffisance médullaire (**Garban, 2002**).

Le diagnostic des hémopathies malignes repose sur le recueil d'un ensemble d'éléments biologiques dont l'analyse morphologique, l'analyse cytogénétique, l'analyse moléculaire et l'analyse phénotypique (**Picot, 2017**).

En plus des critères cytologiques et immunologiques le diagnostic des LAM se base aussi sur la cytogénétique. L'évolution de cette technique (sur le plan conventionnelle et moléculaire) a facilité la caractérisation moléculaire des anomalies chromosomiques présentes dans les LA et la compréhension des processus qui les induisent. Le caryotype étant le facteur prédictif le plus fort de la réponse thérapeutique et du risque de rechute, tous les schémas thérapeutiques prennent en considération le caryotype au diagnostic des LAM car les anomalies cytogénétiques détectées constituent un puissant facteur pronostique (**Allali, 2012 ; Luquet, 2016**).

À partir de cette étude, en premier lieu, nous souhaitons investir notre recherche sur les hémopathies malignes à travers une approche épidémiologique qui est et reste un préalable indispensable à la lutte contre ces affections. Le Protocole à suivre tiendra compte : de l'analyse des données d'incidences et de prévalence de la LAM au CHU Benbadis - Constantine, d'établir la répartition de cette affection selon les différentes régions, d'établir la répartition selon les caractéristiques des patients (âge, sexe, lieu de résidence et profession), de rechercher les différents facteurs de risques, liés au mode de vie; les facteurs environnementaux, professionnels ou génétiques et enfin d'évaluer la prise en charge et la survie des patients atteints. En deuxième lieu nous allons essayer d'appliquer des techniques de cytogénétique à l'analyse des LAM et ce pour la recherche d'anomalies chromosomiques récurrentes et spécifiques associées à ces hémopathies malignes. Nous ferons à la fin un état des lieux concernant la prise en charge de ces pathologies cancéreuses dans les structures de santé de la ville de Constantine.

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

HISTORIQUE

1. Historique :

Le XIX^e siècle a vu l'émergence des premières études sur les leucémies ;(Le « *hiatus leukaemicus* » nom donné par *Otto Naegeli*) (**Perrot, 2009**). Plusieurs travaux concernant la leucémie furent entrepris en France en Allemagne et en Grande Bretagne ; *Alfred Donné*, et les écossais *David Craigie* et *John Bennett* qui la définissaient comme un syndrome associant maladie mortelle, hypertrophie d'organes (rate, foie, ganglions lymphatiques) et excès de globules blancs dans le sang. L'allemand *Rudolf Virchow* fut le premier à proposer le nom de « leucémie » (**Rigal, 2003 ; Perrot, 2009**). En 1869 l'Allemand *Ernst Neumann* fit la découverte de la fonction hématopoïétique de la moelle osseuse. Ceci a permis la mise en place du concept de la leucémie myélogène (**Perrot, 2009**). Les colorations histologiques utilisées par *Paul Ehrlich* dans les années 1880 permirent de grands progrès dans la distinction des formes cellulaires mures et dans l'étude de leurs précurseurs, et révolutionnèrent le diagnostic différentiel des leucémies par rapport aux leucocytoses ou au divers anémies sanguines. Il proposa une théorie dualiste de l'origine des lignées leucocytaires myéloïde et lymphoïde (**Debru, Triadou, 1996**). Alors qu'en 1889 *Wilhelm Epstein* avait déjà décrit des cas d'évolution rapide qu'il nomma leucémies aiguës et qu'il distingua de la transformation aiguë des leucémies chroniques (**Perrot, 2009**). En 1898, *Ehrlich et Lazarus* distinguèrent leucémie myélogène et leucémie lymphatique et à l'intérieur de ce dernier groupe, leucémie aiguë et chronique. Les leucémies lymphatiques aiguës furent identifiées avant les leucémies myéloïdes aiguës par *Otto Naegeli* (**Debru, Triadou, 1996**). En 1930 *William Dameshek* concluait à la particularité de la leucémie monocyttaire aiguë, alors que certains auteurs lui attribuaient une origine infectieuse.

Les leucémies devaient résulter d'un trouble de la régulation hormonal de la croissance tissulaire, une preuve importante du caractère néoplasique des leucémies fut cependant donné en 1934 par *Jean Bernard* qui provoqua une érythro-leucémie expérimentale par l'injection intramédullaire de goudron chez le rat (**Debru, Triadou, 1996**).

Suite à la confusion due à l'utilisation des termes concernant la description des cellules leucémiques qui rendait la comparaison des résultats difficiles, une réunion d'un groupe de travail fut établie, composée d'hématologistes français, américains et britanniques, qui à partir d'octobre 1974 ont confronté leurs opinions sur 200 cas de leucémies aiguës et d'affections pouvant poser des problèmes de diagnostic différentiels. Ces travaux ont conduit à la publication en 1976 de la classification FAB (**Debru, Triadou, 1996**).

La classification OMS quant à elle apporte un complément utile à la classification FAB, apportant des données sur les anomalies cytogénétiques récurrentes datant de 2001, et récemment en 2008 le statut mutationnel de certains gènes (**Chaquin, 2013**).

2. Définition :

Les LAM sont des maladies hématopoïétiques clonales caractérisées par la prolifération d'un précurseur myéloïde qui s'accumule dans la moelle, le sang et éventuellement d'autres organes et par une altération de l'hématopoïèse normale. Elles sont définies par une expansion clonale de blastes myéloïdes dans la moelle osseuse, le sang ou d'autres tissus dérivant de la transformation maligne d'un progéniteur myéloïde totipotent ou engagé. Il s'agit d'un ensemble d'hémopathies cliniquement, morphologiquement et génétiquement hétérogène qui peuvent toucher une ou plusieurs lignées myéloïdes (**Eveillard, 2009 ; Poleszczuk, 2015**).

CHAPITRE II

SANG ET HÉMATOPOÏÈSE

I. Sang et caractéristiques physico-chimiques :

Le sang est un tissu conjonctif spécialisé, composé d'éléments figurés (érythrocytes, leucocytes, plaquettes etc...) réparties dans le plasma. L'ensemble est véhiculé dans les vaisseaux sanguins (Elghezal, 2009).

Le tissu sanguin se compose d'un liquide presque incolore « plasma » dans le quel baignent les cellules sanguines qui représentent 45% du volume total ce qui correspond à l'hématocrite. Le volume total du sang d'un adulte humain est de 5 litres (Kohler, 2011).

I.1. Sang et ses composants :

1. **Les Érythrocytes (globules rouges):** sont des cellules anucléées ne contenant ni mitochondries ni ribosomes et ni de réticulum endoplasmique granuleux, ces cellules ont une durée de vie de 120 jours, leur production est de 200×10^9 cellules/jours. Les hématies constituent la majeure partie du tissu sanguin ($3,9-5,6 \times 10^{12}/l$ pour le sexe féminin, $4,5-6,5 \times 10^{12}/l$ pour le sexe masculin), dont la fonction primordiale est d'assurer le transport gazeux (oxygène et gaz carbonique) entre alvéoles pulmonaires et tissus de l'organisme, grâce à une hémoprotéine : l'hémoglobine ($14,5g/100ml$) (Kohler, 2011 ; Atul *et al.*, 2003).

2. **Les Leucocytes (globules blancs) :** sont les cellules de défenses de l'organisme, faisant partie de l'immunité inné. Il existe plusieurs types de globules blancs :

2.1. **Les Monocytes :** ces cellules appartiennent au système mononuclée phagocytaire, lorsqu'elles passent dans les tissus elles se différencient en macrophages. Leur durée de vie est très courte (24 heures), ils représentent 2 à 10% de l'ensemble des globules blancs (Kohler, 2011).

2.2. **Les polynucléaires :** ces cellules possèdent un noyau plurilobé, les lobes sont reliés entre eux par des ponts fins de chromatine. Leur cytoplasme contient deux types de granulation : des granulations primaires non spécifiques, riches en hydrolases et en peroxydases, communes à tous les polynucléaires, et des granulations secondaires spécifiques à chaque groupe ayant des propriétés tinctoriales différentes (dans les cellules matures, les granulations non spécifiques diminuent) (Kohler, 2011) :

2.2.1. **Les Neutrophiles :** sont les polynucléaires les plus nombreux (40-75%), leur noyau est généralement trilobé (mais peut varier de 2 à 5 lobes), ils ont une durée

de vie de 24 heures seulement. Leurs granulations spécifiques sont neutrophiles. La fonction de ces cellules est la défense non spécifique de l'organisme (lutte anti bactérienne). (Kohler, 2011).

2.2.2. Les Éosinophiles : ces cellules ne représentent que 1 à 3% des globules blancs. Leur demi-vie dans le sang est de 4 à 5 heures ensuite elles passent dans les tissus (peau, poumons) où elles restent 8 à 10 jours. Ces cellules participent aux réactions d'hypersensibilité immédiate et retardée, elles interviennent dans la destruction des parasites. Leur membrane plasmique contient des récepteurs d'immunoglobulines de type IgE et pour les histamines (Kohler, 2011).

2.2.3. Les Basophiles : Ces cellules sont les moins nombreuses des polynucléaires, 0 à 1 % de l'ensemble des globules blancs. La durée de vie de ces cellules est de 3 à 4 jours. C'est la cellule des manifestations allergiques de type immédiat. La membrane plasmique des basophiles possède des récepteurs pour le fragment Fc des immunoglobulines de type IgE. (Kohler, 2011).

3. **Les Lymphocytes :** sont des cellules mononuclées, dont la durée de vie est variable. Sur le plan morphologique les lymphocytes sont semblables mais il existe plusieurs types mis en évidence par des marqueurs antigéniques de membrane : les lymphocytes B (LB) et les lymphocytes T (LT), on décrit aussi un troisième groupe apparenté aux lymphocytes T : les Natural Killers (NK). La population lymphocytaire sanguine comprend 8 à 12% de LB, 70 à 80% de LT et 5 à 15% de NK (Kohler, 2011).
4. **Les Plaquettes :** également appelées thrombocytes, ce sont des cellules anucléées dont la durée de vie est de 8 à 12 jours. Ces cellules ont un rôle fondamental dans les phénomènes initiaux de coagulation. Le feuillet externe de la membrane cytoplasmique contient un épais glycolemme riche en molécules d'adhésion qui sont exprimées lorsque la plaquette est activée (Kohler, 2011).

II. Hématopoïèse :

L'hématopoïèse est un processus qui permet la fabrication de toutes les cellules sanguines à partir d'une seule Cellule Souche Hématopoïétique (CSH). Le modèle classique de l'hématopoïèse est pyramidal et hiérarchisé : toutes les cellules médullaires et sanguines dérivent d'un contingent de CSH (Hirsch, 2016).

Durant la vie intra-utérine, le sac vitellin, ensuite le foie, la rate et enfin la moelle osseuse sont le siège de ce phénomène. Après la naissance l'hématopoïèse normale siège uniquement dans la

moelle osseuse. Le fonctionnement pérenne du système hématopoïétique est maintenu par un petit contingent de CSH multipotentes résidentes dans la moelle osseuse. Ces cellules souches maintiennent et régulent le taux normal des cellules sanguines, ces mêmes CSH vont se multiplier et se différencier en progéniteurs plus engagés dans la voie lymphoïde ou la voie myéloïde, puis en précurseurs de plus en plus différenciés, jusqu'à aboutir aux éléments matures du sang (Atul *et al.*, 2003 ; Boyer, 2016 ; Hirsch, 2016).

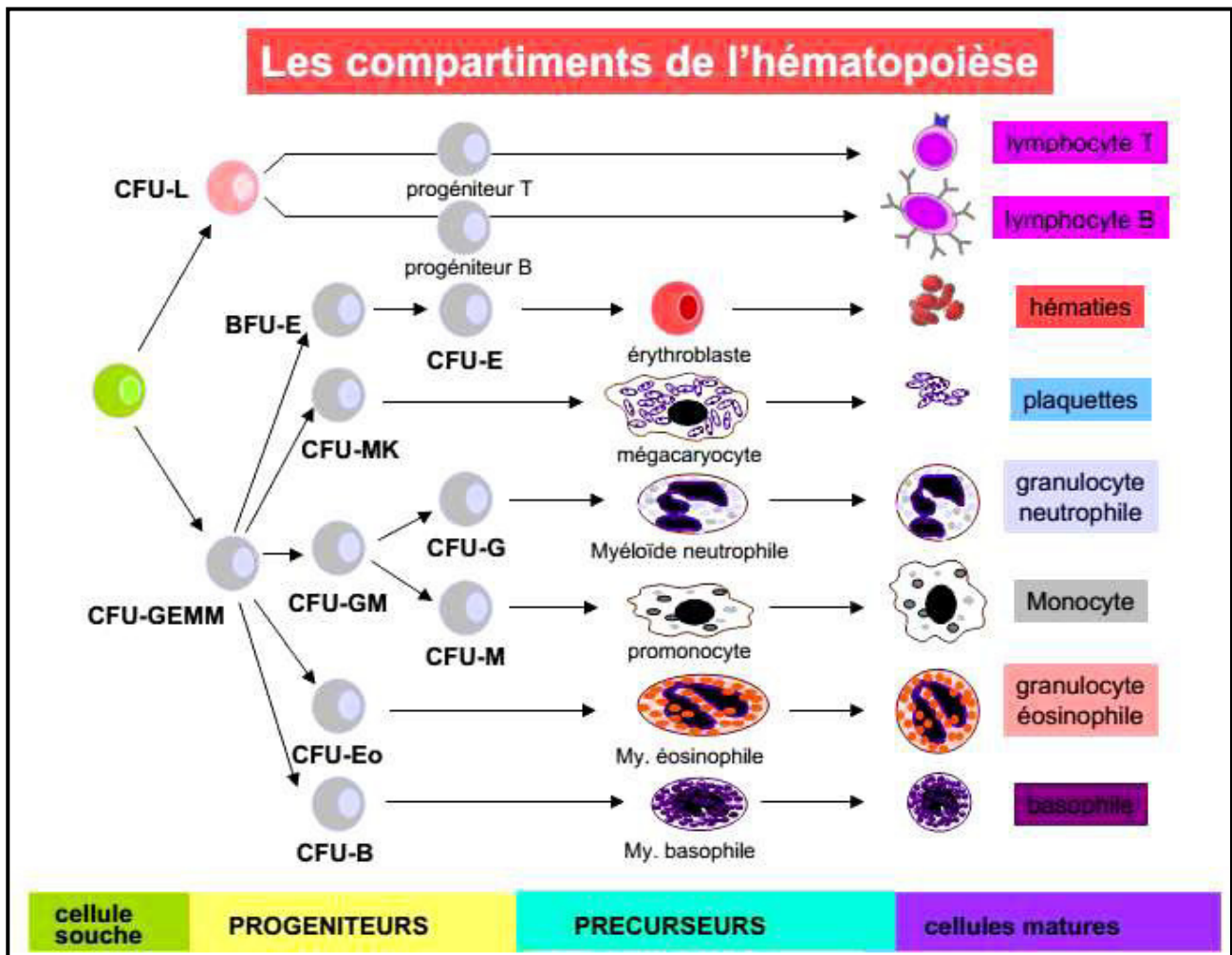


Figure 1 : Compartimentation de l'hématopoïèse (Zunic, 2016).

Quatre compartiments de l'hématopoïèse: cellules souches totipotentes, les progéniteurs, les précurseurs et les cellules matures.

1. Cellules Souches Hématopoïétiques (CSH) :

Ce sont des cellules à caractère totipotent ; pouvant se répliquer, proliférer, et se différencier pour donner naissance à des cellules progénitrices de plus en plus spécialisé afin de donner toutes les lignées hématopoïétiques (Atul *et al*, 2003), et maintenir l'hémostase hématopoïétique au cours de la vie de l'individu (Boyer, 2016). Elles se renouvellent constamment permettant ainsi la pérennité de l'activité médullaire, sans se différencier et donc maintenir et amplifier le pool de CSH. Elles ont aussi la capacité de reconstituer *in vivo* l'hématopoïèse myéloïde et lymphoïde après injection dans des souris immunodéficientes. La division asymétrique d'une CSH génère deux cellules filles au devenir différent, une CSH identique à la cellule mère et un progéniteur capable de se différencier, de proliférer, mais incapable d'auto-renouvellement (Boyer, 2016). Les CSH sont très rares dans l'organisme, et on estime leur nombre à environ 0,001% des cellules médullaires (Hirsch, 2016).

2. La niche hématopoïétique :

La niche hématopoïétique désigne un site anatomique contenant un ensemble de cellules souches. Schofield fut le premier à proposer le concept de niche hématopoïétique, la décrivant comme « un endroit spécifique qui permet de maintenir les capacités des CSH ». L'état de quiescence ou non dépend de signaux provenant du microenvironnement immédiat, constitué par les autres cellules de la niche ainsi que par des facteurs systémiques. Elle est constituée de cellules spécifiques sécrétant des molécules de surface interagissant avec les CSH, modulant leurs divisions asymétriques, leur quiescence et leur mobilisation. Deux types de niches ont été identifiés : la niche ostéoblastique et la niche vasculaire (Boyer, 2016 ; Ducassou, 2016).

- **La niche ostéoblastique** : les ostéoblastes semblent jouer un rôle essentiel dans l'hématopoïèse. Ces cellules produisent des facteurs ayant la capacité de réguler la quiescence et la persistance des CSH (Boyer, 2016).
- **La niche vasculaire** : joue un rôle dans la régulation de l'hématopoïèse en intégrant des signaux systémiques grâce à une vascularisation importante (Boyer, 2016).

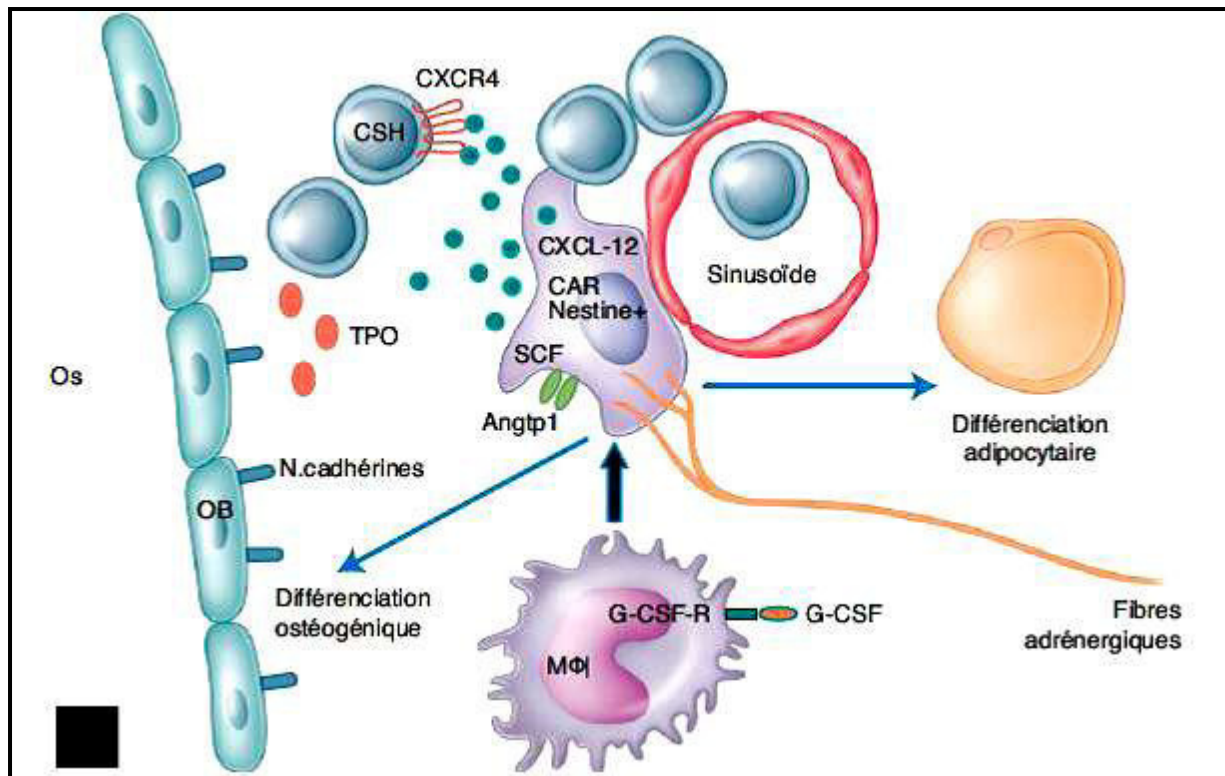


Figure 2 : Représentation de la niche hématopoïétique (Boyer, 2016).

(OB : ostéoblastes, MΦ : macrophage, CAR : cellule réticulaire, TPO : thrombopoïétine).

3. Ontogénèse :

Le processus hématopoïétique se met en place tôt durant la vie embryonnaire, afin de générer constamment des cellules hématopoïétiques nécessaires à l'homéostasie de ce système (De Saint-Vulfran, 2012). Au cours des deux premiers mois de gestation, l'hématopoïèse a lieu au niveau du sac vitellin qui forme l'hémangioblaste ; le précurseur de tout le système complexe de l'hématopoïèse. Il s'agit d'une cellule qui donnera à la fois les cellules sanguines et les cellules endothéliales mais aussi fabriquer l'hémoglobine fœtal. Ensuite à partir du 3^{ème} mois se sont le foie et la rate qui prennent le relais jusqu'à ce que la moelle osseuse prenne le relais à partir du 4^{ème} ou 5^{ème} mois. Après la naissance l'hématopoïèse se déroule exclusivement dans la moelle osseuse (Zunic, 2016). Grâce aux cellules souches hématopoïétiques le nombre et la qualité des cellules hématopoïétiques restent en perpétuel renouvellement chez l'adulte (De Saint-Vulfran, 2012)

III. Régulation de l'hématopoïèse normale :

Bien que le mécanisme d'auto-renouvellement reste encore aujourd'hui mal connu, il a été décrit un rôle des voies morphogènes *Wnt*, *Notch* et *Hedgehog* ainsi que des facteurs de transcription de la famille HOX (notamment HoxB4) (Boyer, 2016). Afin de garantir une

régulation hématopoïétique correcte, plusieurs éléments interviennent tels que les cytokines, les vitamines et des oligoéléments, Cependant, trois éléments importants jouent un rôle primordial :

1- Microenvironnement médullaires :

Le microenvironnement prend part à l'organisation générale de la moelle en « niche », donnant aux cellules souches les conditions anatomiques et intercellulaires nécessaires pour le bon déroulement de l'hématopoïèse. Le stroma médullaire permet les contacts intercellulaires et la sécrétion de facteurs de croissance (cytokines) (**Zunic, 2016**).

2- Facteurs de croissance hématopoïèse (CSF) :

Cytokines et CSF (Colony Stimulating Factor). Ce sont des glycoprotéines jouant le rôle d'hormones hématopoïétiques dont la sécrétion est endocrine (rein), paracrine (stroma médullaire) et parfois autocrine, assurant la régulation et la continuité du processus hématopoïétique (**Chaibi, 2011**). Il est possible de définir trois types de facteurs de croissance selon le lieu d'action au cours de l'hématopoïèse :

- **Les facteurs de promotion (synergiques) :** augmentent la survie et le nombre des cellules souches entrant en cycle cellulaires : IL1, IL6, IL11, IL7, SCF (Stem Cell Factor) et sensibilisent les cellules aux autres facteurs de croissance par induction de récepteurs membranaires.
- **Facteurs multipotents :** favorisent la différenciation, la multiplication et la survie des CSH et progéniteurs les plus immatures : IL3 et le GM-CSF (Granulocytes Monocytes) pour les progéniteurs myéloïdes ou IL7 pour les progéniteurs lymphoïdes.
- **Les facteurs restreints :** comme G-CSF(Granulocytes), M-CSF (Monocytes), l'erythroprotéine (hématies) ou IL5 (lignée éosinophile) et la thromboprotéine dont le rôle est de favoriser la multiplication, la maturation des précurseurs et la différenciation des progéniteurs les plus engagés dans une lignée particulière (**Boyer, 2016 ; Zunic, 2016**).

La fixation des facteurs de croissance ou des cytokines sur leurs récepteurs induit l'activation de diverses voies de signalisation intracellulaire comme la MAPK (Mitogen Activated Protein Kinases) qui vont agir sur le cycle cellulaire, la différenciation ou l'apoptose. Certains de ces facteurs de croissance (TGF- β , IFN- λ) inhibent l'hématopoïèse, dans des conditions pathologiques et/ou physiologiques (**Boyer, 2016**).

3- Facteurs de transcription :

Ils modulent l'hématopoïèse en termes d'auto-renouvellement, de différenciation, de prolifération, d'apoptose, de sénescence, de capacités de migration ou bien d'adhésion. L'expression des facteurs de transcription s'effectue à un stade de maturation particulier et son influence s'exerce sur une lignée spécifique. Par exemple :

- Le rôle de PU-1 dans la régulation des CSH est primordial pour la différenciation myéloïde, dans la mesure où les CSH PU-1^{-/-} présentent une altération de l'auto-renouvellement et de la différenciation initiale vers les progéniteurs les plus immatures.
- Le facteur de transcription CEBPA (CCAAT/ Enhancer Binding Protein Alpha), retrouvé inactivé dans environ 10% des LAM à caryotype normal, est aussi clairement impliqué dans la différenciation granulocytaire. Chez les souris, CEBPA^{-/-} existe un défaut de production de progéniteurs GMP (Granulocyte Macrophage Progenitor) ainsi que de granulocytes, du fait d'une absence de transition du CMP (Common Myeloïd Precursor) vers le GMP ainsi que d'une augmentation de cellules myéloïdes immatures et une augmentation du nombre de CSH actives (Boyer, 2016).

4- Vitamines et oligoéléments :

Certaines vitamines telles que la cobalamine (B12) et l'acide folique (B9) agissent sur l'ensemble des lignées cellulaires, en effet ces dernières sont nécessaires à la synthèse de l'ADN et donc à la division cellulaire. Un déficit de ces vitamines entrainera un blocage dans les différents compartiments de maturation et une augmentation du volume cellulaire (Zunic, 2016). Les oligoéléments sont nécessaires à la production de protéines spécifiques de lignées. Comme le fer, élément indispensable pour la formation de l'hémoglobine, en cas de carence en fer la cellule ne pourra pas avoir une concentration en hémoglobine nécessaire pour bloquer les divisions cellulaires, engendrant des divisions supplémentaires provoquant l'apparition de cellules plus petites (microcytose) (Zunic, 2016).

CHAPITRE III

CLASSIFICATION

DES LAM

I. Classification des leucémies aiguës :

I.1. Définition :

Le terme leucémie désigne plusieurs pathologies cancéreuses de la moelle osseuse, elle apparaît lorsque des cellules sanguines encore immatures deviennent cancéreuses et ne peuvent plus murir ou se spécialiser normalement (**Lanz, 2011**).

La leucémie aiguë est une affection maligne, caractérisée par une prolifération clonale de précurseurs hématopoïétiques anormalement différenciées et non fonctionnelles (**Döhner et al., 2015**). Habituellement, les cellules primitives envahissent la moelle, où les blastes hématopoïétiques forment >30% des cellules de la moelle osseuse, et s'accumulent dans le sang infiltrant les autres tissus et provoquent une insuffisance médullaire. Les leucémies aiguës touchent toutes les tranches d'âge. Elles constituent un groupe hétérogène d'hémopathies malignes, touchant soit la prolifération des lignées myéloïdes soit les lignées lymphoïdes. Les LAM touchent particulièrement les adultes, contrairement aux LAL qui affectent généralement les enfants (**Atul et al, 2003 ; Lanz, 2011**).

I.2. Classification des leucémies aiguës :

- **LAM** : sont un groupe d'hémopathies malignes clonales, hétérogènes, caractérisées par un blocage précoce de la différenciation, et la prolifération accrue ainsi que la survie de progéniteurs hématopoïétiques, appelés « blastes », de nature myéloïdes. Cette prolifération aboutit à une accumulation dans la moelle, le sang et éventuellement d'autres organes, inhibant ainsi l'hématopoïèse physiologique (**Boyer, 2016**).
- **LAL** : sont une forme d'affection médullaire, caractérisée par une multiplication clonale incontrôlée de lymphoblastes malins qui envahissent la moelle osseuse ainsi que les organes lymphoïdes, provoquant une insuffisance médullaire. On distingue les LAL de la lignée B de celles de la lignée T (**SFH, 2009 ; Ouafae, 2012**).

I.3. Classification des LAM :

I.3.1. Classification FAB :

Au cours des années 1970, un groupe constitué de chercheurs français, américains et britanniques a travaillé sur une méthode de classification des LAM en se basant sur des critères morphologiques et cytochimiques (myeloperoxydase, estérase), aboutissant à la première classification en 1976 qui sera révisée en 1985.

Cette classification reconnaissait initialement 7 sous-types de LAM : M1, M2, M3, M4 et M4Eo, M5 et M6 chaque stade correspondant à un blocage de maturation particulier. Plus tard furent ajoutés les types M0 et M7 (**Dos Santos, 2008 ; Boyer, 2016**) (**Annexe 1**).

I.3.2. Classification OMS :

En 2001, l'OMS a complété cette classification FAB en intégrant progressivement des données à valeurs pronostics établies, en combinant des caractéristiques cytogénétiques et cytochimiques, mais se base aussi sur des données cliniques et morphologiques. Les changements principaux concernent le seuil pour la définition de LAM, la création d'entités distinctes selon les anomalies génétiques retrouvées et la prise en compte des antécédents de traitement et/ou de l'existence d'une importante dysplasie (**Dos Santos, 2008 ; Piedfer, 2012**). L'OMS a complété la classification FAB en incluant des informations d'ordre cytogénétique et moléculaire permettant ainsi la définition de plusieurs entités de LAM ayant une signification pronostique distincte. Cette nouvelle classification abaissait également le seuil diagnostique de 30 à 20% de blastes médullaires. Une révision de cette classification a été proposée en 2008 afin d'y intégrer les nouveaux marqueurs moléculaires (**Boyer, 2016**) (**Annexe II**).

Dans la classification OMS 2016 plusieurs modifications ont été rapportées : trois catégories de la classification OMS 2001 sont reprises pour la formation du premier sous-groupe qui est constitué par les anomalies cytogénétiques récurrentes : $t(8;21)(q22;q22)$, $inv(16)(p13.1;q22)$ ou $t(16;16)(p13.1;q22)$ et les LAM avec $t(15;17)(q22;q12)$. Ce sous-groupe inclut également les LAM avec $t(9;11)$ (et exclusion de ce fait des autres LAM avec réarrangement du gène *MLL*), LAM $t(6;9)$, les LAM avec $inv(3)$ et celles avec $t(1;22)$. Les LAM avec mutation de *NPM1* et *CEBP α* sont classées à part entière dans ce sous-groupe par la classification de 2016. Cette dernière classification inclut deux nouvelles entités provisoires à savoir : les LAM avec fusion *BCR-ABL* et les LAM avec mutations de *RUNX1* (**Boyer, 2016**).

Le second sous-groupe considère les LAM avec anomalies de type myélodysplasie (LAM secondaires à un Syndrome Myélo-Dysplasique (SMD) ou un Syndrome Myélo-Prolifératif (SMP)/SMD, LAM avec des anomalies cytogénétiques caractéristiques des SMD, LAM avec dysplasie multilignées). La classification 2016 précise que les LAM avec anomalies de types myélodysplasie mais mutées *NPM1* ou *CEBP α* ne doivent pas être incluses dans cette catégorie en raison de leurs pronostics différents (**Boyer, 2016**). Le troisième sous-groupe regroupe les LAM secondaires à des traitements, notamment radiothérapie ou agents alkylants, inhibiteurs de la topoisomérase II (**Boyer, 2016**).

Le quatrième sous-groupe distingue les LAM sans spécificité particulières et représente environ un tiers de l'ensemble des LAM. Cette catégorie reprend la classification FAB en ayant ajouté les LAM avec différenciation basophiles et les LAM avec myélofibrose. Cette classification a apporté un changement concernant l'érythroleucémie qui a été retirée de cette catégorie pour être classée désormais parmi les SMD avec excès de blastes. Les cas avec >50% d'érythroblastes et >20% de myéloblastes présentent habituellement les critères pour être inclus dans la sous-catégorie des LAM avec anomalies de type myélodysplasie (**Boyer, 2016**). Les trois derniers sous-groupes concernent les sarcomes myéloïdes, les proliférations myéloïdes associées au syndrome de Down et les néoplasies à cellules dendritiques plasmocytoïdes (CD4+ et CD56+) (**Boyer, 2016**). Enfin, la classification OMS 2016 rajoute une catégorie, celle des hémopathies myéloïdes avec prédisposition génétique et dans laquelle des LAM peuvent être classées, à côté de SMD et SMD/SMP (**Boyer, 2016**) (**Annexe III**).

II. Épidémiologie :

Les leucémies aiguës myéloïdes sont des affections caractérisées par la présence de plus de 20% de blastes myéloïdes (cellules myéloïdes immatures) dans la moelle osseuse ou le sang. Les LAM représentent 80% des LA de l'adulte et 20% des LA de l'enfant. Il s'agit d'une pathologie rare d'incidence 3,9 cas pour 100.000 habitants chez les hommes 3,4 cas pour 100.000 habitants chez les femmes (**Boyer, 2016 ; Dannus, 2017**). D'après une analyse du registre américain des cancers, les LAM représentent environ 25% de toutes les leucémies de l'adulte, avec une incidence ajustée à l'âge de 3,9 /100 000 habitants/an sur la période de 2007 à 2012, ce qui représente moins de 3 % de la totalité des cancers (**Hirsch, 2016**).

En France, on dénombre 3000 nouveaux cas de LAM par an. L'incidence des LAM est de l'ordre de 3 pour 100 000 habitants par an (**Pedrono, 2014**). Dans d'autres pays industrialisés, tels que l'Allemagne on observe un taux de 5,2 cas/100 000 par an, et en Grande-Bretagne 4,5 cas de LAM par an (**Fiegl, 2016**). L'incidence de la LAM est plus élevée aux États-Unis, en Australie, et en Europe que chez La plupart des pays d'Afrique et d'Asie qui affichent des taux plus faibles (**Jemal et al., 2002**). Le pronostic de cette pathologie reste sombre et bien que l'on observe une amélioration du pronostic des LAM depuis 1980, une disparité persiste selon les âges puisqu'en effet cette amélioration du pronostic (principalement liée aux soins de support et aux antifongiques) a surtout concerné les patients jeunes (**Dannus, 2017**). *En Algérie* : environ 170 cas de LAM sont recensés chaque année, avec un sex-ratio de 1.08 et un âge médian de 39 ans. Le taux d'incidence globale est de 0,53, et croît avec l'âge. Le taux d'incidence est de 0,09 avant 20 ans, 0,9 entre 20 et 60 ans et de 1,9 à partir de 60 ans avec un pic de fréquence entre 20 et 30 ans (**Nacer et al., 2009**).

III. Étiologie :

Les LAM ont une forte incidence chez l'adulte et cette tendance augmente avec l'âge (**Dos Santos, 2008**). Cependant l'origine exacte des anomalies provoquant les LAM reste encore inconnue et moins comprise, en effet plusieurs facteurs à risques concourant au développement tumoral ont été identifiés, mais les patients présentant des cas de LAM ne sont pas forcément exposés à ces facteurs (**Fiegl, 2016**).

III.1. Facteurs exogènes :

III.1.1. Radiations ionisantes :

L'effet des radiations fut identifié depuis longtemps, surtout à cause de l'augmentation des cas de LAM et LAL chez les survivants des bombardements atomiques ainsi que chez des radiologistes ayant été exposés à de fortes doses de radiations, de nos jours les protocoles et les systèmes de protection utilisés diminuent fortement ces risques. Aujourd'hui il n'y a plus de corrélation entre l'incidence des cancers et le fait de travailler avec des radiations ionisantes. Les malades traités par radiothérapie ont un risque accru de LAM. Ces LAM induites par les traitements sont appelées LAM secondaires. Ces radiations provoquent des délétions ou translocations au sein du génome, de telle mutation induisent des cassures double brins de l'ADN des CSH et ce selon la dose d'exposition (**Fiegl, 2016**).

III.1.2. Exposition au benzène :

Le benzène a une action leucémogène connue depuis longtemps suite à l'observation de l'augmentation de la fréquence des leucémies aiguës. L'exposition au benzène a été associée à l'augmentation du risque de développer des LAM et des myélodysplasie d'une part, et l'apparition de nombreuses aberrations chromosomiques au niveau des lymphocytes du sang dans une autre part. La métabolisation du benzène par le cytochrome produit des molécules dangereuses pour l'organisme. En effet, ces métabolites sont capables d'induire des altérations au niveau de l'ADN soit par leur interactions directe par formation d'adduit avec l'ADN ou bien indirecte par l'intermédiaire de la topoisomérase II. Certains chercheurs suggèrent que le tabagisme pourrait être un facteur de risque au vu de l'exposition au benzène qu'il entraîne. Cependant, il y a une certaine dépendance de dose ; une exposition à de faible dose augmente le risque de myélodysplasie que de LAM mais il n'y a pas de dose précise pour développer telle ou telle maladie (**Piedfer, 2012 ; Fiegl, 2016**).

III.1.3. Chimiothérapie (cas des patients ayant souffert d'une tumeur solide) :

Les leucémies aiguës secondaires peuvent également être le résultat de complications tardives de chimiothérapies. Ces leucémies sont causées par les événements mutationnelles induits. Environ 10% des patients initialement traités pour des tumeurs solides par chimiothérapie développent des LAM secondaire (**Dos Santos, 2008 ; Piedfer, 2012**). Selon le type de traitement administré on distingue deux types de LAM induites de façon secondaires par les chimiothérapies :

- **Le premier type** : survenant 5 à 7 ans chez les patients traités par des agents alkylants (melphalan, cyclophosphamide) ou ayant subi des séances de radiothérapie. Ces leucémies secondaires concernent des précurseurs hématopoïétiques précoces et sont souvent associées avec des aberrations des chromosomes 5 et /ou 7, généralement précédés par un syndrome myélodysplasique pré-leucémique (**Dos Santos, 2008 ; Piedfer, 2012**).
- **Le deuxième type** : des leucémies survenant 2 à 3 ans après traitement aux agents inhibant la topoisomérase II. Elles sont généralement associées avec des anomalies du bras long du chromosome 11 (à la localisation du gène *MLL*, anomalie retrouvée aussi dans les LAM *de novo*) et ne sont généralement pas précédées d'un syndrome myélodysplasique (**Dos Santos, 2008 ; Piedfer, 2012**).

Dans les deux cas, les anomalies retrouvées sont identiques à celles des LAM *de novo* mais la fréquence des anomalies défavorables est considérablement plus élevée dans les LAM secondaires, ce qui explique le taux inférieur de rétablissement dans ces cas (**Piedfer, 2012**).

III.1.4. Hygiène de vie :

Il a été démontré que l'obésité ainsi que le tabagisme augmentent le risque de LA. La consommation parentale d'alcool pourrait aussi provoquer des LA chez l'enfant (**Fiegl, 2016**).

III.2. Facteurs prédisposant :

III.2.1. L'âge :

Épidémiologiquement, les LAM sont essentiellement une pathologie du sujet âgé. Ceci peut être expliqué par une majoration de l'instabilité génétique avec l'âge et le raccourcissement télomérique des chromosomes majorant les erreurs de réplifications (**Boyer, 2016**). Une des explications est qu'une partie des LAM des personnes âgées sont des LAM secondaires à des traitements chimio-thérapeutiques mais dans les autres cas l'étiologie de ces LAM reste incomprise (**Piedfer, 2012**).

III.2.2. Maladies génétiques :

Il existe plusieurs désordres génétiques congénitaux à manifestations systémiques importantes qui sont associés au développement d'une LAM. Certaines maladies génétiques sont associées à un risque élevé de développer une LAM chez l'enfant, c'est le cas de la trisomie 21, du syndrome de Bloom, l'anémie de Fanconi et de la neurofibromatose. Ces maladies sont dues à des défauts dans la réparation de l'ADN, un nombre anormal de chromosomes ou encore des translocations chromosomiques. Les enfants atteints de trisomie 21 ont un risque 10 à 20 fois plus élevé de développer une LAL ou une LAM que des enfants non atteints. Environ la moitié des leucémies développées sont des leucémies aiguës mégacaryoblastiques (LAM7 classification FAB) (**Piedfer, 2012 ; Boyer, 2016**). Les syndromes dysfonctionnels héréditaires de la moelle ont aussi une part dans la prédisposition aux LAM telles que l'anémie de Fanconi, le syndrome Shwachman-Diamond, neutropénies congénitales. Syndromes de cassure chromosomique : ataxie-télangiectasie, syndrome de Bloom. Des formes rares de LAM familiales existent aussi, au sein desquelles certains gènes sont affectés et où les familles présentent des anomalies hématopoïétiques mineures ou non prioritaires. Dans certains cas précédemment mentionnés, des gènes affectés ont été liés à des cas de LAM *de novo* (*CEBPA*, *TERT* et *RUNX1*) (**Fiegl, 2016**).

III.2.3. Maladies pré-leucémiques :

Certaines hémopathies peuvent évoluer vers une LAM. C'est le cas des syndromes myéloprolifératifs telle que la LMC dans l'acutisation et l'évolution inéluctable en dehors de traitement, alors que d'autres syndromes myéloprolifératifs (splénomégalie myéloïde, thrombocytémie essentielle ou la maladie de Vaquez) évoluent rarement en LAM. Les syndromes myélodysplasiques, les Anémies Réfractrices avec Excès de Blastes (AREB) ou les Leucémies Myélo-Monocytaires Chroniques (LMMC) quant à eux se transforment fréquemment en LAM. Ces syndromes sont caractérisés par des anomalies de la CSH qui entraînent des dysplasies dans une ou plusieurs lignées myéloïdes. Les différences avec les LAM sont le taux de blastes dans la moelle osseuse (<20%) et une apoptose accrue qui explique l'impossibilité de maturation des cellules (**Dos Santos, 2008 ; Piedfer, 2012**).

III.2.4. Cas de l'auto-immunité :

Des patients atteints de maladies auto-immunes comme la polyarthrite rhumatoïde, et recevant des immunosuppresseurs présentent un risque augmenté de développer une LAM ou un SMD (**Fiegl, 2016**).

CHAPITRE IV

SYMPTOMATOLOGIE CLINIQUE ET BIOLOGIQUE

I. Symptomatologie des LAM :

I.1. Symptomatologie clinique :

Les signes cliniques au diagnostic des LAM sont multiples et non spécifiques résultant de deux conséquences : signes cliniques en rapport avec l'envahissement tumoral et signes cliniques en rapport avec l'insuffisance médullaire par les blastes leucémiques. En effet, au niveau de ces blastes il existe des anomalies génétiques qui rendent la maturation des blastes impossible et leur prolifération augmentée. Cette accumulation entraîne une inhibition de la différenciation des progéniteurs sains par un encombrement physique de l'espace médullaire et la production de nombreuses cytokines inhibitrices. Ceci se traduit par une insuffisance médullaire entraînant une anémie, une neutropénie et une thrombopénie avec comme conséquences cliniques une grande fatigue, des infections et des hémorragies. D'autres symptômes peuvent être attribués à l'infiltration par les blastes du foie, de la rate, de la peau, des ganglions, des os, des gencives et du système nerveux central (**Piedfer, 2012 ; Boyer, 2016**).

a- Syndrome d'insuffisance médullaire :

- Syndrome anémique (pâleur, tachycardie),
- Syndrome infectieux (fièvre isolée ou associée à un point d'appel clinique),
- Syndrome hémorragique des gencives, des muqueuses ou des tissus sous-cutanés (purpura) hémorragie viscérale (hématurie, hématome cérébral, hémorragie rétinienne), thrombopénie ces troubles sont soit spontanés, soit déclenchés par des traumatismes minimes (**Dos Santos, 2008 ; Fournel, 2015**).

b- Envahissement tumorale :

Une hépato-splénomégalie peut être présente, en lien avec une hypertrophie des organes hématopoïétiques. En revanche, les adénopathies sont rarement présentes dans les LAM. Certaines localisations, plus particulières, sont également observées d'emblée ou au cours de l'évolution, comme les atteintes cutanées et neuro-méningées (**Boyer, 2016**).

- Hypertrophie des organes hématopoïétiques (hépatomégalie, splénomégalie, adénopathie)
- Atteintes méningées responsables de céphalées, de paralysies des nerfs périphériques.
- Atteintes cutanées sous forme de leucémides (LA monoblastiques).
- Syndrome de leucostase (hyperviscosité) associé à des troubles pulmonaires et neurologiques (convulsions, céphalées). Plus rarement des tumeurs extra médullaires.
- Tuméfaction testiculaire (**Dos Santos, 2008 ; Fournel, 2015**).

I.2. Symptomatologie biologique :

I.2.1. Hémogramme :

Constamment anormal il constitue un examen majeur dans l'orientation du diagnostic. L'anémie est quasiment constante, rencontrée dans 90% des cas, d'installation en général rapide. Classiquement, cette anémie est normochrome, normocytaire, arégénérative. La thrombopénie est également fréquente, avec une sévérité variable (un chiffre $< 10 \times 10^9/l$ est associé à un risque majoré d'hémorragies spontanées). Enfin, la leucocytose est quant à elle d'intensité variable, allant de la leucopénie ($< 4 \times 10^9/l$) à l'hyperleucocytose majeure ($> 100 \times 10^9/l$). L'examen du frottis sanguin après coloration au MGG (May Grünwald Giemsa) retrouve dans la grande majorité des cas, des cellules blastiques (**Boyer, 2016**).

I.2.2 Examens cytologique :

En dépit de la présence de blastes circulants, une analyse cytologique des frottis de moelle osseuse demeure l'examen clé du diagnostic. Le myélogramme permet de réaliser un diagnostic de certitude et de classer la LAM d'un point de vue morphologique.

- a- **Myélogramme** : une aspiration médullaire doit être impérativement réalisée en cas de suspicion de LAM (envahissement médullaire par plus de 20% de blastes) réalisée par ponction sternale ou iliaque (**Dos Santos, 2008 ; Boyer, 2016**). Néanmoins, il existe trois situations où le diagnostic de LAM peut être posé indépendamment du pourcentage de blastes, en présence des anomalies cytogénétiques suivantes : translocation $t(15;17)(q22;q12)$, $t(8;21)(q22;q22)$ et inversion $inv(16)(p13.1q22)$ ou $t(16;16)(p13.1;q22)$ (**Boyer, 2016**).
- b- **Étude morphologique et cytochimique** : l'étude cytochimique réalisée après coloration des frottis au MGG et la réaction de la myeloperoxydase (MPO) positive dans plus de 3% des blastes, combinée à l'étude morphologique permet de classer la LAM parmi l'une des 8 catégories (M0 à M7) de la classification FAB. Classiquement, les blastes myéloïdes présentent un rapport nucléo-cytoplasmique élevé, une chromatine fine (avec ou sans nucléole), un cytoplasme basophile contenant des granulations azurophiles voire un ou plusieurs corps d'Auer. La MPO se révèle cependant négative dans les LAM0, LAM5 (étude complémentaire des estérases non spécifiques (NASDA : Naphtol-ASD-Acétate) en cytochimie) et LAM7 pour lesquelles un immunophénotypage est indispensable. La présence de corps d'Auer observé dans les blastes circulants constitue une orientation essentielle pour le diagnostic de LAM (**Raidelet, 2011 ; Boyer, 2016**).

- c- Immunophénotypage :** l'immunophénotypage par cytométrie en flux multiparamétrique est la technique de référence pour l'identification de la nature myéloïde ou lymphoïde de la prolifération blastique. Les antigènes d'intérêt, membranaires ou intra-cytoplasmiques, ciblés par des anticorps monoclonaux fluorescents, permettent de distinguer les LAM indifférenciées en cytologie des LAL par cette technique. Le diagnostic de certitude des LA monocytaires (LAM5), érythroblastiques (LAM6) et mégacaryocytaires (M7) est également posé en CMF (Boyer, 2016). Cette technique est utilisée pour diagnostiquer les LAM avec différenciation minimale, des LAM mégacaryocytaires et des leucémies aiguës avec ambiguïté de lignées. Les LAM avec différenciation minimale expriment dans la plupart des cas des antigènes associés à l'hématopoïèse précoce tels que CD34, CD38 et HLA-DR. Les LAM mégacaryocytaires expriment des glycoprotéines plaquettaires telles que CD41 et/ou CD61 (Piedfer, 2012). L'Immunophénotypage est également indispensable au diagnostic de formes particulières de leucémies, appelées leucémies biphénotypiques, caractérisées par l'expression concomitante de marqueurs myéloïdes et lymphoïdes, ou encore les LA bi-linéales, caractérisées par la présence simultanée de 2 populations blastiques myéloïde et lymphoïde. Les classifications OMS de 2008 et 2016 regroupent ces deux entités sous l'appellation « Leucémie aiguë avec ambiguïté de lignée », Les leucémies aiguës avec ambiguïté de lignées ne montrent pas de différenciation dans une lignée ou expriment des marqueurs spécifiques de plusieurs lignées (Piedfer, 2012 ; Boyer, 2016).
- d- Examen cytogénétique de la moelle :** l'analyse cytogénétique est aujourd'hui une pratique inhérente au diagnostic des LAM. Les anomalies cytogénétiques dans les LAM sont acquises, non aléatoires et récurrentes. Elles peuvent être spécifiques (t(15;17)(q22;q12) dans les LAM3) ou préférentiellement associées à un type de LAM (t(8;21)(q22;q22) dans les LAM2). Actuellement, le caryotype médullaire est l'examen pronostique de choix, et son impact sur les décisions thérapeutiques est déterminant (Piedfer, 2012 ; Boyer, 2016). La définition du caractère clonal d'une anomalie cytogénétique repose sur la présence d'au moins deux mitoses possédant le même gain chromosomique ou la même anomalie de structure, et la présence d'au moins trois mitoses présentant la même perte de matériel chromosomique. En théorie, cette analyse s'effectue sur 20 mitoses afin d'être interprétable, même s'il est admis que 15 mitoses peuvent être suffisantes en cas d'anomalie clonale (Boyer, 2016). L'analyse cytogénétique par FISH (Fluorescence *In Situ* Hybridization) est une option pour confirmer ou non la présence de réarrangements, de gains ou de pertes chromosomiques, ainsi que des remaniements de gènes précis comme *MLL* (Boyer, 2016).

- e- **Étude en biologie moléculaire** : l'étude moléculaire des acides nucléiques blastiques (ARN et ADN) est aujourd'hui un examen diagnostique de première intention en raison du caractère décisionnel de certaines altérations moléculaires. La recherche de mutation d'oncogènes (*FLT3*, *NPM1*) ou de facteurs transcriptionnels (*CEBP α* , *WT1*) qui ont une valeur pronostic importante ainsi que la recherche de transcrits de fusion (*PML-RAR α* ou *RUNX1-RUNX1T1*) produits par la translocation chromosomiques récurrentes permettent d'évaluer la maladie résiduelle. Actuellement, dans le cadre des LAM à caryotype normal, la recherche des mutations de *NPM1*, *CEBP α* et *FLT3-ITD* doit être effectuée en raison de leur caractère décisionnel pour la prise en charge thérapeutique du patient (**Dos Santos, 2008 ; Boyer, 2016**). Les patients présentant des caryotypes normaux ont des anomalies au niveau des gènes, et différentes techniques moléculaires peuvent être utilisées pour les détecter. La FISH permet de détecter des arrangements géniques qui ne sont pas détectables par l'analyse cytogénétique. Les techniques de PCR (Polymerase Chain Reaction) permettent de détecter les mutations ponctuelles retrouvées dans les LAM notamment *NPM1* et *CEBP α* et les mutations *FLT3*. Ces mutations ne sont pas répertoriées dans la classification de l'OMS mais leur détection est recommandée vu de leur valeur pronostique (**Piedfer, 2012**).
- f- **Étude histologique** : par Biopsie Ostéo Médullaire (BOM) dans le cas où l'os est trop difficile ou alors la moelle est inaspirable (LAM7) notamment en raison d'une myélofibrose (**Dos Santos, 2008**).

II. Prise en charge des LAM :

II.1.1 Chimiothérapie :

Depuis 30 ans, le traitement des LAM a généralement consisté en une combinaison d'une anthracycline, telle que daunorubicine ou idarubicine et de la cytarabine. Le traitement par polychimiothérapie d'une personne atteinte d'une LAM comprend deux phases : phase d'induction de la rémission suivie de la phase de consolidation de la rémission. Le traitement administré variera d'une personne à une autre, principalement selon l'âge du patient (âgés de moins de 60 ans et plus de 60 ans) (**Piedfer, 2012**).

- a- **Phase d'induction** : qui a pour but la rémission complète de la maladie (environ 75% à 80%), et est définie par moins de 5% de blastes dans la moelle osseuse avec un retour des fonctions normales de celle-ci, et ainsi la disparition des blastes médullaire (45%) avec normalisation de l'hémogramme et éventuellement du syndrome tumoral initial.

Ce traitement repose toujours sur l'association d'une anthracycline et de la cytosine arabinoside (Ara C). Il est à signaler qu'après une cure de chimiothérapie le patient est en aplasie, qui a pour conséquence une incapacité transitoire de renouveler et régénérer les cellules de son sang et de son système immunitaire (**Dos Santos, 2008**). Il est maintenant connu que dans de nombreux cas cette phase d'induction seule ne suffit pas et que de nombreux patients rechutent (environ 50 à 70%) (**Dos Santos, 2008 ; Piedfer, 2012**).

b- Phase de consolidation : la consolidation de la rémission complète repose sur une chimiothérapie intensive suivie ou non d'une greffe allogénique ou autologue de moelle osseuse. Elle vise à réduire le risque de rechute de 50%. Aujourd'hui, il est possible d'espérer la guérison d'environ 40% des patients dans le cas de patients jeunes (**Piedfer, 2012**). Malheureusement, les espoirs de guérison sont moindres chez les patients plus âgés (plus de 60 ans) : approximativement 40% à 65% atteignent la rémission complète mais 85% rechutent dans les 2 ou 3 ans (**Dos Santos, 2008 ; Piedfer, 2012**).

c- Phase d'intensification : ce type de traitement est proposé et adapté en fonction du risque de rechute de la leucémie et est variable d'un sujet à un autre en vue d'obtenir une rémission prolongée de la guérison. Il repose soit sur plusieurs cures de chimiothérapie proche ou identique à celle administrée durant la consolidation, soit une greffe de CSH (**société française d'hématologie, 2009**).

- **Patients jeunes (moins de 60ans) :**

Le traitement d'induction consiste en 3 jours d'anthracycline (daunorubicine, ou anthracenedione), et 7 jours de cytosine arabinoside (nommée également cytarabine), permettant ainsi l'obtention d'une RC chez 60 à 80% des patients les plus jeunes et 40 à 60% des patients les plus âgés. Des doses plus importantes de cytarabine peuvent être pratiquées avec un espoir de phases de rémission plus longues mais la survie globale n'étant pas modifiée, ces hautes doses ne sont pas recommandées formellement en induction. L'utilisation de fortes doses de daunorubicine a permis une augmentation significative du taux de RC et de la survie globale, sans augmentation de la toxicité chez les patients âgés de moins de 50 ans. Le traitement d'induction de la LAM3 comporte classiquement une anthracycline et de l'acide tout-trans-rétinoïque (ATRA 45 mg/m²/j). Récemment, des équipes allemandes et italiennes ont rapporté une survie supérieure avec l'association ATRA-trioxyde d'arsenic (en terme de survie) par rapport à l'association classique anthracycline-ATRA chez les patients de faible risque (**Piedfer, 2012 ; Boyer, 2016**). Pour la phase de consolidation, plusieurs types de stratégies peuvent être appliqués : soit plusieurs cycles de

chimiothérapie intensive soit une thérapie à hautes doses suivie d'allogreffe ou d'autogreffe de cellules souches hématopoïétiques (**Piedfer, 2012**).

- **Chimiothérapies intensives** : il s'agit généralement de hautes doses de cytarabine. Le nombre de cycles de traitement, la dose appropriée, le calendrier d'administration ainsi que l'intérêt de combinaison entre plusieurs agents restent des questions en suspens (**Piedfer, 2012**).

- **Greffe de cellules souches hématopoïétiques**: plusieurs essais cliniques ont évalué le bénéfice d'une allogreffe de cellules souches et si cette stratégie a un meilleur effet anti-leucémique que la chimiothérapie. Cette stratégie fait partie des traitements standardisés depuis plus de 25ans cependant elle n'augmente pas la survie globale des patients et reste en débat en raison de risque de réaction du greffon contre l'hôte (**Piedfer, 2012**).

- **Les patients âgés (plus de 60 ans) :**

Les patients âgés répondent moins bien aux traitements que les patients plus jeunes. Cela est dû à la fois à une faiblesse organique accrue et à la spécificité de la biologie des LAM qui les concernent (voir étiologie). IL existe différentes études qui divergent sur les résultats positifs des chimiothérapies à haute doses, certaines montrant la dangerosité d'une dose élevée corrélée à certaine voie de signalisation (RAS, TNF), alors que d'autre études laissent penser que le bénéfice de traitements à hautes doses est réel (**Piedfer, 2012**). La chimiothérapie d'induction est similaire à celle du sujet jeune, si un risque prévisible de toxicité majeure n'est pas évident (3 jours d'anthracycline combinés à 7 jours de cytarabine). Concernant le traitement de consolidation, il n'existe pas de recommandation claire dans la littérature. Néanmoins, les LAM du sujet âgé avec mutations de NPM1 semblent bénéficier d'une chimiothérapie intensive (**Boyer, 2016**).

II.1.2. Thérapie ciblée :

L'avenir du traitement des LAM repose sur la capacité à traiter spécifiquement les patients en fonction du panel de mutations identifiées, par des thérapies dites ciblées. Cependant, les multiples anomalies génétiques ou épigénétiques qui caractérisent les LAM rend le ciblage d'une seule altération risque d'être insuffisant pour éradiquer le clone leucémique. L'association de plusieurs thérapies ciblées ou avec la chimiothérapie conventionnelle semble indispensable. Parmi les nouvelles thérapeutiques en évaluation des essais cliniques de phase III sont réalisés, ils concernent les inhibiteurs de FLT3, les agents déméthylants et un anticorps anti-CD33 (**Pourcelot, 2016**).

- Thérapies ciblées dirigées contre des voies de signalisation comme par exemple les inhibiteurs de FLT3.
- Traitement contre une cible préférentiellement exprimée par les LAM, permettant le traitement de cellules exprimant l'antigène CD33.
- Traitements stimulant la réponse immunitaire anti-tumorale, comme les anticorps bispécifiques dirigés contre le CD33 ou les lymphocytes T (**Sujobert, 2014**).

III. Facteurs pronostiques des LAM :

Le pronostic des LAM est influencé à la fois par des facteurs liés au patient et des facteurs liés à la pathologie elle-même (**Boyer, 2016**) (**Annexe IV**).

III.1. L'âge :

L'âge est à l'heure actuelle un facteur à impact important pour le pronostic de LAM, son influence est évidente à partir de 50 ans ainsi que pour les patients âgés de moins de 30 ans. Plusieurs facteurs contribuent à ce mauvais pronostic chez les patients âgés : des co-morbidités et des contre-indications à une chimiothérapie intensive plus fréquentes, un état général souvent altéré (caractérisé par un statut de performance de l'OMS plus élevé), une plus grande incidence de LAM secondaires (SMD) ainsi qu'une fréquence élevée d'anomalies cytogénétiques défavorables au détriment d'anomalies favorables. Cependant, les patients âgés de plus de 65 ans conservent un mauvais pronostic, même après un traitement intensif, du fait d'une résistance accrue au agent cytotoxiques avec notamment une plus grande fréquence de LAM secondaire et ce indépendamment du risque cytogénétique (**Dos Santos, 2008 ; Boyer, 2016**).

III.2. Paramètres biologiques :

Une hyperleucocytose au diagnostic, ainsi qu'un taux de LDH (Lactate DesHydrogenase) élevé, sont associés à un mauvais pronostic. Néanmoins, il n'existe pas de consensus concernant les seuils significatifs de ces paramètres. Les taux d'hémoglobine, de plaquettes, ou de fibrinogène, ont également démontré une influence sur le pronostic des LAM (**Boyer, 2016**).

III.3. Impact de la cytogénétique :

Exception faite des LAM 3 qui ont de très bons pronostics, les anomalies chromosomiques récurrentes permettent une classification des LAM en trois sous-groupes de pronostic (**Dos Santos, 2008**).

CHAPITRE V

GÉNÉTIQUE DES LAM

I. Cancérogénèse des LAM :

I.1. La cellule souche leucémique :

Les travaux de *D. Bonnet* et *J.E. Dick* en 1997 ont montré que les cellules leucémiques dans les LAM sont organisées en hiérarchie à partir d'une Cellule Souche Leucémique (CSL) CD34+ CD38- et ainsi leur développement est semblable à l'hématopoïèse normale. Ces CSL ont toutes les caractéristiques des cellules souches normales : peu nombreuses, capables d'auto-renouveaulement infini, sont quiescentes la plupart du temps et transmettent leurs caractéristiques, notamment leur caractère malin, lorsqu'elles sont implantées dans des souris immunodéficientes. Leur faible sensibilité aux traitements est responsable du maintien de la tumeur et des risques de rechute après traitement. Le développement de ces capacités se fait soit par acquisition de caractéristiques tumorales dans une cellule souche hématopoïétique normale soit par l'acquisition des caractères de cellule souche (auto-renouveaulement) dans une cellule entrée dans un processus de cancérisation. L'acquisition du caractère malin se fait après accumulation de plusieurs mutations, qui est favorisée par leur longue durée de vie. Néanmoins, des expériences montrent que des progéniteurs plus avancés dans la différenciation peuvent retrouver leurs caractéristiques de cellules souches leucémiques lorsqu'ils sont transformés par les gènes de fusion *MLL-ELL* ou *MLL-GAS7*. D'autres transformations sont capables de redonner la capacité d'auto-renouveaulement aux CSH mais pas aux progéniteurs plus engagés (*Piedfer, 2012*).

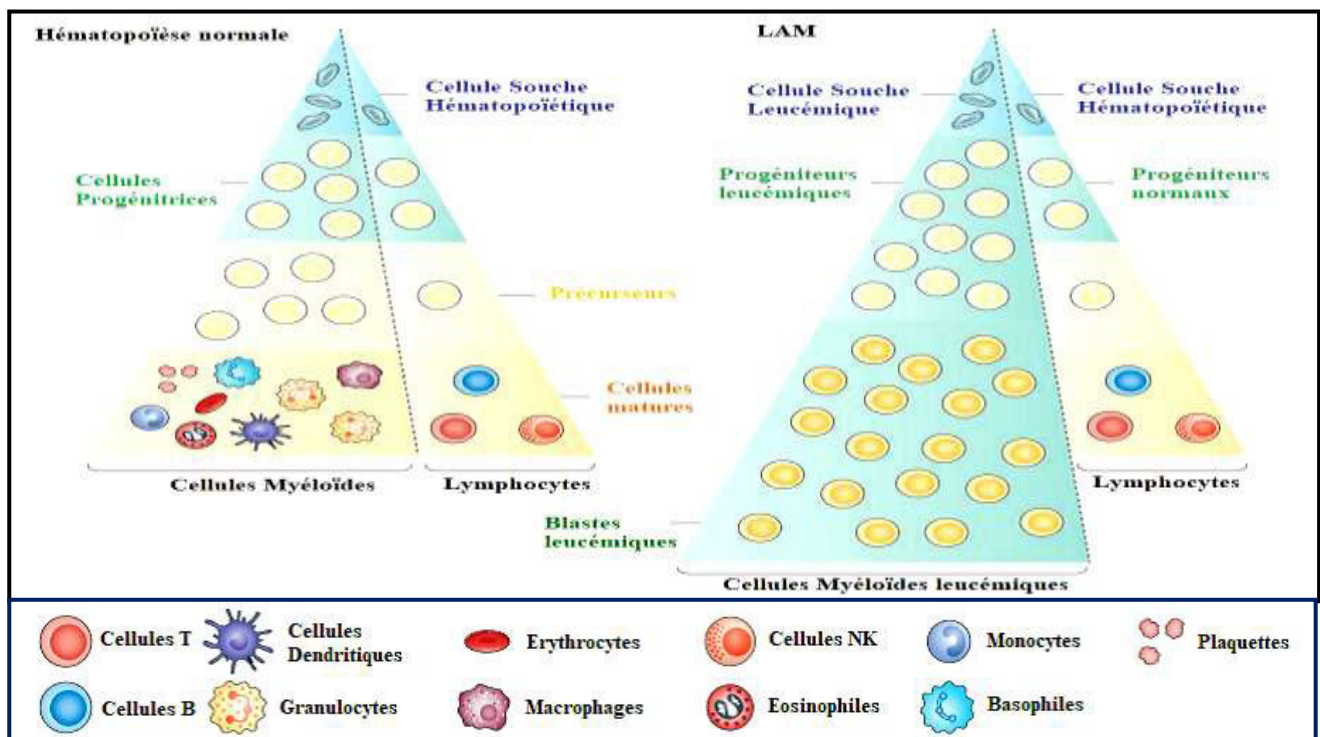


Figure 3 : Comparaison entre hématopoïèse normale et leucémique (*Picot, 2017*) (Annexe VI).

La nature de la cellule subissant les étapes précoces de l'oncogénèse reste encore inconnue. Puisqu'il existe de nombreuses similarités entre les CSH et les CSL, 3 scénarios sont avancés dans la littérature pour expliquer le processus de leucémogénèse (Dos Santos, 2008). La CSH est la cible de l'événement oncogénique pour deux raisons fondamentales :

- Premièrement, la machinerie d'auto-renouveau étant naturellement activée chez les CSH, il est donc plus simple de maintenir cette capacité plutôt que de l'activer de manière ectopique.
- Deuxièmement, le fait que les cellules souches persistent tout au long de la vie de l'individu augmente la probabilité d'accumulation de mutations supplémentaires, favorisant le passage d'un état pré LSC vers un état CSL (Dos Santos, 2008).

La mutation initiale survient dans la CSH, conduisant à une différenciation vers un état progéniteur myéloïde pré leucémique qui subira des mutations secondaires pour aboutir à la genèse d'une CSL. Les progéniteurs plus matures subissent une mutation initiale (acquisition du potentiel d'auto-renouveau) suivies d'anomalies secondaires conduisant à la CSL (Dos Santos, 2008).

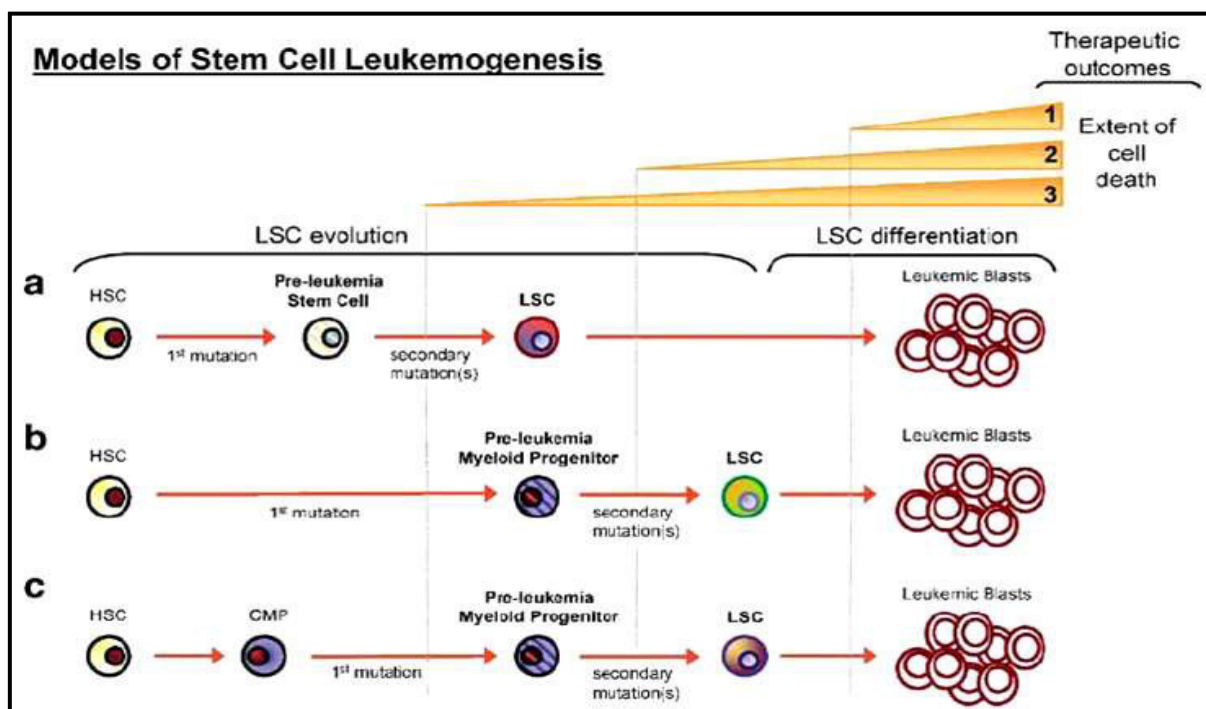


Figure 4 : Modèles de leucémogénèse (Dos Santos, 2008).

La figure représente les 3 scénarios possibles de l'évolution de la LAM : a) La CSH normale est la cible de l'événement oncogénique, conduisant ainsi à une cellule préleucémique qui évolue définitivement en CSL suite à l'acquisition de mutations secondaires. b) La CSH normale est la cible de l'événement oncogénique, ce qui conduit à la différenciation vers un état progéniteur myéloïde préleucémique qui évolue définitivement en CSL suite à l'acquisition de mutations secondaires. c) Le progéniteur myéloïde commun CMP plus mature subit l'événement mutationnel initial, c'est-à-dire l'auto-renouveau, puis la survenue d'anomalies secondaires conduit à la naissance d'une CSL.

I.2. La niche tumorale :

Les cellules souches sont abritées dans des zones particulières de la moelle osseuse : les niches ostéoblastique et vasculaire. Le maintien du nombre de cellules hématopoïétiques et leur développement sont régulés par les cellules stromales de la moelle osseuse à travers la production de cytokines, de chimiokines et de signaux intracellulaires via des adhérences cellule-cellule. L'hématopoïèse normale est dérégulée par la croissance des cellules leucémiques qui créent un microenvironnement tumoral détournant les signalisations normales qui habituellement maintiennent les CSH dans les niches (**Piedfer, 2012**).

L'adhérence des CSH au microenvironnement de la moelle osseuse se fait par l'interaction de CXCL12 (SDF1 : Stromal cell Derived Factor-1 alpha) et son récepteur CXCR4 (C-X-C chemokine Receptor type4). Mais la forte expression de CXCR4 dans les cellules souches leucémiques chez les patients atteints de LAM maintient ces cellules tumorales dans la moelle osseuse. L'action des intégrines est aussi essentielle pour l'interaction des cellules souches leucémiques dans la niche et sont décisives pour le maintien d'une maladie résiduelle. L'antigène CD44 possède aussi un rôle important dans le maintien des cellules souches leucémiques dans un stade primitif et ce en entraînant l'activation de nombreuses voies de transduction. La capacité d'auto-renouveau des cellules souches leucémiques est une caractéristique retrouvée chez tous les types de leucémies, et en plus des mutations requises s'ajoute un nombre important de translocations chromosomiques et de mutations ponctuelles dans les cellules myéloïdes qui entraînent des avantages prolifératifs, de survie et d'inhibition de la différenciation (**Piedfer, 2012**).

II-. Altérations géniques rencontrées dans les LAM:

L'accumulation de plusieurs mutations (mutations ponctuelles, réarrangements de gènes et/ou translocations chromosomiques) entraînent l'apparition de cancers et les LAM n'échappent pas à cette logique. Ceci a été prouvé par des modèles animaux ; par exemple, l'expression de *PML-RAR α* associé à la translocation t(15;17) chez des souris transgéniques montre la nécessité d'un long temps de latence avant de développer une leucémie et une pénétrance incomplète (15 à 30%)(**Piedfer, 2012**). Cela implique que l'apparition d'une autre mutation est nécessaire pour le développement d'une leucémie (**Piedfer, 2012**). *Gilliland* et ses collègues ont proposé en 2001 que le processus de leucémogénèse se fasse en plusieurs étapes par accumulation de mutations de type 1, qui stimulent les voies de transduction du signal et induisent la prolifération cellulaire, et de type 2 qui affectent le plus souvent des facteurs de transcription et bloquent le processus de différenciation des cellules myéloïdes (**Piedfer, 2012 ; Pedrono, 2014**).

Ces deux types de mutations forment des groupes de complémentation et il est rare de trouver deux mutations du même groupe dans une LAM (cas à part pour la LAM1 (*RUNX1*) et *MLL* qui appartiennent au même groupe de complémentation mais dont la cooccurrence est observée). Environ 55% des patients présentent des anomalies au niveau chromosomique et 45% ont un caryotype normal mais une très grande variabilité de mutations au niveau génomique (**Piedfer, 2012**).

II.1. Mutations des gènes de type I, de type II et de type III (Annexe V) :

II.1.1. Les mutations de types 1 :

Ce type de mutations donne des avantages prolifératifs et/ou de survie aux progéniteurs hématopoïétiques en interférant dans certaines voies de signalisation telles que celles impliquant *N-RAS* et *K-RAS*, *FLT3* et *c-Kit* (**Piedfer, 2012**).

- *N-RAS* (1p13.2) et *K-RAS*(12p12.1)(Neuroblastoma- et Kirsten- Rat Sarcoma Viral Oncogene), (OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man), *N-RAS*: 164790 ;*K-RAS*: 190070). Les protéines de la famille RAS ont une activité GTPase intrinsèque, et participent au contrôle de la prolifération cellulaire, en activant la cascade des MAP/kinases et la voie PI3K- AKT. Les protéines RAS sont activées, entre autres, par les cascades de signalisation de tyrosine kinase comme *FLT3* et *Kit*. Des mutations aboutissant à une activation constitutive du signal ont été retrouvées au niveau des gènes *N-RAS* et *K-RAS* dans 10 à 20% des LAM (**Hirsch, 2016**). Ces mutations sont fréquemment associées au LAM avec *inv(16)/t(16;16)* et *inv(3)/t(3;3)*. Alors que les mutations de *N-RAS* sont significativement associées à la progression des SMD en LAM, les mutations de *N* et *K-RAS* ne présentent pas d'impact pronostique dans les LAM selon les différentes études menées à ce jour (**Gay-Guerinet, 2012**).
- *FLT3* (13q12.2) (FMS-like tyrosine kinase 3), (OMIM:136351) est une protéine transmembranaire à activité tyrosine kinase normalement exprimée au niveau des progéniteurs hématopoïétiques immatures. Son ligand est exprimé et sécrété par les cellules du microenvironnement de la moelle osseuse entraînant son activation conduisant à une cascade de phosphorylations intra- cytoplasmiques, aboutissant à une prolifération cellulaire accrue, et à une résistance à l'apoptose. *FLT3* est exprimé de façon importante dans les LAM (entre 70% et 100% des types de LAM selon FAB) et cette surexpression joue un rôle dans la survie et la prolifération des blastes leucémiques (**Piedfer, 2012**). De plus, il existe deux types

de mutations activatrices de ce récepteur retrouvés dans les LAM : des duplications internes en tandem d'une séquence palindromique présente dans la région juxta-membranaire du récepteur (*FLT3-ITD*), et des mutations ponctuelles au niveau de la boucle d'activation du domaine kinase (*FLT3-TKD*). La mutation du gène *FLT3* est l'altération la plus fréquente dans les LAM (Piedfer, 2012 ; Hirsch, 2016).

- ***FLT3-ITD (FLT3-Internal Tandem Duplication)***: mutations retrouvées entre 25 et 30% des cas, les duplications retrouvées sont très variables, mais toujours dans le cadre de lecture et entraînent une perte de fonction du domaine inhibiteur. Ces mutations sont associées à un mauvais pronostic (Piedfer, 2012).
- ***FLT3-TKD (FLT3-tyrosine kinase domain)***: mutations ponctuelles retrouvées chez 7% des patients qui entraînent une conformation active de la boucle et donc une meilleure fixation de l'ATP et du substrat. La relation entre ces mutations et l'incidence au niveau du pronostic reste encore en débat (Piedfer, 2012).

Ces deux types de mutations conduisent à la dimérisation, à l'activation et l'autophosphorylation du récepteur de façon constitutive. Cette altération se traduit par une activation de nombreuses voies impliquées dans la prolifération et la survie cellulaire (PI3K/AKT) (Piedfer, 2012).

- ***C-Kit* (4q12)** : C-Kit (CD117) est un récepteur tyrosine-kinase, (OMIM : 164920) nécessaire à la prolifération et la survie des CSH et des progéniteurs engagés, son ligand est le Stem Cell Factor (SCF). Il fonctionne comme FLT3 par dimérisation puis autophosphorylation stimulant la transduction du signal. Exprimé dans 80 à 90% des LAM (Pourcelot, 2015), il est caractérisé par une activation constitutive qui peut être le fruit d'une délétion ou substitution. Comme pour FLT3, il a été décrit une phosphorylation constitutive de c-Kit liée à une stimulation autocrine ou paracrine de SCF. Cependant bien que plusieurs systèmes de régulation de c-Kit existent, aucune dérégulation de ceux-ci n'a été mise en évidence dans le processus de leucémogénèse (Pourcelot, 2015).
- ***CBL* (11q23.3)** : le gène *CBL* (Casitas B-cell Lymphoma) (OMIM: 165360) code pour une ubiquitine ligase qui cible une grande variété de tyrosine kinases et entraîne leur dégradation. Les mutations de ce gène entraînent l'inhibition de l'internalisation et l'ubiquitination de FLT3 et ainsi augmente l'amplitude et la durée du signal de ce récepteur (Piedfer, 2012).
- ***JAK2* (Janus Kinase 2) (9p24.1)** (OMIM : 147796) : ce gène code pour une tyrosine kinase cytoplasmique impliquée dans la transduction de signaux initiés par plusieurs récepteurs de

facteurs de croissance et de cytokines, requis pour l'hématopoïèse. Les mutations de ce récepteur entraînent une augmentation de son activité kinase et l'activation de voies en aval telles que STAT5, PI3K/AKT, ERK (Extracellular signal Regulated Kinase). La mutation *JAK2V617F* est retrouvée chez 70% des patients ayant une LAM précédée d'une maladie myélo-proliférative mais est rare dans les LAM *de novo* (Piedfer, 2012).

L'ensemble de ces mutations entraînent une maladie ressemblant à une leucémie myéloïde chronique caractérisée par une forte prolifération de globules blancs, sauf que ces cellules sont matures et fonctionnelles. Cependant, l'apparition de mutations de type II en plus de ces mutations de type 1 entraîne une LAM. Les mutations de type 2 concernent les capacités de différenciation et d'apoptose et entraînent une maladie de type syndrome myélodysplasique en absence de mutation de type 1 (Piedfer, 2012).

II.1.2. Les mutations de type 2 :

a- Aberrations chromosomiques :

Plusieurs translocations chromosomiques observées dans les LAM conduisent à la formation de protéines chimériques impliquées dans la pathologie (Piedfer, 2012). Les plus fréquentes sont:

- **Translocation concernant CBF** : *CBF* (Core Binding Factor) (16q22.1) (OMIM: 121360) est un facteur de transcription avec deux sous-unités, *CBF α* (appelé aussi *AML1* ou encore *RUNX1* (Runt-related transcription factor 1)) et *CBF β* . *RUNX1* interagit directement avec l'ADN et *CBF β* interagit avec *RUNX1* et permet l'activation de la transcription. *CBF* régule l'expression de nombreux gènes impliqués dans la différenciation hématopoïétique tels que les gènes codant pour *IL-3*, *GM-CSF* et des gènes importants pour la maturation des lymphocytes T et B. *CBF* est essentiel au bon déroulement de l'hématopoïèse normale, il est aussi ciblé par plusieurs remaniement dans les LAM (Piedfer, 2012). Deux sous-groupes sont caractérisés dans le classement OMS 2008 :
 - *RUNX1/ETO* : (nommé aussi *AML1/ETO*, *AML1* (21q22.12) : Acute Myeloid Leukemia 1 protein) (OMIM: 151385) correspond à la translocation t(8;21). Le gène *RUNX1* est très fréquemment dérégulé dans les LAM ; à la fois par des remaniements chromosomiques mais aussi par des mutations ponctuelles ou des amplifications. *ETO* (Eight-Twenty One oncogene) est un répresseur de la transcription. Ainsi, la protéine chimérique *RUNX1/ETO* recrute des co-répresseurs et inhibe l'expression des gènes normalement régulés par *RUNX1* (Piedfer, 2012).

- *CBFβ/MYH11* ((16p13.11) nommé aussi *CBFβ/SMMHC*, *SMMHC* : Smooth Muscle Myosin Heavy Chain et MYH11 : Myosin heavy chain) (OMIM : 160745) correspond à l'anomalie chromosomique inv(16)/t(16;16) qui fusionne les 165 premiers acides aminés de CBFβ avec la région C-terminale de la chaîne lourde de la myosine musculaire. La protéine chimérique interagit avec RUNX1 et inhibe la transcription des gènes cibles de ce dernier en recrutant des co-répresseurs (**Piedfer, 2012**).
 - ***PML/RARα*** : (*PML* (15p24.1), OMIM:102578) correspond à la translocation t(15;17) caractéristique des leucémies aiguës promyélocytaire (LAM3), Cette anomalie donne une protéine chimérique entre RARα (Retinoic Acid Receptor alpha) un récepteur nucléaire aux hormones et PML (ProMyelocytic Leukemia) une protéine nucléaire avec doigt de zinc. En absence de l'acide rétinoïque (ATRA), RARα est inhibé suite à l'interaction avec RXR (Retinoid X Receptor). Cette inhibition est renversée par la présence d'ATRA qui induit un changement de conformation. La protéine chimérique PML/RARα est insensible à la présence d'ATRA dans les concentrations physiologiques ; et recrute de façon anormale des co-répresseurs de la transcription et agit ainsi continuellement en répresseur (**Piedfer, 2012**).
 - ***MLL*** (Mixed Lineage Leukemia) (11q23.3) (OMIM: 159555) : le gène *MLL* code pour un facteur de transcription de 431 kDa. Il est exprimé dans toutes les cellules hématopoïétiques notamment dans les CSH et impliqué dans l'activation de plusieurs promoteurs notamment ceux régulant l'expression des gènes HOX. *MLL* est fréquemment ciblé dans les leucémies aussi bien dans les LAM que dans les LAL et les leucémies biphénotypiques. Il existe plus de 50 translocations affectant ce gène et ces translocations sont retrouvées dans environ 10% des LAM (**Piedfer, 2012**). Parmi ces translocations 5 sont très fréquentes : t(4;11)(q21;q23) : *MLL-AF4*; t(9;11)(p22;q23) : *MLL-AF9*; t(11;19)(q23;p13.3) : *MLL-ENL*; t(10;11)(p12;q23) : *MLL-AF10*; et t(6;11)(q27;q23) : *MLL-AF6*. Tous les produits de ces translocations sont capables de fixer certains partenaires de la machinerie de l'ARN polymérase II et ainsi activer la traduction de plusieurs gènes. L'expression de la protéine de fusion *MLL-1/AF9* entraîne une LAM chez des souris confirmant les propriétés oncogéniques de cette protéine chimérique. Sur le plan clinique, le pronostic de ces réarrangements est très sévère (**Piedfer, 2012**).
- b- Mutations ponctuelles :**
- ***RUNX1***(AML1) (OMIM: 151385) (21q22.12) code pour une des deux unités du CBF et est exprimé dans les lignées hématopoïétiques responsables de la régulation de plusieurs gènes

impliqués dans l'hématopoïèse. De manière plus récente, de nombreuses études ont pu mettre en évidence l'existence de mutations de *RUNX1* dans les LAM *de novo*. Elles sont plus fréquentes chez le sujet âgé et dans le groupe de cytogénétique intermédiaire. Des mutations acquises ponctuelles sont retrouvées dans environ 10% des LAM. La présence de mutations de *RUNX1* semble être un facteur prédictif péjoratif sur la survie globale (**Gay-Guerinet, 2012**).

- ***CEBP α*** (CCAAT/Enhancer Binding Protein α) (19q13.11) (OMIM: 116897) le gène *CEBP α* code pour un facteur de transcription qui joue un rôle crucial pendant la différenciation de nombreux types cellulaires notamment les cellules hématopoïétiques. *CEBP α* agit par de multiples façons : il régule négativement l'expression de *c-Myc* autorisant la différenciation, il régule positivement l'expression de gènes spécifiques de la lignée granulocytaire et enfin il agit en synergie avec d'autres gènes impliqués dans le développement myéloïde (**Piedfer, 2012**) Des mutations dans un des trois domaines actifs de *CEBP α* (domaine leucine zipper), conduisant à une perte d'activité, ont été décrites chez environ 10% à 15% des patients atteints de LAM (**Hirsch, 2016**). Il a été montré que la perte de fonction de *CEBP α* facilite la leucémogénèse en bloquant la différenciation granulocytaire. Plusieurs mécanismes d'inactivation de *CEBP α* ont été décrits chez les patients atteints de LAM : la régulation négative de son expression à cause de la fusion *RUNX1/ETO* et l'apparition de mutations ponctuelles entraînant sa perte de fonction (**Piedfer, 2012**).
- ***MLL*** : 5% à 11% des patients avec caryotypes normaux ont des mutations dans le gène *MLL* et notamment des duplications partielles en tandem (nommée *MLL-PTD* avec PTD : Partial Tandem Duplications). Ces duplications préservent les fonctions de *MLL* et contribuent à la leucémogénèse par hyperméthylation de gènes suppresseurs de tumeurs (**Piedfer, 2012**).

II.1.3. Mutations de type III :

Touche les gènes impliqués dans l'épigénétique, en modifiant l'environnement cellulaire ce qui influera l'expression d'autres gènes (**Picot, 2017**). Actuellement, il est admis que les mécanismes d'oncogénèse dans les tumeurs solides mêlent mutations génétiques et modifications épigénétiques. C'est aussi le cas dans les LAM, où les recherches dans ce domaine se multiplient depuis peu et laisse penser que tout comme pour les altérations génétiques il existe une hiérarchisation d'altérations épigénétiques qui participent au processus de leucémogénèse. De nouvelles mutations dans les gènes liés au contrôle épigénétique de la transcription, qui

comprennent la méthylation de l'ADN et les modifications des histones ont été mises en évidence. Cette nouvelle classe de gènes mutés inclut, sans s'y limiter : *ASXL1*, *DNMT3A*, *IDH1*, *IDH2* et *TET2*. Les mutations de gènes comme *ASXL1*, impliqué dans la régulation épigénétique, ont été corrélées à des modifications d'histones. Une mutation du gène codant la DNMT3A est retrouvée dans 20% des LAM à caryotype normal. Des gènes suppresseurs de tumeurs ayant un rôle dans le cycle cellulaire se distinguent par une répression par hyperméthylation ; tel que le gène *TET2*, qui hydroxyle les 5-méthylcytosines et participe donc à la déméthylation de l'ADN. Les mutations directes de *TET2* ou celles des IDH indirectement répriment l'activité de *TET2*, conduisant à un phénotype d'hyperméthylation qui perturbe la différenciation myéloïde. Plusieurs études montrent l'existence d'une hyperméthylation du génome, ce qui a permis d'identifier biologiquement des sous-groupes de LAM. Ainsi, une LAM secondaire ne présente pas le même profil d'hyperméthylation qu'une LAM *de novo*, et le profil d'une LAM *de novo* NPM1 muté diffère d'une LAM CEBP α muté (Gay-Guerinet, 2012 ; Pedrono, 2014 ; Pourcelot, 2015).

- ***ASXL1*** (Additional SeX Comb-Like) (20q11.21) (OMIM: 612990) : la fonction précise d'*ASXL1* dans l'hématopoïèse est mal connue. *ASXL1* est capable d'interactions directes avec le complexe PRC2 et est impliqué dans la régulation de la tri-méthylation d'H3K27. Des mutations d'*ASXL1* se produisent dans 5 à 17% des LAM. Les profils d'expression génique en cas d'expression d'*ASXL1* mutant dans des cellules hématopoïétiques partagent des caractéristiques communes avec les profils d'expression observés en cas de remaniement de *MLL*, avec notamment des modifications d'expression des gènes *HOX*. La perte d'expression d'*Asxl1* dans les CSH dans des modèles murins entraîne un phénotype mimant la myélodysplasie, et aboutit à une diminution des capacités d'auto-renouvellement des CSH (Hirsch, 2016).
- ***DNMT3A*** (DNA Methyltransferases-3A) (2p23.3) (OMIM: 602769) : c'est une méthyltransférase dont la fonction principale est d'ajouter un groupement méthyle aux cytosines des îlots CpG de l'ADN. Les mutations de *DNMT3A* ont été identifiées par étude du génome entier et sont présentes dans environ 20% des LAM. Des profils spécifiques de méthylation et d'expression génique (notamment surexpression de *HOXA* et *HOXB*) ont été mis en évidence suite à des cas de mutations. Les mutations de *DNMT3A* sont à ce jour un des seuls événements dont le caractère pré-leucémique a été formellement démontré (Hirsch, 2016).
- ***TET2*** (Tet oncogene family member 2) (4q24) (OMIM: 612839) : ce gène a été identifié comme un gène candidat en tant que suppresseur de tumeur dans les syndromes

myélodysplasiques, myéloprolifératifs et dans les LAM grâce à un séquençage haut débit d'ADN de cellules de patients. Les protéines TET sont impliquées dans la régulation épigénétique. Elles sont capables de convertir des méthyl-cytosines en hydroxy-méthyl-cytosines, formes intermédiaires de déméthylation des cytosines, et ainsi ont un rôle dans la déméthylation de l'ADN. Les mutations de TET2 dans les LAM entraînent un taux moindre d'hydroxyméthylcytosine ainsi ce gène pourrait être associé à la leucémogénèse en participant à l'hyperméthylation souvent observée dans les cancers. Les mutations de TET2 ont été décrites dans environ 15% des pathologies myéloïdes et dans 7 à 20% des LAM (**Hirsch, 2016**). Les mutations TET2 sont associées à un âge plus avancé, une leucocytose plus importante et sont mutuellement exclusive des mutations d'*IDH1* et *IDH2* (**Gay-Guerinet, 2012**).

- ***IDH1/IDH2*** (Isocitrate DesHydrogenase) (OMIM *IDH1* (2q34) : 147700 ; *IDH2* (15q26.1) : 147650) sont des enzymes impliquées dans le métabolisme énergétique (cycle de Krebs), qui convertissent l'isocitrate en α -ceto-glutarate (α CG). Des mutations dans *IDH1* et *IDH2* ont été identifiées dans plusieurs types de cancers dont les LAM par séquençage du génome entier. Ces mutations conduisent à une modification de l'activité catabolique normale des IDH, et induisent la production néomorphique de 2-hydroxyglutarate de type D. La déplétion en α CG, qui est un cofacteur indispensable à l'activité des protéines TET, va entraîner des altérations épigénétique en partie comparables à celles des mutations de TET2. Ces mutations pourraient également jouer sur d'autres voies enzymatiques et métaboliques impliquées dans la leucémogénèse (**Hirsch, 2016**).
- ***NPM1*** (Nucléophosmine) (5q35.1) (OMIM: 164040) est une protéine chaperonne, de localisation préférentiellement nucléaire, capable de faire la navette entre le cytoplasme et le noyau des cellules. Des mutations de ce gène sont retrouvées dans 40 à 60% des LAM à caryotype normal, et 24 à 35% de l'ensemble des LAM (**Pourcelot, 2015**). Elle joue un rôle dans la régulation de la transcription, et assure le transport et l'assemblage des particules pré-ribosomales dans le cytoplasme. *NPM1* agit également comme contrôle de la voie de la protéine p53. Plusieurs types de mutations de *NPM1*, localisées au niveau de l'exon 12, ont été identifiés chez les patients atteints de LAM. Elles ont toutes comme conséquence l'accumulation intra cytoplasmique de la protéine et la perte de sa fonction normale, par

défaut de localisation nucléaire. Le pronostic associé à ces mutations est globalement favorable en l'absence de *FLT3-ITD* (Hirsch, 2016).

- ***WT1*** (Wilm's Tumor 1) (11p13) (OMIM: 607102) le gène *WT1* code pour un facteur de transcription exprimé dans les progéniteurs CD34+ du système hématopoïétique mais pas dans les leucocytes matures. Il est fortement exprimé dans les LAM. Il a été impliqué dans la régulation de la survie cellulaire, la prolifération et la différenciation et il a été montré comme à la fois suppresseur de tumeur et oncogène. Les mutations de *WT1* sont retrouvées dans 10% à 13% des LAM avec caryotype normal mais son impact pronostic n'est pas établi (Piedfer, 2012).
- ***TP53*** (17p13.1) (OMIM : 191170) est un gène suppresseur de tumeur ; il est mutée dans 5 à 10% des LAM. Ces mutations sont associées aux LAM induites et à une cytogénétique complexe. De nombreuses voies métaboliques sont contrôlées par p53. Son activation se produit en réponse à divers stress cellulaires (dommages dans l'ADN, hypoxie etc...). Elle peut induire un arrêt du cycle cellulaire, l'engagement vers la sénescence et l'apoptose. P53 agit en partie comme un facteur de transcription. La plupart des mutations de TP53 se produisent dans les domaines de liaison à l'ADN, et induisent une perte de fonction de la protéine, aboutissant à une accumulation d'événements génétiques dans les cellules par absence de déclenchement de signal d'apoptose secondairement à ces lésions (Hirsch, 2016).
- **Mutations d'*EZH2* et des complexes polycombs** (7q36.1) (OMIM: 601573) les complexes polycombs sont des répresseurs transcriptionnels jouant un rôle fondamental dans la différenciation cellulaire. Ils sont organisés en 2 complexes PRC1 et PRC2. Le complexe PRC2 est constitué des protéines EZH1 ou EZH2, EED, SUZ12 et RBAP4. Des mutations de ces différents composants ont été décrites dans les LAM, mais les mutations d'*EZH2* sont largement majoritaires, mêmes si elles restent rares. EZH2 est une H3K27 méthyl-transférase. Les mutations d'*EZH2* peuvent entraîner un gain de fonction enzymatique observé dans les pathologies lymphoïdes, ou une perte de fonction enzymatique observée dans les pathologies myéloïdes. La surexpression d'*EZH2* dans des précurseurs hématopoïétiques peut induire un phénotype de SMP dans des modèles murins. Les mutations du complexe PRC1 n'ont pas été rapportées à ce jour dans les LAM (Hirsch, 2016).

II.1.4. L'expression des miARNs (ou micro ARN) :

Les micro-ARN sont de courts ARN simple non codants, qui en s'hybridant sur leur ARNm cibles, sont capables d'inhiber l'expression des protéines codées par ces ARNm, et ainsi réprimer et réguler l'expression de plusieurs gènes au cours de processus cellulaires normaux. Ils sont impliqués de manière déterminante dans l'hématopoïèse, généralement comme régulateurs négatifs de gènes clés impliqués dans la différenciation. Leurs expressions aberrantes ou leurs dérégulations contribuent donc à la transformation maligne en interférant avec les voies et mécanismes cellulaires. Une étude réalisée par *Mi et al* sur le profil d'expression des micro-ARNs a permis de différencier une LAL d'une LAM. La plupart des miARNs dérégulés joueraient un rôle dans la différenciation myéloïde et dans ses fonctions spécifiques. Concernant les LAM, il est possible de distinguer entre plusieurs LAM avec anomalies caryotypiques uniquement par le profil miARN. En effet, l'expression des miARN est corrélée à la présence de plusieurs anomalies récurrentes dans les LAM. Par exemple, les mutations de *NPM1* sont associées à l'augmentation de plusieurs types de mi-ARN (**Piedfer, 2012 ; Pedrono, 2012**).

II.1.5. Anomalies épigénétiques dans les LAM :

Il est clairement établi à l'heure actuelle que les mécanismes d'oncogenèse font intervenir de manière intriquée des mutations de gènes et des modifications épigénétiques. Ainsi, dans les LAM, plusieurs études montrent l'existence d'une hyperméthylation du génome. Les groupes de gènes hyperméthylés diffèrent selon les LAM et la cartographie de ces gènes hyperméthylés permet d'identifier biologiquement des sous-groupes de LAM. Ainsi, une LAM secondaire ne présente pas le même profil d'hyperméthylation qu'une LAM *de novo*, et le profil d'une LAM *de novo* *NPM1* muté diffère d'une LAM *CEBPα* muté. De plus, au sein même des LAM *NPM1* muté, 4 profils d'hyperméthylation sont retrouvés (**Gay-Guerinet, 2012**).

Partie pratique

Patients et méthodes

La partie pratique de notre étude, s'étalant sur une période de 3 mois, depuis le 04/03/2018 jusqu'au 10/06/2018, porte sur deux volets et fut réalisée au niveau de deux établissements ; au CHU Constantine, respectivement au niveau du service d'hématologie pour les prélèvements sanguins, ainsi que la réalisation de l'étude statistique, et à l'unité de cytogénétique, ainsi qu'au CRBt au niveau du laboratoire de cytogénétique pour la réalisation du caryotype.

- **Aspect statistique :** effectuer une étude statistique au niveau du service d'hématologie, cette étude porte sur une période de cinq ans, de 2012-2017, afin de connaître l'incidence de la maladie au niveau de la wilaya de Constantine.
- **Aspect cytogénétique :** notre travail a pour but de procéder à des prélèvements puis réaliser des cultures cellulaires à partir du sang de patients leucémiques avant chimiothérapie, puisque ce paramètre est impératif à l'obtention et l'interprétation de nos résultats, et enfin pour la réalisation d'un caryotype en appliquant les techniques du R-banding à l'analyse des LAM. Ceci vise à la familiarisation et l'apprentissage des techniques de réalisation du caryotype standards.

I. Patients :

Les personnes incluses dans notre étude sont des patients atteints de LAM, admis à l'hôpital CHUC au niveau du service d'hématologie. Notre choix de cas patients a été fait de façon aléatoire, néanmoins ils devaient tous être avant chimiothérapie pour optimiser les chances d'obtenir un caryotype valable pour notre étude. On a effectué un prélèvement sanguin recueilli dans des conditions stériles par ponction veineuse, dans un tube hépariné contenant du lithium de 4ml.

On a réalisé des prélèvements sur trois patients (une femme et deux hommes) qui ont été hospitalisé avant chimiothérapie, dont les prélèvements ont été acheminés le jour même au CRBt pour la culture cellulaire:

Patients et méthodes

| Patient n°1 | Patient n°2 | Patient n°3 |
|---|---|---|
| effectué le 05/03/2018 sur une femme âgé de 31ans, originaire et demeurant à Constantine, mariée, qui a été diagnostiquée pour une anémie, CIVD et une leucémie aigue promyélocytaire (LAM3). | effectué le 26/03/2018 sur un homme âgé de 61ans, originaire et demeurant à Gurarem (Mila), admis au service pour la prise en charge d'une LAM (LAM2) en rechute (non greffé par manque de donneur) après 15mois de rémission complète. | effectué le 02/04/2018 sur un homme âgé de 69ans, originaire et demeurant à Tlaghma (Mila), issus d'un mariage consanguin, premier d'une fratrie de 9 personnes, marié et père de 4 enfants, ancien employé dans une usine des produits de construction, admis pour la prise en charge d'une Bicytopénie LAM. |

Figure 5: Tableau représentant les trois cas des patients prélevés

Matériel et réactifs :

1- Matériel :

- Tube de cultures en plastique Falcon,
- Tube de centrifugation en plastique Falcon,
- Tube conique (Aliquot),
- Lames de microscope 26×76mm (labbox[®]),
- Boîte de rangement des lames,
- Micropipette (0,1-2 µl) (20-200 µl),
- Pipette de transfert,
- Hotte à flux laminaire (ALS- STERIL- HELIOS[®]),
- Hotte chimique (Shinsaeng[®] -model : SFH-2012 (UP)),
- Centrifugeuse à grande vitesse (SIGMA[®] 2-16 KL),
- Entonnoir téflon 70×10mm,
- Vortex (IKA[®]), (VELP[®], WIZARD Advanced IR Vortex Mixer),

Patients et méthodes

- Microscope à contraste de phase (Leica[®] DM 1000 LED) relié à un ordinateur muni d'un système de traitement d'image : LAS EZ[®],
- Station cytogénétique motorisé (Leica[®] CTR6000) relié à un ordinateur disposant d'un système de traitement d'image (logiciel Cytovision[®]),
- Station cytogénétique (Zeiss[®]) relié à un ordinateur utilisant un logiciel de traitement d'image : Case Data Manager Expo[®],
- Étuve (Mettler[®]),
- Réfrigérateur à 4°C, un congélateur à -20°C,
- Bain marie (Mettler[®]),
- Parafilm[®] « M » Laboratory film,
- Becher en verre (20 ml, 25 ml, 100 ml, 600 ml et 1000ml),
- Becher en plastique (50 ml, 100 ml et 400ml),
- Pince,
- Cuve à coloration (Hellendahl[®]),
- Papier absorbent,
- Éprouvette graduée verre (250 ml, 500ml),
- Bac en verre,
- Pipette pasteur,
- Portoir pour tube,
- Papier filtre 70mm,
- Poire de sécurité,
- Pipette graduée 0,5 ml,
- Présentoir de lames,
- Gant nitrile non stérile (non poudré),
- Gant latex (poudré),
- Embouts à Pipette (ISOLAB[®] 200µl).

2- Réactifs :

- PB max : préparé 8ml,
- Thymidine (100µl) : 0,6g dans 100ml de PBS,
- PBS : 1 à 2 comprimés de PBS dans 400 ML d'eau bi distillé (Sigma[®]),
- Eau distillé,
- Eau minéral,
- Eau bi distillé,

- Acide acétique 100%,
- Éthanol.
- Giemsa liquide Fluka®.
- Éthanol 70%,
- Huile d'immersion,
- Sérum de Veau Fœtal SVF (1,5ml) et RPMI 1640 Medium avec L-glutamine et sodium bicarbonate (5ml),
- Colchicine (60µl) : 0,1g dans 100 ml d'eau distillée,
- KCL : 5,6g/l d'eau,
- Phosphate de sodium anhydre (NaH₂PO₄)
- Carnoy : 3V Éthanol +1V d'Acide acétique.
- Tampon de Gürr,
- Giemsa.

III- Méthodologie :

1- Prélèvement sanguin pour le caryotype :

Le prélèvement a été réalisé au niveau du service d'hématologie du CHUC, cette procédure a été faite par des infirmiers. Le sang est prélevé par ponction veineuse sur tube héparine-lithium.

2- Mise en culture :

- Étiqueter les tubes du milieu de culture avec le nom et le numéro d'organisation.
- Travailler sous hotte à flux laminaire, ouvrir les tubes en évitant de passer les mains au-dessus des tubes.
- Mettre 10 gouttes de sang dans un tube Falcon 9ml de milieu de culture PB-Max (milieu complet contenant tous les composants essentiels)
- Bien fermer les tubes et les déposer horizontalement sur un plateau en verre et les mettre dans une étuve à 37°C pour une période de 72h.

3- Synchronisation :

Ajouter 100µl de thymidine (agent synchronisant) après 48h de mise en culture et remettre en culture.

4- Caryotype :

4-1- Lavage :

- Retirer les tubes de l'étuve. Puis procéder à la centrifugation des tubes à 1500 tours par minute (tpm) durant 5 min 30.
- Après avoir préparé les réactifs (Tampon PBS : 2 comprimés de PBS dans 400ml d'eau bi-distillé).
- Après la centrifugation, déverser le surnageant dans un Becher, réservé pour le déchet du surnageant, ajout vers 1ml de PBS (le PBS aide à enlever la thymidine). Bien mélanger avec le vortex, ensuite compléter à 10ml avec PBS (jusqu'à l'étiquette) bien mélanger. Centrifuger une deuxième fois puis procéder à un deuxième lavage (déverser le surnageant dans le Becher spécifique, dilution au PBS, mélanger au vortex, rajouter du PBS 10ml et remettre à la centrifugeuse).

4-2- Remise en culture :

- Après centrifugation, enlever le surnageant, puis compléter avec 5ml de RPMI et 1,5ml de Sérum de Veau Fœtal (SVF) avec une pipette graduée. Après bien homogénéiser par retournements et remettre en culture durant 5h à 5h30 en position horizontale.

4-3- Blocage en métaphase :

- Après incubation de 5h à 5h30, on ajoute 60µl de colchicine pure à l'aide d'une micropipette (20-200µl) dans chaque tube, puis homogénéiser et remettre à l'étuve en position horizontale à 37°C pendant 30 min.

4-4- Choc hypotonique et préfixation :

- Centrifuger les tubes de cultures à 1500 tpm pendant 5min30. Sous hotte chimique, déverser le surnageant dans un autre Becher réservé à la colchicine. Ajouter 1 à 2ml de KCl à concentration 5,6g/l préchauffé à 37°C. Mélanger au vortex et compléter jusqu'à

10ml avec du KCl. Homogénéiser par retournements. Après incuber à l'étuve en position horizontale pendant 20min à 37°C.

- Pour la préfixation on prépare du carnoy en mélangeant 3V d'éthanol avec 1V d'acide acétique, nous avons préparé pour le premier échantillon de l'éthanol à 70% en diluant 400ml d'alcool avec 191ml d'eau distillée. Puis nous avons versé 150ml d'éthanol et 50ml d'acide acétique dans une éprouvette à 250ml. Pour les deux autres échantillons nous avons utilisé de l'éthanol à 100% et ce pour optimiser le protocole, en mettant 300ml d'éthanol pour 100ml d'acide acétique dans une éprouvette de 500ml.
- On utilise de l'éthanol pour traiter les lymphocytes, contrairement au méthanol qui est utilisé pour les tissus.
- Ajoute 0,5ml à 1ml de carnoy dans chaque tube contenant l'échantillon. homogénéiser par retournements puis centrifuger les tubes de culture à 1500 tpm durant 5min30
- Sous hotte chimique déverser le surnageant un Becher spécifique au carnoy.

4-5- Fixation :

- Ajout 1 à 2ml de carnoy, agiter avec un vortex et compléter avec du carnoy.
- Homogénéiser par retournements. Fixation à température ambiante pendant 20min.
- Centrifuger les tubes de culture à 1500 tpm pendant 5min30.
- Enlever le surnageant sous hotte chimique dans le Becher mis à disposition.
- Refaire une deuxième fixation : ajouter quelques gouttes de carnoy, homogénéiser, agiter avec un vortex, compléter jusqu'à 10ml avec du carnoy et conserver au froid à 4°C.

4-6- Étalement :

- Dégraisser les lames dans un grand Becher verser de l'éthanol à 70% et de l'eau distillé, puis mettre les lames à dégraisser puis recouvrir avec un parafilm, enfin mettre dans un réfrigérateur à 4°C.
- Centrifuger les tubes à 1500 tpm pendant 5min30, déverser le surnageant (l'ancien carnoy) et le remplacer par un nouveau carnoy. À l'aide d'une pipette de transfert (ou pipette Pasteur) on mélange le culot afin de le mettre en suspension.
- Allumer le bain marie et préchauffer jusqu'à 86°C. Placer une lame dégraissée et la préchauffer en l'exposant à l'humidité du bain marie, et laisser tomber deux gouttes de culot à une certaine distance (~30cm) de la lame, rincer au carnoy ou non cela dépend de la qualité de l'étalement.

- Bien sécher la lame sur le bord du bain marie pour observer au microscope optique à contraste de phase qui permet de voir les chromosomes sans coloration et de sélectionner les lames de bonnes mitoses.
- Il faut savoir que les conditions atmosphériques (température, humidité, pression atmosphérique) influent sur la qualité des étalements.
- Étalement sur lame froide : mettre les lames à dégraisser dans un congélateur à -20°C pendant 24h. Centrifuger les tubes à échantillons à 1500 tpm durant 5min30, enlever le surnageant dans le Becher spécifique au carnoy, mélanger avec une pipette de transfert (ou pipette Pasteur), puis procéder à l'étalement.

4-7- Dénaturation et coloration (R-banding) :

- D'abord réhydrater les lames dans de l'eau distillée durant 5min.
- Plonger les lames dans de la solution phosphate ($\text{NaH}_2\text{PO}_4+2\text{H}_2\text{O}$) qui est mise dans le bain marie à 86°C de 13-20min (pour optimiser le résultat).
- Préparer la solution tampon Giemsa-tampon Gürr, en mélangeant 10ml de tampon Gürr (pour mieux colorer les chromosomes) avec 5ml de Giemsa dans une cuve à coloration Hellendahl, après plonger les lames dans le colorant Giemsa-tampon de Gürr et compléter avec de l'eau du robinet jusqu'à ce que les lames soient submergées, durant 5min.
- Sortir les lames de la cuve et les rincer à l'eau courante, et laisser sécher.

4-8- Observation des lames avant coloration :

- On a observé nos lames sous microscope optique à contraste de phase relié à un ordinateur traitant les images. Ceci nous a permis de choisir les lames contenant de bonnes mitoses.

4-9- Observation des lames après coloration :

- Pour cette étape nous avons utilisé deux stations cytogénétique différentes, celle du CRBt et celle de l'unité de cytogénétique du CHUC.
- Après avoir choisi les lames à colorer, elles sont ensuite observées et étudiées par station cytogénétique motorisée (au CRBt) relié à un ordinateur traitant les images par le logiciel : Cytovision[®]. On observe premièrement avec l'objectif (x10) puis lorsqu'on repère une mitose on met une goutte d'huile d'immersion et on passe à l'objectif (x63) et après à l'objectif (x100).

- Au CHUC nous avons utilisé une station cytogénétique reliée à un ordinateur dont le logiciel de traitement d'image est : Case-Data Manager-Expo[®], qui nous a permis d'ordonner le caryotype directement. On observe nos lames au début avec l'objectif (x10) lorsqu'une mitose est détectée on met une goutte d'huile d'immersion et on passe à l'objectif (x100).

4-10- L'interprétation des résultats :

L'interprétation des résultats s'appuie obligatoirement sur les données cliniques, qui ont été transmises par le médecin traitant. Deux notions doivent être prises en considération :

- **L'échec du caryotype** : qualité de l'échantillon (cellularité, stérilité, délai d'acheminement) et capacité proliférative des cellules *in vitro* variable. Le seuil acceptable du pourcentage d'échec par pathologie LAM est fixé à 5% par le Groupe Français de Cytogénétique Hématologique (GFCH). (**Luquet *et al*, 2016**)
- **Informativité du caryotype** : désigne la proportion de cellules anormales dans le prélèvement. Cette Informativité est très variable selon les pathologies : pour les LAM, cette informativité est évaluée par le GFCH à plus de 60% de caryotypes anormaux. (**Luquet *et al*, 2016**)

La lecture des résultats et la prononciation sur la présence d'une éventuelle anomalie se fait par comparaison avec un caryotype de référence normal (**figures 5 et 6**).

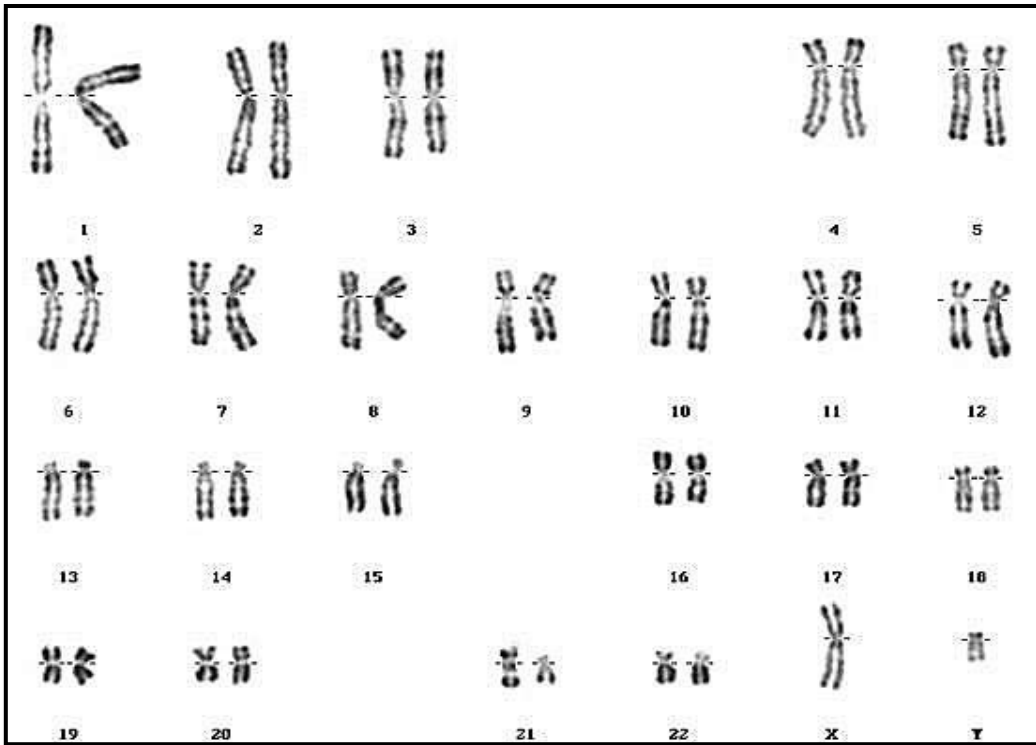


Figure 5: Caryotype normal d'un homme (46, XY) (Atlas os Genetics in oncology and Hematology).

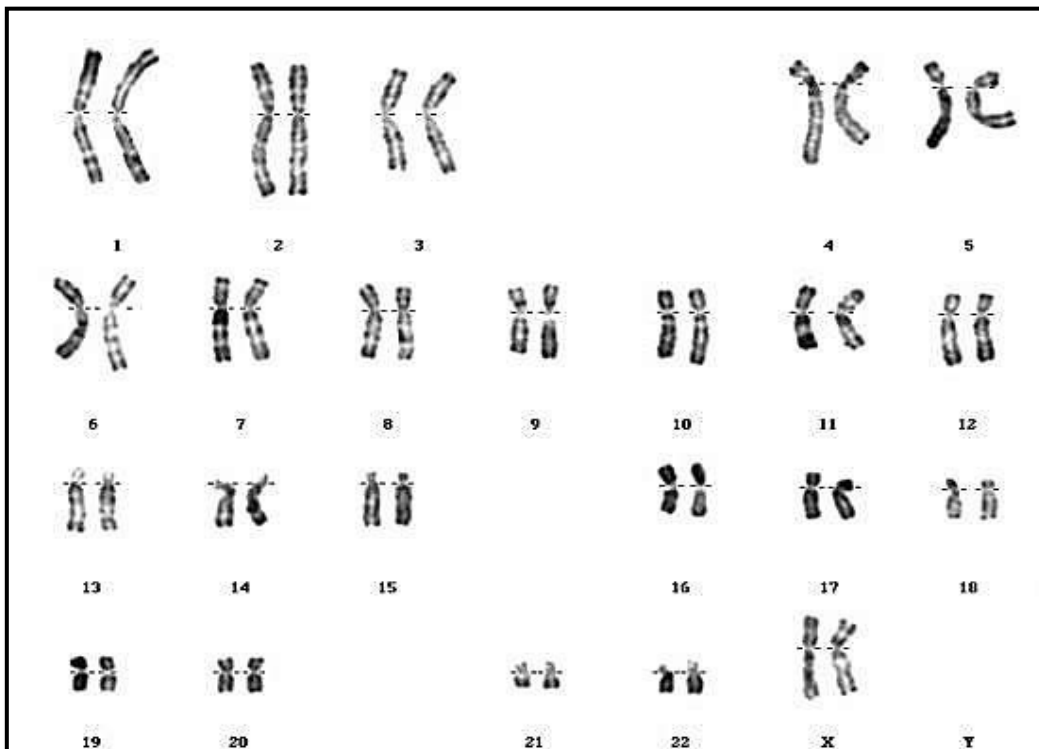


Figure 6: Caryotype normal d'une femme (46, XX) (Atlas os Genetics in oncology and Hematology).

**Résultats
et
discussion**

I- Étude statistique :

Il s'agit d'une étude descriptive rétrospective, réalisée au laboratoire d'hématologie du CHU Benbadis Constantine. Cette étude a concerné tous les patients, admis au niveau de ce service, chez qui une LAM a été diagnostiquée entre janvier 2012 et décembre 2017. Cette étude statistique sur tous cas de LAM et pris en charge au niveau du service, sur une période de cinq ans, avait pour objectif de connaître l'incidence de cette pathologie dans la région de Constantine ainsi que les wilayas limitrophes et apporter une modeste contribution à la définition du profil épidémiologique de ces hémopathies dans la région. Pour la collecte des données, les documents suivants ont été exploités : les dossiers des malades, les registres d'hospitalisation, les fiches de traitements des malades, les différents paramètres analysés figurent sur une fiche de collecte de données (**annexe VII**) que nous avons établie. Cette fiche comporte les renseignements suivants : identification, antécédents, motifs de consultation ainsi que les données cliniques et para-cliniques

1-1- Répartition par année :

Pour la période mentionnée ci-dessus, nous avons pu réunir et étudier 100 dossiers de patients atteints de LAM (**figure 7**).

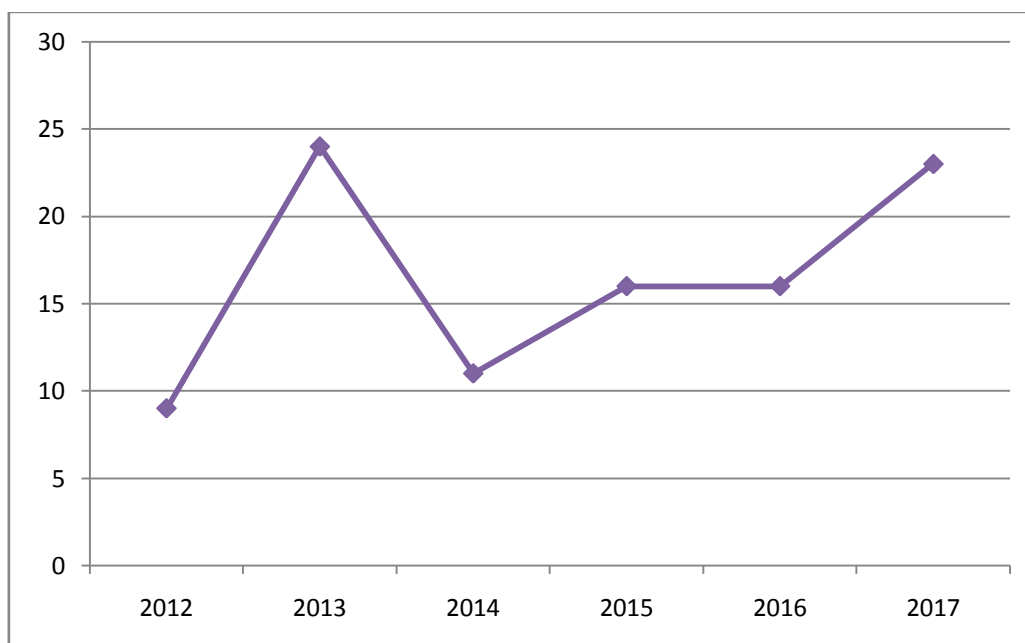


Figure 7 : Nombre de cas de LAM par année au cours de cinq ans (2012-2017).

Résultats et discussion

Sur la période d'étude, nous avons constaté une incidence annuelle moyenne de 19,8 cas. On observe que l'année 2013 a connu un pic dans le nombre de patient atteint de LAM avec 24 cas, suivie de l'année 2017 avec 23 cas. Alors que l'année 2012 enregistre le taux le plus bas avec 9 cas. Il semble qu'il y'a une recrudescence constante ces 4 dernières années de l'incidence des LAM dans la région. Une attention particulière doit être portée à cette tendance qui pourrait être la résultante d'un changement de mode vie, d'une exposition à des facteurs étiologiques particuliers ou simplement d'un biais statistique d'échantillonnage.

Nos résultats sont en accord avec ceux de **Hamladj *et al*(2014)** qui ont également rapporté cette tendance dans la population Algérienne à l'augmentation de l'incidence des hémopathies malignes et particulièrement celle des leucémies aigues.

1-2- Répartition par sexe :

Pour cette hémopathie, on constate que la population masculine est légèrement prédominante par rapport à la population féminine : le sex-ratio calculé est de 1,08. De par le monde, toutes les études menées sur les LAM rapportent une prédominance masculine atteignant jusqu'à 2. Nos résultats sont similaires à ceux de **Nacer *et al*(2009)** qui rapportent, dans une étude similaire menée sur la population algérienne, un sex-ratio de 1,08.

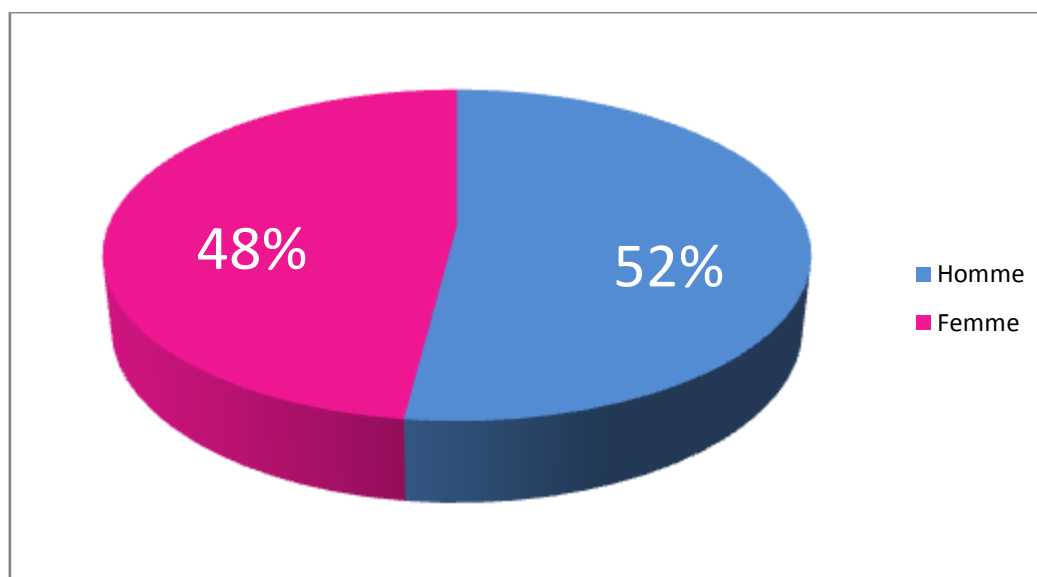


Figure 8 : Répartition des patients selon le sexe de l'incidence des LAM à Constantine.

La confrontation des données sur le sex-ratio ainsi que le nombre de cas recensés chaque année ne permet pas de révéler des différences notables (**figure 9**).

Résultats et discussion

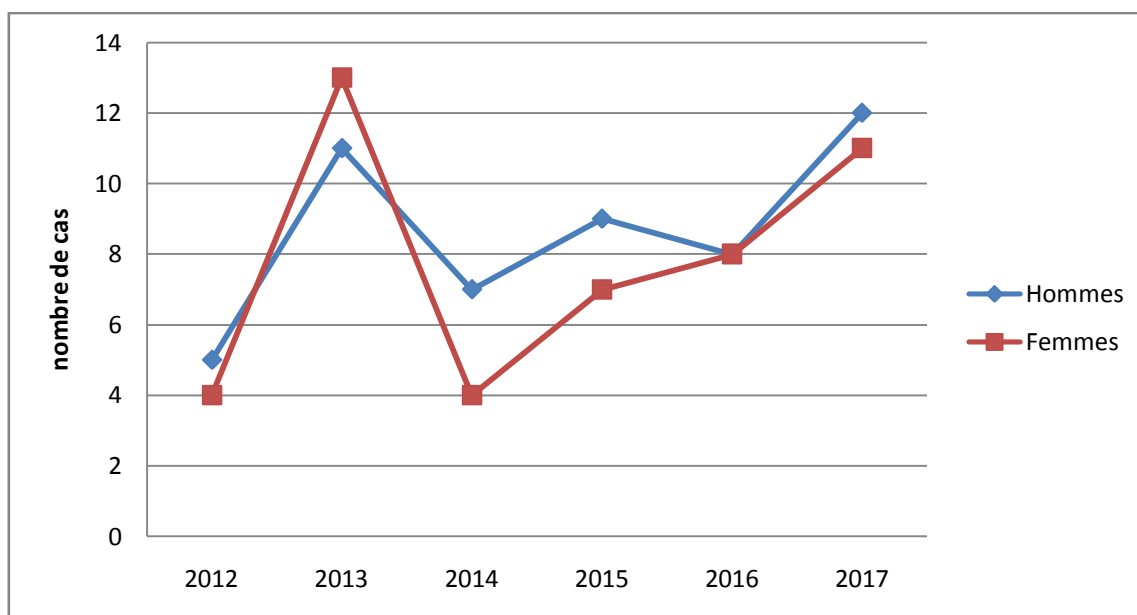


Figure 9 : Nombre de cas de LAM selon le sexe par année au cours de cinq ans (2012-2017).

En 2013 le nombre de femmes atteintes de LAM dépassait celui des hommes, à *contrario*, on observe un taux très faible de cas en 2012 et en 2014. En 2012 le nombre d'hommes atteints de LAM fut le plus faible, l'année suivante une hausse de patients, en 2017 on observe un pic de cas de patients atteints le LAM.

1-3- Répartition selon l'origine géographique :

La répartition des patients LAM en fonction de l'habitat révèle que la wilaya la plus touchée est Mila (29 cas), suivi de Constantine et Jijel, avec un nombre de cas recensés assez proche (21 vs 19 respectivement). Il est intéressant de noter le nombre de cas si important provenant des wilayas de Mila et Jijel et ce en pondération avec le nombre d'habitants. Ces données suggèrent une incidence plus importante des LAM dans ces deux villes. Plusieurs explications peuvent être proposées : des expositions professionnelles liées à l'utilisation des pesticides dans ces deux villes agricoles, la mise en place ces dernières années de nombreuses usines dont les rejets peuvent être un facteur étiologique des LAM, et enfin un fort taux de consanguinité en comparaison avec d'autres wilayas de la région (**figure 10**). Signalons au passage que dans notre cohorte, un patient est d'origine Syrienne alors que pour 7 d'autres : 2 femmes et 5 hommes, l'origine géographique n'est pas mentionnée.

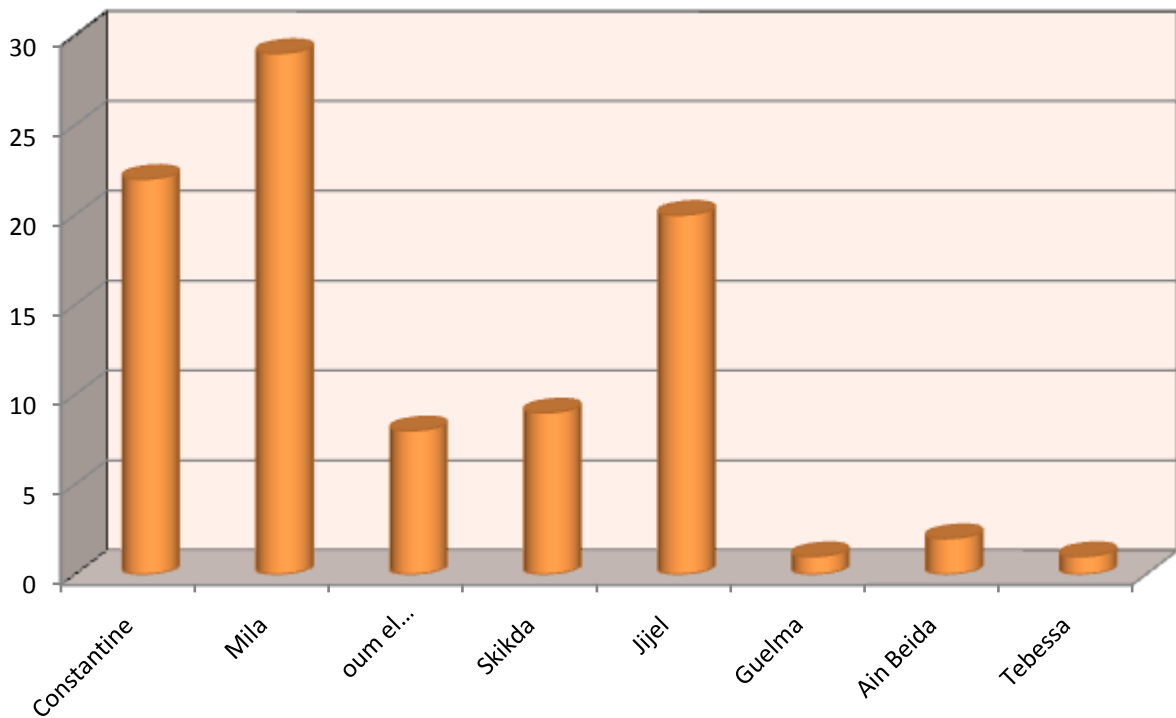


Figure 10 : Répartition des patients selon leur origine géographique.

1-4- Répartition selon l'âge :

La moyenne d'âge de notre population d'étude est de $49,32 \pm 19,21$ avec des étendues de 15 et 90 et un âge médian de 51 ans. Pour le sexe féminin, cette moyenne est de $47,26 \pm 20,51$ avec des étendues de 15 et 86, l'âge médian est de 45 ans, en parallèle, pour le sexe masculin, cette moyenne est de $51,19 \pm 17,94$ avec des extrêmes de 19 et 90, l'âge médian est de 51,5 ans (**figure 11**).

Résultats et discussion

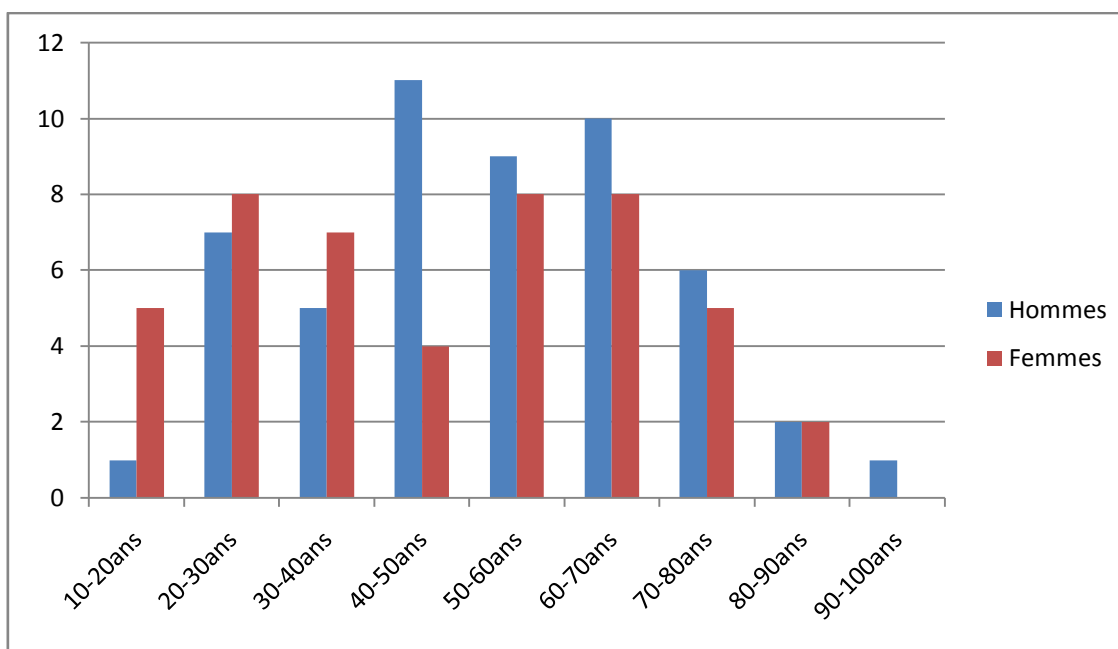


Figure 11 : Répartition des patients atteints de LAM en tranche d'âge.

La littérature médicale rapporte que les leucémies touchent de préférence les âges extrêmes avec une distribution bimodale de l'incidence et de la mortalité. L'essentiel du pic d'incidence des leucémies chez le jeune enfant est dû aux LAL, alors que le pic chez l'adulte correspond essentiellement aux LAM. Selon les données mondiales, les LAM peuvent être considérées comme des hémopathies du sujet âgé. Elles surviennent chez le petit enfant de moins de 2 ans, puis au-delà de 15 ans, où elles ont une fréquence progressivement croissante. L'âge médian se situe autour de 60 ans (OMS, 2017). Dans notre série, l'âge médian de 51 ans, inférieur à ce qui est rapporté dans d'autres études. Cela peut s'expliquer par la construction de la population Algérienne relativement jeune.

Dans notre étude, on remarque que l'augmentation de l'incidence des LAM avec l'âge, rapportée dans la bibliographie, n'est pas constante. Deux pics de fréquence majeurs sont observés : entre 40 et 50ans ainsi qu'entre 60 et 70ans. Selon la littérature, les personnes de moins de 40ans sont relativement peu touchées, mais l'incidence augmente lentement avec l'âge, et le taux hommes-femmes restant équivalent. En revanche, au-delà de 60 ans, le nombre de cas augmente beaucoup plus rapidement. À l'âge de 60 - 70ans, le taux masculin augmente plus rapidement que celui des femmes et on arrive à un taux de plus de 30 hommes sur 100 000 et de 19 femmes sur 100 000 chez les personnes âgées de 85 ans et plus (Xavier et Belharbi, 2002). Cette tendance a été constatée dans notre cohorte mais pas d'une manière aussi marquée. Dans notre série, 66% des cas de LAM s'observent avant 60 ans. Cependant, 34% des cas de LAM s'observent chez les sujets âgés de plus de 60 ans. Nous pensons que

Résultats et discussion

cette fréquence pourrait être sous-estimée et que la pathologie serait sous-diagnostiquée à cette tranche d'âge, par rapport aux pays industrialisés où on note un vieillissement de la population et une meilleure prise en charge des sujets âgés. Un autre biais dans étude visant à évaluer l'incidence des LAM dans la région est lié au fait que le service d'hématologie du CHU Benbadis Constantine ne prend pas en charge les leucémies aiguës pédiatriques (patients âgés de moins de 15 ans).

1-5- Répartition selon le sous-type cytologique :

Le diagnostic cytologique a été réalisé au laboratoire d'hématologie du CHU Benbadis Constantine. Les critères de diagnostic adoptés par les médecins du service ont été ceux du groupe FAB utilisant les spécificités cytologiques et les colorations cytochimiques MGG et MPO. Pour chaque patient, après avoir déterminé l'hémogramme sur un automate et analyser les frottis de sanguins et médullaires colorés au MGG, le diagnostic de LAM a été porté dès qu'il y avait plus de 30 % de blastes dans la moelle osseuse. La recherche de l'activité MPO était appliquée dans le cas où l'aspect myéloïde n'était pas évident dans la moelle. La sous-classification morphologique des sous-types de LAM a été basée sur les critères du groupe FAB selon l'appréciation du pourcentage des blastes dans la moelle, le type de blastes et le compte absolu des monocytes sanguins. Nous avons relevé des dossiers des patients de LAM le sous-type cytologique. Les résultats obtenus sont illustrés dans la figure ci-dessous.

Résultats et discussion

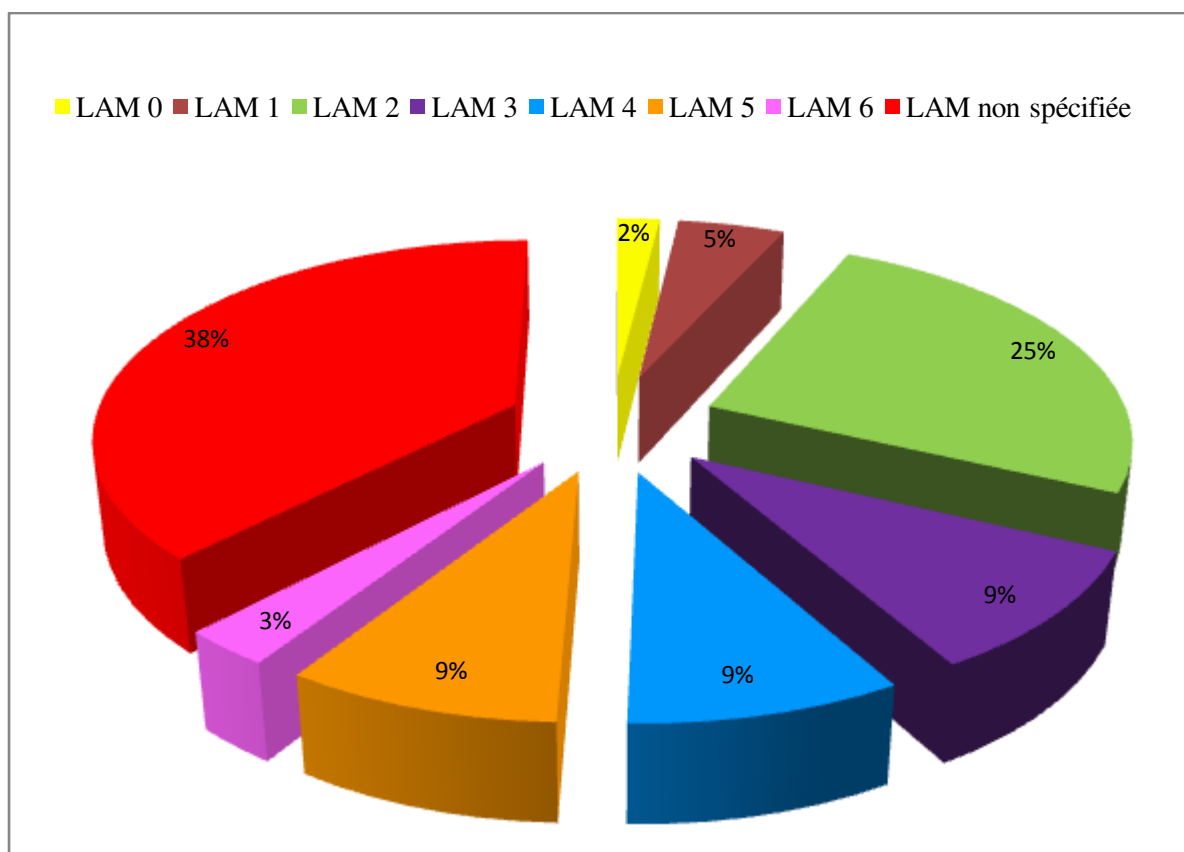


Figure 12: Répartition des patients selon le type cytologique de LAM.

Nos résultats mettent en évidence que la LAM2 est la plus fréquente avec 25% des cas recensés, suivi respectivement par les LAM3, 4 et 5 avec la même fréquence (9%). La LAM1 représente 5% des cas, la LAM6 3% et enfin la LAM0, la plus rare dans notre cohorte, est à 2%. Il est très important de signaler que pour 38% des cas de LAM étudiés, le type cytologique selon la classification FAB n'est pas mentionné (**figure 12**). Les données de la littérature rapportent généralement des répartitions des sous-types cytologiques des LAM assez homogènes. La plus fréquente étant toujours les LAM4 et 5 (25% chacune), suivi de LAM2 (20% des cas), la LAM1 (15%) et la LAM3 et 6 (8% chacune). Les LAM0 et 7 sont assez rares et représentent moins de 1% des cas (**Döhner et al., 2010**). Nos données recueillies sont, en plusieurs points, en contradiction avec les données de la littérature. Cependant, nos résultats sont assez biaisés et des conclusions d'une éventuelle comparaison ne pourra être faite et ce pour la simple raison que le sous-type cytologique n'est pas déterminé pour 38% des LAM.

Depuis une vingtaine d'année, la classification des LAM fait appel aux recommandations du groupe FAB. L'intérêt longtemps porté à cette classification est dû à sa relative simplicité

Résultats et discussion

basée sur une description morphologique simplifiée, après coloration des frottis de sang et de moelle par le MGG complétée par des examens cytochimiques. Cette approche reste toujours la base du diagnostic microscopique des LAM en application clinique malgré ses limites. Les difficultés de classement et de détermination du type cytologique de LAM montrent la nécessité de caractériser la population blastique par d'autres marqueurs immunologiques et cytogénétiques pour affirmer ou même modifier le diagnostic et aussi mieux cibler les indications thérapeutiques initiées (Vardiman *et al.*, 2010).

1-6- Répartition selon la consanguinité :

Du fait que nous avons trouvé un fort taux de LAM provenant de wilayas où les mariages consanguins sont assez répandus, nous avons essayé de prospecter du côté de la consanguinité comme étant un facteur de risque possible dans la genèse des LAM. La revue de dossiers des malades a révélé que 10% des LAM sont issus d'un mariage consanguin alors que 27% ne le sont pas. Malheureusement, ce paramètre n'est pas mentionné pour 63% des dossiers examinés ce qui rend problématique l'exploitation de ces résultats.

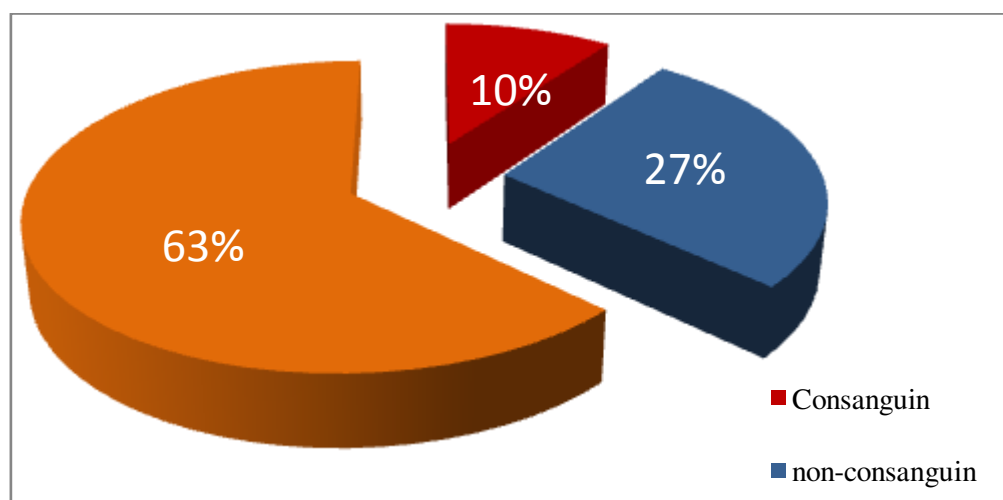


Figure 13 : Répartition des patients LAM selon la consanguinité.

Dans la bibliographie, des données épidémiologiques suggèrent en outre l'existence d'une susceptibilité génétique liée à l'origine ethnique. Certaines leucémies sont nettement plus fréquentes dans certains sous-groupes de la population humaine que dans d'autres. Des cas familiaux de leucémies existent mais sont extrêmement rares. Cette notion d'hérédité concerne principalement la LAL, les données concernant les LAM sont assez rares et peu concluantes (Renneville *et al.*, 2008).

1-7- État des lieux :

Les limites de notre étude statistique se situent à plusieurs niveaux. Tous d'abord, certains dossiers étaient incomplets ou perdus, par manque d'archivage limitant le nombre de dossiers retenus, ce qui rend notre appréciation de l'incidence des LAM dans la région potentiellement biaisée. L'absence de certaines informations importantes dans les dossiers, comme l'imprécision sur les antécédents, sur la profession des patients ne nous a pas permis de rechercher quelques facteurs étiologiques. À titre d'exemple, sur les 100 dossiers analysés, la profession n'est pas mentionnée dans 52. Enfin, à l'état actuel, dans l'unique structure de prise en charge spécialisée des LAM dans l'Est Algérien, les équipements disponibles font que la cytochimie, l'immunophénotypage, la cytogénétique et la biologie moléculaire sont irréalisables. Les données obtenues à l'aide de ces moyens techniques contribuent essentiellement à la définition correcte du sous-type cytologique ce qui permettra, hormis une considération épidémiologique, une meilleure prise en charge des patients.

II- Étude cytogénétique :

La partie pratique de notre étude porte sur la réalisation d'un caryotype depuis des prélèvements sanguins sur des patients diagnostiqués pour des LAM avant chimiothérapie. Nous avons effectué des prélèvements sur 3 patients :

- Patient N° 01 :

Résultats et discussion

Il s'agit d'une femme de 31ans diagnostiquée pour une LAM3 avec un myélogramme normal et présentent un très grand nombre de mégacaryocytes. L'hémogramme de la patiente montre un taux élevé de globules blanc et un faible taux de globules rouges. Son frottis sanguin montre une couche de cellules myéloblastique dont plusieurs contenant des bâtonnets d'Auer en fagots ce qui définit la leucémie aiguë à promyélocytes (LAM3) (**figure 14**).

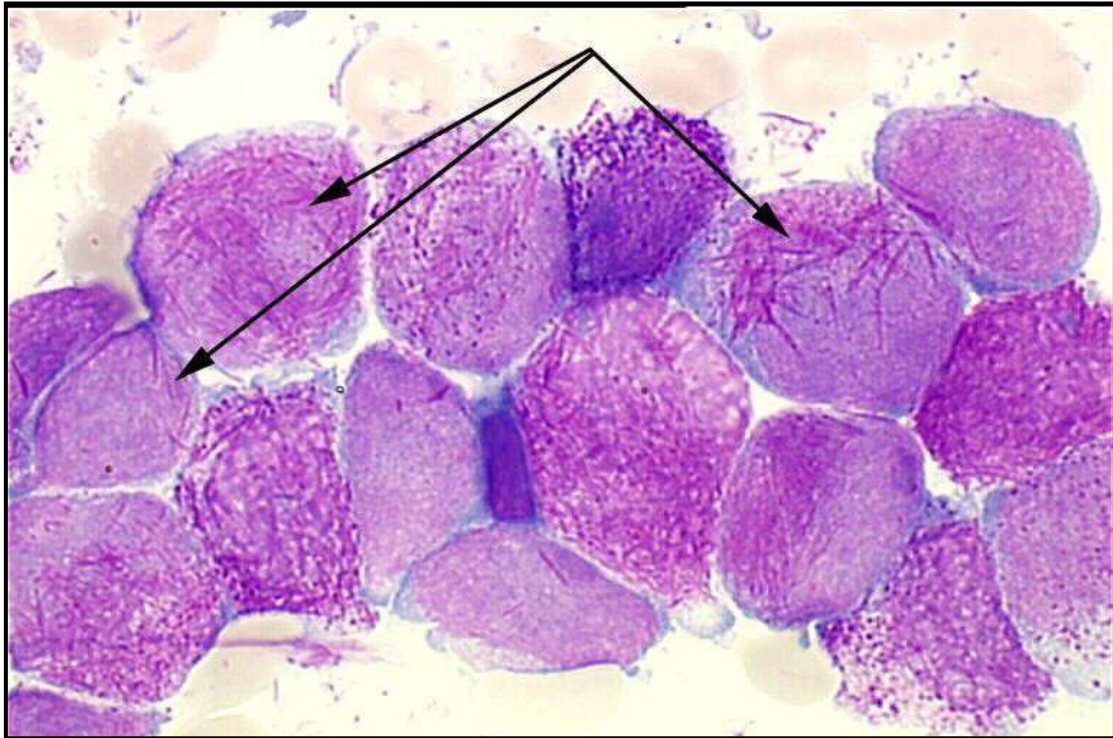


Figure 14 : Frottis sanguin avec des blastes contenant de très nombreux corps d'Auer. (MGG, grossissement 400).

La réalisation du caryotype pour cette patiente a donné le résultat suivant (**figure 15**).

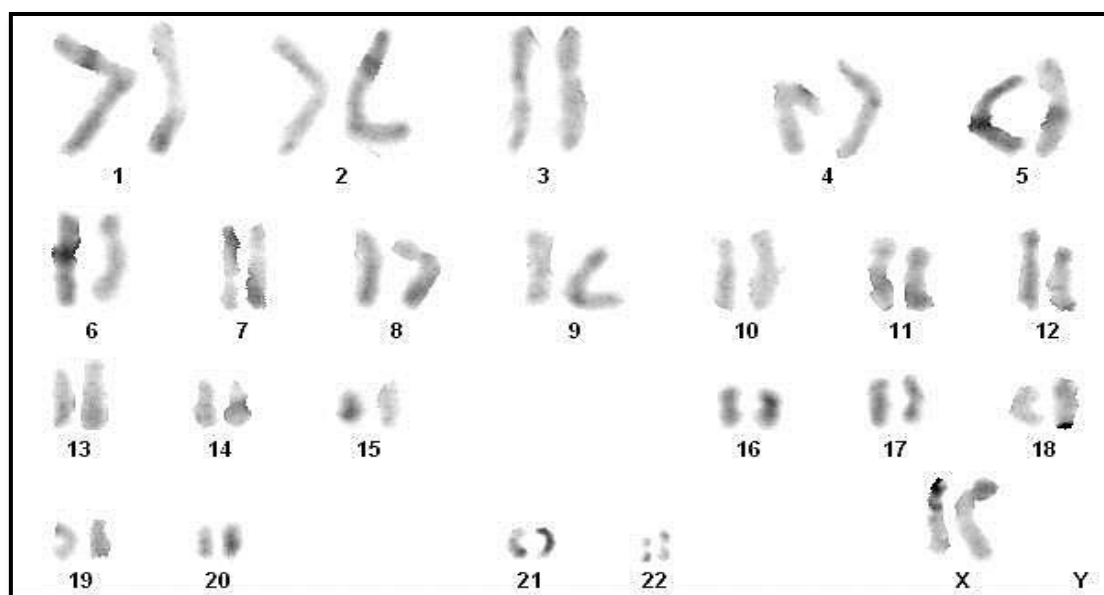


Figure 15 : Caryotype de la patiente n° 01.

L'analyse cytogénétique du caryotype obtenu montre, à première vue, un caryotype euploïde ne comportant *à priori* aucune anomalie chromosomique de nombre. Les chromosomes obtenus sont chétives, mais bien individualisés, les bandes R ne sont pas claires (un début de bandes). Dans ce cas de figure, avec un banding peu réussi, il est difficile de se prononcer sur la présence ou non d'anomalies de structure. L'intégration des données clinico-biologiques dans ce cas de figure paraît indispensable. La patiente en question présente une LAM3 aussi appelée LAP. De plus, un des deux chromosomes 15 et aussi l'un des deux chromosomes 17 ont aspect anormal et ce après comparaison avec un caryotype de référence (**figure 16**). Cela suggère fortement qu'on est en présence d'une translocation $t(15;17)(q25;q22)$; c'est la plus anciennement associée à un type cytologique particulier, et probablement la plus importante à reconnaître en urgence pour une prise en charge thérapeutique adaptée, est la $t(15;17)(q25;q22)$. Cette translocation est quasi-pathognomonique de la LAM3 et conduit à la formation d'un gène chimérique impliquant des gènes *PML* et *RAR α* . Outre sa spécificité cytologique, cette translocation est importante à reconnaître puisqu'elle confère une sensibilité à un agent différenciant : l'ATRA. Il existe plusieurs translocations variantes, impliquant systématiquement *RAR α* fusionné à un partenaire variable : $t(11;17)(q23;q21)$ *PLZF*, $t(5;17)(q35;q21)$ *NPM*, $t(11;17)(q13;q21)$ *NuMA* et $t(17;17)(q11.2;q21)$ *STAT5b*. Certaines de ces translocations alternatives, en particulier celle impliquant le gène *PLZF*, seraient de plus mauvais pronostic avec une moindre sensibilité aux traitements par ATRA ou les dérivés de l'arsenic (**Morikawa et al., 2003**).

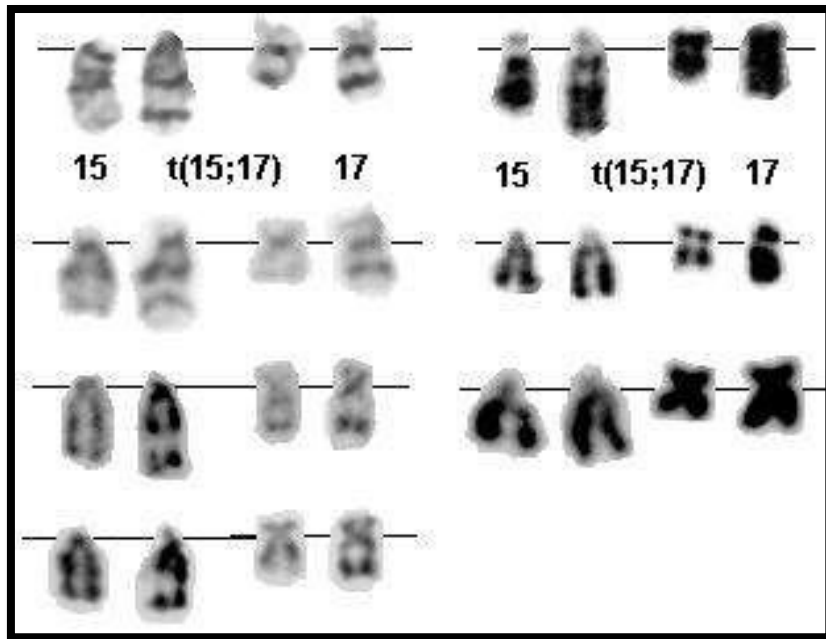


Figure 16: aspect des chromosomes 15 et 17 issus du caryotype d'un patient atteint d'une LAM3 avec la translocation $t(15;17)(q25;q22)$.
(Atlas of Genetics and cytogenetic in oncology and Hematology, 2018)

- **Patient N° 02 :**

Il s'agit d'un homme âgé de 61ans, diagnostiqué avec une LAM2. Son myélogramme montre une moelle riche en cellules, la présence de mégacaryocytes, le formule-numération sanguine montre de faibles taux de leucocytes et d'érythrocytes.

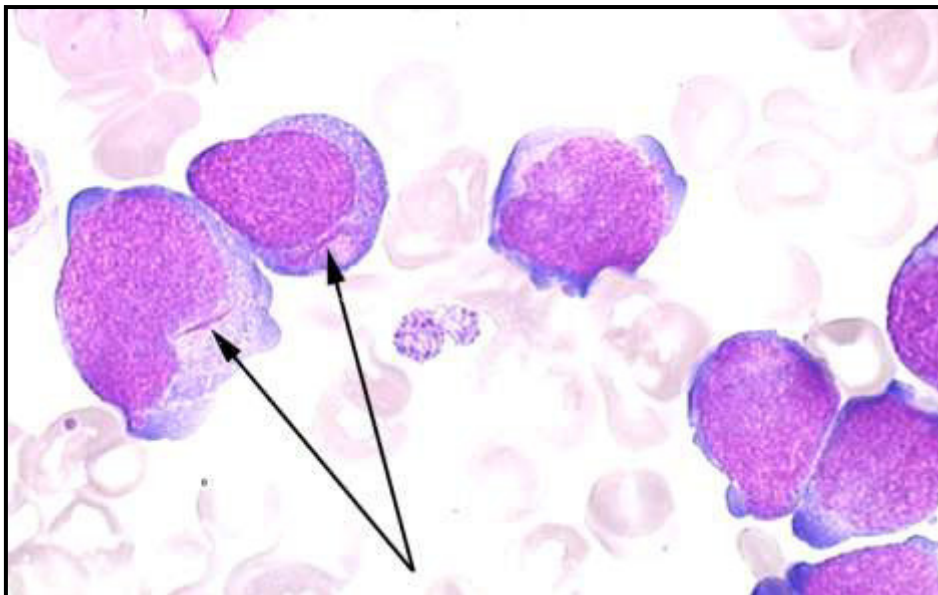


Figure 17 : Frottis médullaire avec de rares blastes contenant de très nombreux corps d'Auer.
(MGG, grossissement 400).

Résultats et discussion

L'analyse cytogénétique du prélèvement sanguin de ce patient donne les résultats suivants (figures 18 et 19).

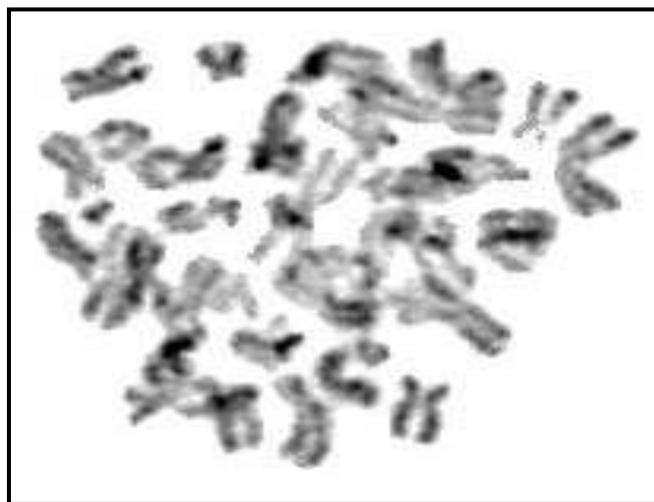


Figure 18 : Chromosome métaphasique d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé du patient n°02. Grossissement (40× 10)

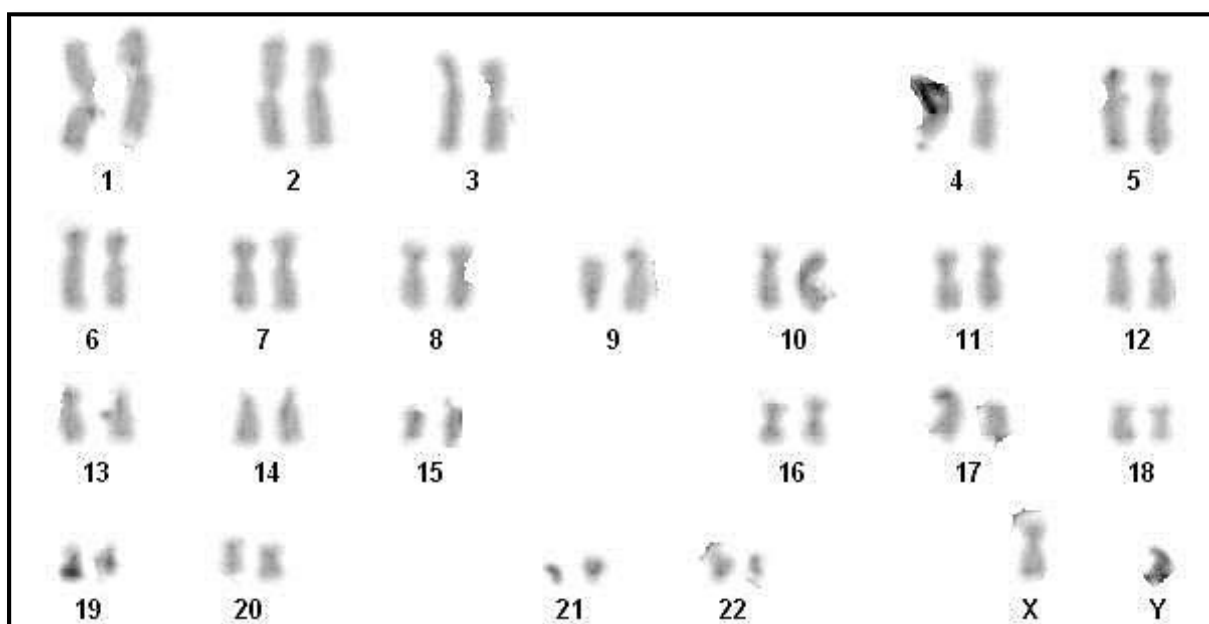


Figure 19 : Caryotype du patient n° 02.

L'analyse cytogénétique réalisé sur ce patient indique un caryotype euploïde ne comportant à *priori* aucune anomalie chromosomique de nombre. Les chromosomes obtenus sont de qualité moyenne, mais bien individualisés, le profil des bandes R obtenu n'est pas exploitable et ne permet pas de mettre en évidence avec certitude des anomalies de structure. Cependant, nous pouvant observer sur la figure 19 que les chromosomes 8, 9, 15, 17 et 21 paraissent anormaux.

Résultats et discussion

De même que pour le précédent patients, pour l'interprétation de ces résultats parcellaires, nous avons procédé à l'incorporation des données clinico-biologiques dans notre décision. En tenant compte du sous-type cellulaire de LAM concerné (LAM2) ainsi que les données bibliographiques qui illustrent les anomalies cytogénétique qui y sont associées, nous pouvons dire qu'en est en présence d'une translocation $t(8;21)(q22;22)$ avec délétion du bras long du chromosome 9 (9q-) ainsi que la délétion du bras court du chromosome 17 (9p-).

La $t(8;21)(q22;22)$, première anomalie spécifique des LAM, a été décrite par *Rowley et al* en 1973, présente dans 6 à 19% des LAM de l'enfant et représentant 40% des anomalies retrouvées dans les LAM 2. Cette translocation conduit également à la formation d'un gène chimérique impliquant les gènes *MTG8* et *CBFA2* (aussi appelé *AML1*). Cette translocation fait partie des anomalies primaires sont supposées être essentielles dans la genèse de l'hémopathie et s'observent à un stade précoce de la maladie. L'importance de cette translocation réside dans son impact sur le pronostic faisant partie des anomalies cytogénétique du groupe à pronostic favorable. La présence de cette translocation chez ce patient s'est confirmée après comparaison avec un caryotype de référence (*Nishii et al., 2003*)(figure 20).

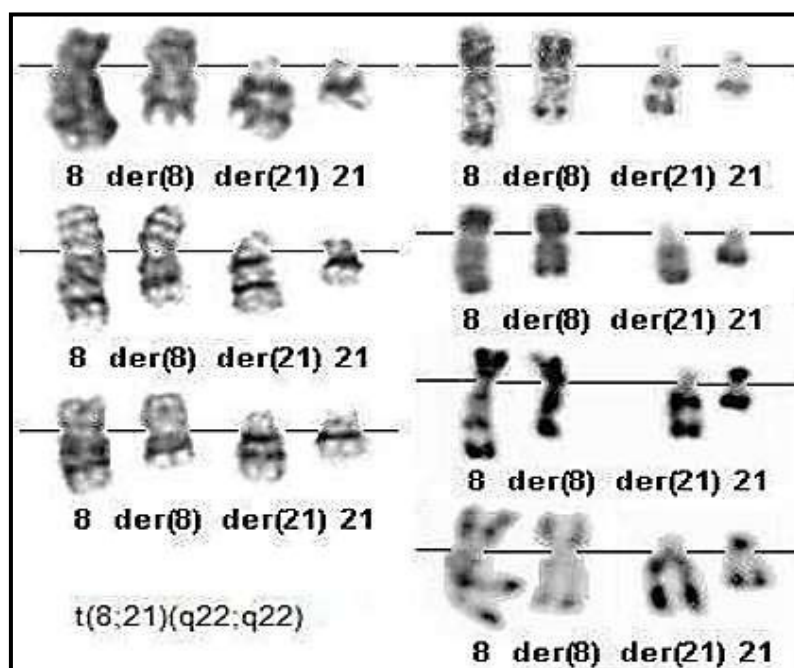


Figure 20 : aspect des chromosomes 8 et 21 issus du caryotype d'un patient atteint d'une LAM2 avec la translocation $t(8;21)(q22;22)$.

(Atlas of Genetics and cytogenetic in oncology and Hematology, 2018)

Dans 75% des cas il existe d'autres anomalies chromosomiques associées qu'on qualifie de secondaires. Elles représentent des mutations additionnelles qui peuvent être présentes au

Résultats et discussion

diagnostic ou acquises au cours de l'évolution de la maladie. Bien que les cellules cancéreuses soient généralement instables génétiquement, et par conséquent favorables à la genèse d'événements secondaires, la plupart de ces anomalies additionnelles ne sont pas aléatoires. La délétion du bras long du chromosome 9 est une anomalie fréquente dans les LAM2 associée souvent à la t(8;21). Elle peut être retrouvée dans 2% des LAM d'une façon isolée. La délétion du bras court du chromosome 17 est observée dans 3 à 4% des LAM et serait corrélée avec une dysgranulopoïèse dans les LAM surtout LAM2 et LAM6. Exceptionnellement, une LAM2 avec t(8;21) peut être associée à la translocation t(15;17). Toutes ces données rapportées dans la littérature confortent l'interprétation du caryotype qu'on a fait

- Patient N° 03 :

Il s'agit d'un homme âgé de 69ans diagnostiqué pour une Bicytopénie LAM, son hémogramme montre de très faible taux de leucocytes et de plaquettes ; l'étude du frottis montre des blastes de taille moyennes à grande, au noyau régulier, à la chromatine fine, nucléolée, au cytoplasme modérément étendue, basophile. À notre plus grand regret, après plusieurs tentatives, il y'a eu un échec de culture (**figure 21**).

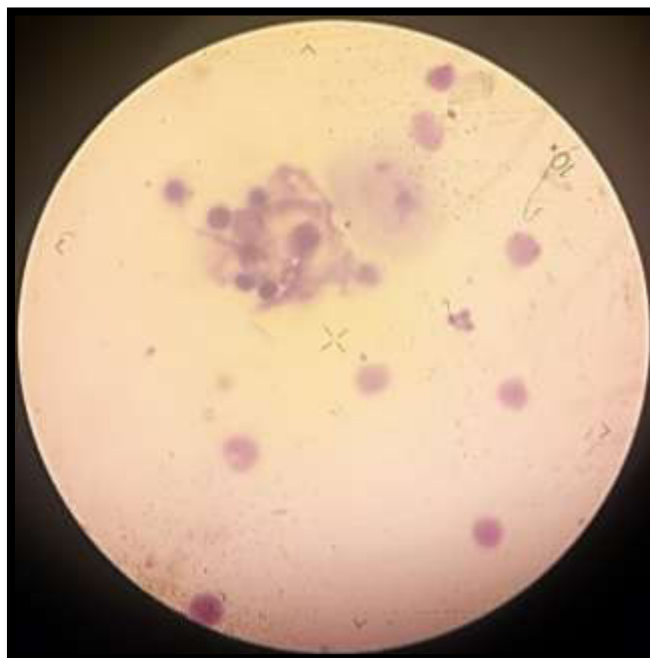


Figure 21 : aspect des noyaux après caryotype du patient N°03(grossissement 40×10).

Dans ce cas l'absence de mitoses et donc de caryotype peut être expliqué par un échec de culture ou un prélèvement hypo-cellulaire. Selon le Groupe Français de Cytogénétique

Résultats et discussion

Hématologique (GFCH), le seuil acceptable du pourcentage d'échec pour les LAM est fixé à 5% (Luquet *et al.*, 2016). Dans ce cas, le facteur incriminé dans l'échec de la culture, sachant que nous avons utilisé le même matériel, réactifs et protocole que pour l'obtention des caryotypes précédents, est faible proportion de cellules myéloïdes au dépend des cellules de la lignée lymphoïde. En effet, dans les LA, nous rencontrons souvent ces cas de figure dans la pathologie lymphoïde où les cellules sont caractérisées par un faible index prolifératif.

- **État des lieux :**

Environ 60 % des LAM présentent un caryotype anormal et ces anomalies acquises sont parfois associées à des aspects cytologiques particuliers. Leur mise en évidence est incontournable non seulement pour le diagnostic et la classification des LAM mais également pour la stratégie thérapeutique conditionnée, au moins en partie, par l'impact pronostique de ces anomalies récurrentes (Luquet *et al.*, 2016). Bien qu'il s'agisse d'un examen indispensable, le caryotype réalisé sur prélèvement sanguin fait parfois défaut, dans plusieurs cas de figure : prélèvement sur un milieu non adéquat, temps de transport prolongé, prélèvement comportant un nombre insuffisant de cellules malignes (fibrose, aplasie médullaire, hémodilution), cellules tumorales ayant un faible index prolifératif (LAM biphénotypiques, LAM6 et LAM7). Dans ces cas d'échec, et selon le GFCH, il est recommandé la réalisation d'une nouvelle tentative de caryotype sur moelle ou sur sang si la blastose circulante est importante. En cas d'un nouvel échec de culture, il est recommandé de passer à la FISH. Au niveau du CHUC, le diagnostic des LAM est parfois difficile car les frottis (sanguins et/ou médullaires) ne sont pas toujours informatifs, le myélogramme et l'hémogramme apportent parfois des confusions quant à la distinction à certains type de LAM : LAM5 *vs* LAM6 et LAM1 *vs* LAM2.

Malgré toutes ces considérations, la cytogénétique reste un outil indispensable à la prise en charge des LAM. De conception à première vue assez évidente, il est assez laborieux de mettre en place une structure de cytogénétique fonctionnelle, avec des résultats fiables et reproductibles, dédiée à l'analyse des hémopathies malignes en général. De plus, le caryotype médullaire semble plus informatif ce qui introduit encore un autre niveau de difficulté sachant que la culture des cellules de la moelle osseuse est plus difficile que celles du sang. **En résumé, une prise en charge optimale d'une LAM ne peut donc pas être adéquate sans les résultats du caryotype éventuellement complétés par FISH.**

Conclusion
et
Perspectives

Conclusion et perspectives

Conclusion :

Dans notre travail de recherche il nous a paru évident que l'indication majeure du caryotype dans la prise en charge des LAM est le diagnostic puisqu'il existe souvent une corrélation entre des anomalies chromosomiques spécifiques et le type cytologique de LAM. Le caryotype peut également avoir un intérêt pronostique et constituer un marqueur de l'évolution tumorale. Dans le cadre du suivi des patients, il participe à la détection d'éventuelles rechutes, à affirmer une rémission complète et il permet de contrôler l'efficacité de la greffe de moelle.

Malgré le développement de nouvelles technologies pour la caractérisation des différentes entités de LAM, on continue à utiliser en Algérie, ainsi que dans de nombreux pays en voie de développement, les recommandations anciennes de la classification FAB, mise au point en 1976 et basée sur des caractéristiques morphologiques et cytochimiques. Certes, un hémogramme complet avec une lecture minutieuse des frottis de sang et de moelle complétée par des réactions cytochimiques permettent encore le classement de la plupart des LAM. Cependant, l'étude d'autres marqueurs cytogénétiques, immunologiques et moléculaires, est devenue nécessaire pour en préciser le diagnostic. La classification de l'OMS a le mérite d'utiliser une combinaison de l'ensemble de ces approches.

Toutefois, il faut noter que ces nouvelles techniques sont longues à mettre en œuvre et nécessitent une certaine pratique ce qui les réservent à des laboratoires de recherche spécialisés. En Algérie, le caryotype n'est pas un examen de routine et la cytogénétique moléculaire reste un examen assez lourd. Ces tests ne sont pas réalisables au niveau de tous les hôpitaux prenant en charge des LAM. Même si le caryotype a une grande valeur diagnostic et pronostic, la cytologie, malgré ces limites, reste l'élément essentiel de prise en charge des LAM dans notre pays.

Notre étude statistique a dévoilé des lacunes au niveau de l'enregistrement des renseignements relatives aux patients, et un manque flagrant d'informations et d'une base de données regroupant tous les dossiers de LAM. Ces limitations rendent toute prospection statistique pratiquement impossible, et même si avec le contexte actuel ce type d'étude est mis en place, les résultats obtenus ne refléteront pas la réalité épidémiologique des LAM dans la région.

Conclusion et perspectives

À la suite de ce travail, l'on peut avoir comme perspectives :

- L'amélioration des techniques de cytogénétique classique (R-banding) et son utilisation en routine, de façon systématique, dans le cadre du diagnostic et du suivi des LAM.
- La mise en place et l'utilisation de la cytogénétique moléculaire (FISH) comme complément du caryotype, afin de mieux révéler les anomalies cryptiques et dépassant les limitations de la cytogénétique conventionnelle, surtout devant des difficultés de culture cellulaire.
- La mise en place et l'utilisation de la biologie moléculaire qui offre un panel de techniques variées permettant une détection et une spécification plus précise de la maladie.
- La mise en place, au niveau local puis national, d'une base de données contenant toutes les informations des patients atteints de LAM et d'hémopathies malignes de manière générale. Cette démarche est un prérequis à la réalisation de toute étude épidémiologique avec des résultats exploitables.

Références bibliographiques

1. **AHMED NACER R, HAMLADJI R M, BELHANI M.** 2009 N°00 Revue Algérienne d'hématologie Sous l'égide de la société Algérienne d'Hématologie et de Transfusion Sanguine. Paginations multiples.
2. **ALLALI A.** 2012. Cytogénétique : Techniques et apports dans les leucémies aiguës. (Thèse en ligne) *Université Mohammed V-Souissi- Faculté de Médecine et de pharmacie-Rabat* - Paginations multiples.
3. **ATUL B, MEHTA A, HOFFBRAND V.** 2003. Traduction de la première édition anglaise par Michel Rocour Révision scientifique d'andré Bosly et Augustin Ferrant Edition de Boeck. ISBN 2-445-0141-7 ISSN 1378-0492 Hématologie.
4. **BOYER T.** 2016. Rôle du CD81 dans les LAM : implications phénotypiques et clinicobiologique médecine humaine et pathologie, (Thèse en ligne) *Université de droit et de santé. Lille II.* Paginations multiples.
5. **CHAIBI P.** 2011. Hématopoïèse et vieillissement; service de Médecine Interne- Gériatrie du professeur Piette ; Hopital Charles Foix ; Ivry sur Seine. Paginations multiples.
6. **CHAQUIN M.** 2013. Diagnostique et classification des LAM. Horizon hémato, janvier fevrier mars, volume 3 n°1. Paginations multiples.
7. **DANNUS L T.** 2017. Pharmacogénomique des leucémies aiguës myéloïdes. (Thèse en ligne) *Université Toulouse III PAUL Sabatier. Faculté des sciences pharmaceutiques.* Paginations multiples.
8. **DEBRU C.** 1996. Centre Européen d'Histoire de la Médecine, Faculté de Médecine, 4, rue Kirschleger, 67085 Strasbourg Cedex, France. Patrick Triadou Laboratoire Central d'Hématologie, Groupe Hospitalier Necker-Enfants Malades, 149, rue de Sèvres, 75015 Paris, France. C.Debru, médecine/science ; 12 :491-5.
9. **DE SAINT- VULFRAN N, N.** 2012. Caractérisation des populations enrichies en CSH dans le placenta et le sac vitellin au cours du développement embryonnaire. Biologie cellulaire. (Thèse en ligne) *Université Pierre et Marie Curie- Paris VI.* Paginations multiples.
10. **DÖHNER H.** 2010. Génomique des leucémies aiguës myéloïdes de l'adulte-Hématologie. Université d'Ulm, Allemagne ; 16(n spécial 2) : 9-15.
11. **DÖHNER H, ESTEY EH, AMADORI S et al.** 2010. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults : recommendations from an international expert panel, on behalf of the European Leukemia Net. *Blood* 115: 453-74
12. **DOHNER H, DANIEL J. WEISDORF et al.** 2015. Bloomfield, M.D-Acute Myeloid Leukemia-The New England Journal of Medicine. Paginations multiples.
13. **DOS SANTOS C.** 2008. Activation anormale de la tyrosine kinase Lyn et de la voie PI3K/Akt dans les Leucémies Aiguës Myéloïdes (LAM) et ciblage pharmacologique. (Thèse en ligne) *Université Toulouse III - Paul Sabatier.* Paginations multiples.
14. **DUCASSOU S.** 2016. Mécanismes de la leucémogénèse basophile induite par la transduction X;6 avec fusion MYB-GATA1. Médecine humaine et pathologie. (Thèse en ligne) *Université de Bordeaux.* Paginations multiples.

15. **EVEILLARD M.** 2009. Impact des rearrangements des genes *EVII* et *PRDM16* sur les caractéristiques clinic-morphologiques et pronostiques des leucémies aiguës myéloblastiques. Paginations multiples.
16. **FIEGL M.** 2016. Epidemiology, pathogenesis and etiology of acute leukemia. Paginations multiples.
17. **FOURNEL A.** 2015. Interne des maladies du sang CHRU Besançon Jean Minjoz, leucémie aigüe. Paginations multiples.
18. **GARBAN F.** 2002. Leucémies aiguës. Cours en ligne. Faculté de médecine de Grenoble Alpes. Université Joseph Fourier. Paginations multiples.
19. **GAY-GUERINET J.** 2012. Facteurs de réponse dans les leucémies aiguës myéloblastiques traitées par azacytidine. (Thèse en ligne) *Université du droit et de la santé - LILLE 2 Faculté de Médecine Henri Warembourg*. Paginations multiples.
20. **HATEM. E** 2009. Le tissu sanguin. Faculté de Médecine de Sousse –Tunisie. Paginations multiples.
21. **HAUTE AUTORITE DE SANTE.** 2011. Guide affection de longue durée, Tumeur maligne, affection maligne du tissu lymphatique ou hématopoïétique, Leucémie aigue de l'adulte. Institut national du cancer. Paginations multiples.
22. **HIRSCH P.** 2016. Etude de l'architecture clonale des leucémies aiguës myéloïdes. Application à la mesure de la maladie résiduelle. Médecine humaine et pathologie. (Thèse en ligne) *Université Pierre et Marie Curie - Paris VI*. Paginations multiples.
23. **IBBA O.** 2012. Application de la cytométrie en flux dans les leucémies aiguës. (Thèse en ligne) *Université Mohammed V- Faculté de médecine et de pharmacie- RABAT*. Paginations multiples.
24. **ITZYKSON R.** 2011. Traitement de post-rémission des LAM de NOVO des sujets âgés entre 65 et 70 ans : Comparaison de deux études randomisées du groupe alfa. (Thèse en ligne) *Faculté de Médecine paris Descartes*. Paginations multiples.
25. **JEMAL A, THOMAS A, MURRAY T et al.** 2002. Cancer statistics. *CA Cancer J Clin.* ; 52:23–47.
26. **JOURDAN E, BOISSEL N, CHEVRET S et al.** 2013. Prospective evaluation of gene mutation and minimal residual disease in patients with core binding factor acute myeloid leukemia. *Blood*; 121: 2213-23
27. **KARGER S.** 1995. ISCN, An International system for human cytogenetic nomenclature Basel. P.1-114
28. **KOHLER CH.** 2011. Collège universitaire et hospitalier des histologistes, embryologistes, cytologistes et cytogénéticiens (CHEC). *Université médicale virtuelle francophone*. Paginations multiples.

- 29. LANZ S.** 2011. Un guide de la ligue contre le cancer pour les personnes concernées et leurs proches. Ligue suisse contre le cancer, Berne Les leucémies de l'adulte. Paginations multiples.
- 30. LUQUET I, BIDEAUX A, CUCCUINI W et al.** 2016. Place de la cytogénétique dans la prise en charge des leucémies aiguës myéloïdes : actualisation par le groupe francophone de cytogénétique hématologique(GFCH). *Ann Biol*; 74(5) : 535-46 doi : 10.1684/abc.2016.1155
- 31. MORIKAWA J, LI H, KIM S et al.** 2003. Identification of signature genes by microarray for acute myeloid leukemia without maturation and acute promyelocytic leukemia with t(15;17)(q22;q12)(PML/RAR α). *Int J Oncol*. 23 : 617-25
- 32. NISHII K, USUI E, KATAYAMA N et al.** 2003. Characteristics of t(8;21) acute myeloid leukemia with additional chromosomal abnormality : concomitant trisomy 4 may constitute a distinctive subtype of t(8;21) AML. *Leukemia*. 17: 731-7
- 33. ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE.** 2017. GBD 2015 Risk Factors Collaborators. Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet*. 2016 Oct; 388 (10053): 1659-1724.
- 34. PEDRONO ES.** 2014. Etude des micro-ARNs sériques dans les leucémies aiguës myéloïdes vers une meilleure compréhension épigénétique de la leucémogénèse et une nouvelle approche de l'évaluation pronostique. Médecine humaine et pathologie. (Thèse en ligne) *Université d'Angers*. Paginations multiples.
- 35. PERROT A.** 2009. Caractéristiques cliniques et évolutives des leucémies aiguës myéloïdes à cytogénétique défavorable. (Thèse en ligne) *Université Henri Poincaré, Nancy 1*. Paginations multiples.
- 36. PICOT T.** 2017. Etude des antigènes embryonnaires dans les cellules souches de leucémie aiguë myéloïde, Hématologie. (Thèse en ligne) *Université de Lyon*. Paginations multiples.
- 37. PIEDFER M.** 2012. Identifications de nouvelles cibles pro apoptotiques dans les leucémies aiguës myéloblastiques, médecine humaine et pathologie. (Thèse en ligne) *Université René Descartes-Paris V*. Paginations multiples.
- 38. POLESZCZUK L.** 2015. Apport de l'Immunophénotypage par cytométrie en flux dans la classification morphologique des leucémies aiguës myéloïdes, paginations multiples. Paginations multiples.
- 39. POURCELOT E.** 2015. Homéostasie du fer dans les cellules leucémiques myéloïdes. (Thèse en ligne) *Université Grenoble Alpes*. Paginations multiples.
- 40. RAIDELET L.** 2011. Epidémiologie des leucémies aiguës de patients dromois et ardéchois diagnostiqués au centre hospitalier de valence de 2005 à 2010. Sciences Pharmaceutiques. (Thèse en ligne) *Université Joseph Fourier Faculté de pharmacie de Grenoble* Paginations multiples.

- 41. RENNEVILLE A, ROUMIER C, BIGGIO V et al.** 2008. Cooperating gene in acute myeloid leukemia : a review of the literature. *Leukemia* ; 22 : 915-31
- 42. RIGAL CH.** 2003. Contribution à l'histoire de la recherche médicale : autour des travaux de Jean Bernard et de ses collaborateurs sur les leucémies aiguës, 1940-1970. Philosophie. Université Paris-Diderot_ Paris VII. Paginations multiples.
- 43. SOCIÉTÉ FRANÇAISE D'HEMATOLOGIE.** 2009. La leucémie aiguë Lymphoblastique. Paginations multiples.
- 44. SUJOBERT P.** 2014. Ciblage thérapeutique d'AMPK dans les leucémies aiguës myéloïdes. Hématologie. (Thèse en ligne) *Université René Descartes - Paris V*. Paginations multiples.
- 45. VARDIMAN JW, THIELLA J, ARBER DA et al.** 2009. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia : rationale and important changes. *Blood*. 114: 937-51.
- 46. XAVIER T et BELHARBI A.** 2002. Leucémies aiguës myéloïdes du sujet âgé : mise au point. *Bull Cancer*. 2 : 143-54.
- 47. ZUNIC P.** 2016. Cours, CHU Sud-Réunion-Saint Pierre Hématologie oncologie. Paginations multiples.

Webographie :

1. Atlas of Genetics and cytogenetic in oncology and Hematology. Consulter le 13/06/2018

Annexes

Annexes

Annexe I : classification FAB des LAM (1985) (Boyer, 2016)

| FAB | Morphologie et caractéristiques | Cytochimie | | Immuno-phénotype | Fréquence |
|-----------|---|------------------|-------------|------------------|-----------|
| | | MPO | EST | PAS | |
| M0 | « Leucémie aigue myéloblastique peu différencié », blastes immatures Immunophénotypage nécessaire | <3% | - | Myéloïde | <2% |
| M1 | « Leucémie aigue myéloblastique sans maturation », blastes immatures Immunophénotypage nécessaire | 3-10% | - | - | 20% |
| M2 | « Leucémie aigue myéloblastique avec maturation », 3-20% de promyélocytes souvent avec des corps d'Auer Sous-type « M2 Baso » : avec basophile | >30% | - | - | 30% |
| M3 | « Leucémie aigue promyélocytaire » (LAP), >30% de promyélocytes, corps d'Auer souvent en amas « fagots » Sous-type « M3v » variante microgranulaire : noyau lobulés ou réniformes, des corps d'Auer, parfois des granulations azurophiles, morphologie semblable à celle des blastes monocytoides Analyses cytogénétique et génétique moléculaire nécessaires | +++ -/+ | - | HLA-DR- | 10% |
| M4 | « Leucémie aigue myélomonocytaire ». Semblable à M2, toutefois fraction pro-monocytaire >20% Sous-type « M4E0 »: ≤ 30% d'éosinophile anormaux (noyau type monocyte, granules éosinophiles ou basophiles immatures). Analyses cyto-/moléculaire génétiques nécessaires. | + - + + | + - + | | 30% |
| M5 | « Leucémie aigue monoblastique ». ≥80% des cellules médullaires non | +/- | - | + | 10% |

Annexes

| | | | | |
|-----------|---|-----|---|--------------------|
| | érythroïdes sont des cellules à type de monocyte. Sous-type « M5a » monoblastes immatures, monoblastes « M5b » avec maturation, noyau cérébriforme. | +/- | | |
| M6 | « Erythroleucémie aigue » (Di Guglielmo) ≥50% de cellules médullaires nucléées sont des érythroïdes, ≥30% des cellules non érythroïdes sont des blastes. | - | - | Glycophorine + <5% |
| M7 | « Leucémie aigue mégacaryoblastique » Population de blastes hétérogènes, mégacaryocytes anormaux. Souvent « ponction sèche », Immunophénotypage nécessaire dans ce cas. | +/- | - | CD61+/CD41+ <5% |

Dans tous les types de LAM : ≥ 2 des marqueurs suivants sont positifs : CD 13, CD33, CD65, CD117. La classification FAB est basée sur des critères morphologiques et cytochimiques à quelques exceptions près (M0, M7) il n'y a pas de forte corrélation entre la classification FAB et l'Immunophénotypage. Les marqueurs listés correspondent aux associations fréquentes. MPO : myeloperoxydase, EST : estérase non spécifique (naphtyle acétate estérase), PAS : réaction acide périodique-schiff.

Annexes

Annexe II : classification OMS des LAM (2008) (Pedrono, 2014).

LAM avec anomalies cytogénétiques récurrentes

- LAM avec t(8;21)(q22;q22); réarrangement *RUNX1-RUNX1T1*.
- LAM avec inv(16)(p13.1q22) ou t(16;16)(p13.1;q22); réarrangement *CBFβ-MYH11*.
- LA promyélocytaire avec t(15;17)(q22;q12); réarrangement *PML-RARα*.
- LAM avec t(9;11)(p22;q23); réarrangement *MLLT3-MLL*.
- LAM avec t(6;9)(p23;q34); réarrangement *DEK-NUP214*.
- LAM avec inv(3)(q21q26.2) ou t(3;3)(q21;q26.2); *RPN1-EVII*.
- LAM (mégacaryocytaire) avec t(1;22)(p13;q13); réarrangement *RBM15-MKL1*.
- LAM à pronostic favorable : avec mutations de *NPM1* sans *FLT3*, *CEBPA*
- LAM à pronostic défavorables : avec mutations *FLT3*, *KIT*

LAM avec anomalies associées aux myélodysplasies

- avec syndrome myélodysplasique ou syndrome myéloprolifératif/dysplasique préalable
- avec des anomalies cytogénétiques identiques à celles des myélodysplasies
- avec une dysplasie sur > 50% des cellules d'au moins 2 lignées myéloïdes
- absence de radiothérapie ou chimiothérapie antérieure
- pas d'anomalie cytogénétiques récurrentes

LAM post-chimio ou radiothérapie

- une seule entité quel que soit le traitement (devrait être notée avec l'anomalie cytogénétique associé)

LAM sans spécification particulière

- LAM avec différenciation minime
- LAM sans maturation
- LAM avec maturation
- LA myélomonocytaire
- LA monoblastique ou monocytaire
- LA érythroblastique
- LA mégacaryoblastique
- LAM à composante basophile
- Panmyélose aiguë avec myélofibrose

Sarcome granulocytaire

Proliférations myéloïdes associées à la trisomie 21 constitutionnelle

- Réaction leucémoïde transitoire
- LAM associée à la trisomie 21 constitutionnelle

Tumeur blastique plasmocytoïde dendritique

Annexes

Annexe III : classification OMS 2016 des LAM (Picot, 2017).

| LAM avec anomalies cytogénétiques récurrentes | LAM sans autre spécification par ailleurs |
|--|--|
| LAM t(8;21)(q22 ;q22) ;RUNX1-RUNX1T1 | LA myéloblastique avec différenciation minimale |
| LA promyélocytaire avec PML-RARA | LA myéloblastique sans maturation |
| LAM avec inv(16)(p13.1q22) ou t(16;16)(p13.1q22) ; CBFβ-MYH11 | LA myéloblastique avec maturation |
| LAM avec t(9;11)(p22;q23) ; MLLT3-KMT2A (MLL) | LA myélomonocytaire |
| LAM avec t(6;9)(p23;q34) ; DEK-NUP214 | LA monoblastique/ monocytaire |
| LAM avec inv(3)(q21q26.2) ou t(3;3)(q21;q26.2) ; GATA , MECOM | LA érythroïde pure |
| LAM (megacaryoblastique) avec t(1;22)(p13;q13), RBM15-MKL1 | LA mégacaryoblastique |
| LAM avec mutation NPM1 | LA myéloblastique à composante basophile |
| LAM avec mutation bi-allélique CEBPA | LA avec myélofibrose (panmyélose aigue) |
| LAM avec anomalies associées aux myélodysplasies | Proliférations myéloïdes associées à la trisomie 21 constitutionnelle |
| Soit faisant suite à un syndrome myélodysplasique ou un syndrome myéloprolifératif/dysplasique | Réaction leucémoïde transitoire |
| Soit avec anomalie(s) cytogénétique(s) de syndrome myélodysplasique | LAM associée à la trisomie 21 constitutionnelle |
| Sarcomes granulocytaires | Néoplasies myéloïdes post chimiothérapie |
| Sarcomes myéloïdes de novo sans évidence de maladie médullaire | Correspondent soit à une LAM-t soit un SMD-t |

Annexes

Annexe IV : classification génétique pronostique des LAM selon les critères de l'ELN (European Leukemia Net) (**Luquet I et al., 2016**).

| Groupe génétique | Caractéristiques |
|----------------------|---|
| Favorable | <p>t(8;21)(q22;q22); <i>RUNX1-RUNX1T1</i></p> <p>inv(16)(p13q22) ou t(16;16)(p13;q22); <i>CBFB-MYH11</i></p> <p>Caryotype normal et mutation <i>NPM1</i> et absence de mutation <i>FLT3-ITD</i></p> <p>Caryotype normal et mutation <i>CEBPA</i></p> |
| Intermédiaire | <p>Intermédiaire I :</p> <p>Caryotype normal et mutation <i>NPM1</i> et mutation <i>FLT3-ITD</i></p> <p>Caryotype normal et absence de mutation <i>NPM1</i> et mutation <i>FLT3-ITD</i></p> <p>Caryotype normal et absence de mutation <i>NPM1</i> et absence de mutation <i>FLT3-ITD</i></p> |
| | <p>Intermédiaire II :</p> <p>t(9;11)(p22;q23); <i>MLL-MLLT3</i></p> <p>Toutes les autres anomalies non classées comme favorable ou défavorable</p> |
| Défavorable | <p>inv(3)(q21q26) ou t(3;3)(q21q26); <i>RPN1-MECOM (EVII)</i></p> <p>t(6;9)(p23;q34); <i>DEK-NUP214 (CAN)</i></p> <p>t(v;11)(v;q23)/<i>MLL</i> réarrangé sauf t(9;11)(p22;q23)</p> <p>-5, del(5q); -7; anomalie 17p</p> <p>Caryotype complexe (≥ 3 anomalies)*</p> |

* en l'absence de l'une des translocations ou inversion récurrentes décrites dans la classification OMS : t(15;17), t(8;21), inv(16) ou t(16;16), t(9;11), t(v;11), t(6;9), inv(3) ou t(3;3).

Annexes

Annexe V : les trois grandes catégories de mutations des LAM (Picot, 2017).

| Catégories fonctionnelles | Caractéristiques affectées | Exemples de gènes mutés dans les LAM | Fréquences des patients LAM |
|------------------------------------|---|--|-----------------------------|
| Voies de signalisation | Prolifération anormale et survie tumorale | FLT3, KIT, KRAS, NRAS, sérine/thréonine kinases | 59 |
| Facteurs de transcription | Blocage de la différenciation | PML-RARA, MYH11-CBFB, RUNX1-RUNX1T1, RUNX1 et CEBPA | 20 |
| Modificateurs épigénétiques | Modification de L'environnement | DNMT3A, TET2, IDH1, IDH2, fusion MLL ASXL1, EZH2, NPM1, TP53, WT1, PHF6, SRSF2 U2AF1, STAG2, RAD21, SMC1, SMC3 | 45 |

EZH2 : enhancer of zeste 2 polycomb repressive complex 2 subunit ; PHF6 : PHD finger protein 6 ; SRSF2 : serine/arginine-rich splicing factor 2 ; U2AF1 : U2 small nuclear RNA auxiliary factor 1 ; STAG2 : stromal antigen 2 ; SMC : structural maintenance of chromosomes protein.

Annexes

Annexe VI : tableau représentant les antigènes exprimés à la surface des CSL et des CSH
(les données sont tirées Dos Santos, 2008 ; Picot, 2017).

| Type de cellule | Phénotype |
|---------------------------------------|---|
| Cellule Souche Leucémique | CD34+ CD38- CD19+ CD123+ (chaîne alpha du récepteur à l'IL-3) CD96+ CLL+ (<i>C type lectin-like molecule-1</i>) HLA-DR- Lin- CD71- CD90- CD117- |
| Cellule Souche Hématopoïétique | CD34+ CD38- CD19- HLA-DR- Lin- CD71- CD90+ CD117+ (récepteur c-Kit) |

Annexes

Annexe VII : les anomalies cytogénétiques ayant pour conséquence la production de protéines de fusion dans les leucémies.

(Adapté depuis Gisselbrecht S. *Oncogènes et leucémies : historique et perspectives. Médecine /Sciences. 2003 ; 19 : 201-10).*

| PRODUCTION DES PROTEINE DE FUSION | | | | |
|--|-------------------|--|--|---|
| Type de gène | Translocations | Gènes affectés | Fonction | Types de leucémie |
| Facteurs de transcription et régulateurs transcriptionnels | t(12;21)(p13;q22) | <i>TEL</i> (12p13) <i>AML1</i> (21q22) | Facteur ETS Sous-unité du CBF ou CBF α régulateurs fixant l'ADN (domaine runt) | LAL pro-B |
| | t(8;21)(q22;q22) | <i>AML1</i> (21q22) <i>ETO</i> (8q22) | Sous-unité CBF α du CBF Protéine nucléaire à doigts de zinc | LAM |
| | t(3;21)(q26;q22) | <i>AML1</i> (21q22) <i>EVI1</i> (3q26) | Sous-unité CBF α du CBF Protéine nucléaire à doigts de zinc | LAM secondaires |
| | Inv(16)(p13;q22) | <i>CBFβ</i> (16q22) <i>SMMHC</i> (16p13) | Sous-unité CBF β du CBF Chaîne lourde des chaînes de myosine du muscle lisse | LAM à éosinophiles |
| | t(15;17)(q21;q12) | <i>PML</i> (15q21) <i>RARα</i> (17q12) | Protéine à doigts de zinc de type <i>ring</i> (corps nucléaires) Récepteur α de l'acide rétinoïque | Leucémies aiguës promyélocytaires (LAP) |
| | t(11;17)(q23;q12) | <i>PLZF</i> (11q23) <i>RARα</i> (17q12) | Protéine nucléaire à doigts de zinc Récepteur de l'acide rétinoïque | apparenté aux LAP |
| | t(11;17)(q13;q12) | <i>NuMA</i> (11q13) <i>RARα</i> (17q12) | Protéine de la matrice nucléaire Récepteur de l'acide rétinoïque | apparenté aux LAP |
| | t(5;17)(q35;q12) | <i>NPM</i> (5q35) <i>RARα</i> (17q12) | Nucléophosmine (protéine nucléolaire) Récepteur α de l'acide rétinoïque | apparenté aux LAP |

Annexes

| | | | |
|-------------------|--|---|--|
| t(17;17)(q11;q12) | <i>STAT5B</i> (17q11) <i>RARα</i> (17q12) | Facteur de transcription de la famille STAT Récepteur α de l'acide rétinoïque | apparenté aux LAP |
| t(4;11)(q21;q23) | <i>MLL</i> (11q23) <i>AF4</i> (4q21) | Orthologue du gène <i>Trithorax</i> Activateur transcriptionnel | Leucémies bi-phénotypiques de l'enfant |
| t(6;11)(q27;q23) | <i>MLL</i> (11q23) <i>AF6</i> (6q27) | Orthologue du gène <i>Trithorax</i> Fonction mal connue | LAM myélo-monocytaires et monoblastiques |
| t(9;11)(p22;q23) | <i>MLL</i> (11q23) <i>AF9</i> (9p22) | Orthologue du gène <i>Trithorax</i> Activateur transcriptionnel | LAM myélo-monocytaires et monoblastiques |
| t(11;19)(q23;p13) | <i>MLL</i> (11q23) | Orthologue du gène <i>Trithorax</i> | LAM, LAL B et leucémies bi-phénotypiques de l'enfant |
| t(7;11)(p15;p15) | <i>ENL</i> (19p13) <i>NUP98</i> (11p15) | Activateur transcriptionnel Nucléopore (protéine associée au pore nucléaire) | LAM secondaires |
| t(6;9)(p23;q34) | <i>HOXA9</i> (7p15) <i>DEK</i> (6p23) <i>CAN</i> (9q34) | Facteur de transcription à homéodomaine Facteur de transcription NUP214 (protéine associée au pore nucléaire) | LAM à basophiles |
| t(1;22)(p13;q13) | <i>OTT</i> (1p13) | Protéine nucléaire de la famille Spen | Leucémies aiguës mégacaryocytiques de l'enfant |
| t(16;21)(p11;q22) | <i>MAL</i> (22q13) <i>FUS</i> (16p11) <i>ERG</i> (21q22) | Co-activateur du facteur SRF Protéine se liant à l'ARN Facteur de transcription famille ETS | LAM |

Annexes

Annexe VII : Fiche de renseignement

Patient N° :

Nom :

Prénom :

Sexe :

Age :

Poids et taille :

/ Surface corporelle :

Adresse :

Profession :

Type de leucémie :

Établissement d'hospitalisation :

Service :

Date du diagnostic et motif d'hospitalisation :

Date du prélèvement :

Quantité :

Tube :

Température de transport du prélèvement :

FNS :

Caryotype :

Traitement :

Durée du traitement :

Annexes

Etat du patient :

Rémission complète :

Poursuite évolutive :

Rechute, date de rechute :

***Si autre(s) cancer(s) :**

Diagnostic :

Siège :

Si patient décédé :

Date :

Cause du décès (en clair) :

Présence de cancer(s) dans la famille :

-Leucémie :

-Autre cancer :

Type de cancer :

Présence de maladie génétique dans la famille :

- Impliquant des anomalies cytogénétiques :

- Ne présentant pas d'anomalies cytogénétiques :

- Type de maladie génétique :

Annexes

| ANALYSES BIOLOGIQUES | | | |
|---|------------------------------|--|--------------|
| Examen | Type cellulaire | Valeurs normales | Observations |
| Hémogramme : FNS | WBC | 5,2 - 12,4 10 ³ /μl | |
| | RBC | 4 - 5,5 10 ⁶ /μl | |
| | PLT | 130 - 400 10 ³ /μl | |
| | Hémoglobine (Hb) | 12 - 18 g/dl | |
| | Monocytes | 0.16 - 1x10 ³ /μl (3,4 - 9%) | |
| | Polynucléaires neutrophiles | 1,9 - 8x10 ³ /μl (40 - 74%) | |
| | Polynucléaires éosinophiles | 0 - 0,8x10 ³ /μl (0 - 7%) | |
| | Polynucléaires basophiles | 0 - 0,2x10 ³ /μl (0 - 1.5%) | |
| | Lymphocytes | 0,9 - 5,2x10 ⁹ /μl (19 - 48%) | |
| | VGM | | |
| | CCMH | 33 - 37 g/dl | |
| | VCC | | |
| | TCC | | |
| | Hématocrite | 37 - 52% | |
| | MCV | 80 - 99% | |
| MCH | 27 - 31pg | | |
| Frottis sanguin : Cytologie périphérique | Lignée proliférative | | |
| | Rapport nucléo-cytoplasmique | | |
| | Chromatine | Fine | |
| | | Condensé | |
| | Nucléole | Nombre | |
| | | Aspect | |
| | Contour nucléaire | Régulier | |
| | | Irrégulier | |
| Basophile cytoplasmique | Modérée | | |
| | Importante | | |
| Coloration cytochimique | Noir soudan | | |
| | Peroxydase | | |
| | Granulations azurophiles | | |
| | Granulations lymphocytaire | | |
| Myélogramme | Myéloblastes | 0,1 - 3,5% | |
| | Promyélocytes | 0,5 - 5% | |
| | Métamyélocytes | 10 - 30% | |
| | Myélocytes neutrophiles | 5 - 20% | |
| | Myélocytes éosinophiles | 0,1 - 3% | |
| | Myélocytes basophiles | 0 - 0,05% | |

Annexes

| | | | |
|--|-----------------------------------|------------|--|
| | Polynucléaires neutrophiles | | |
| | Polynucléaires éosinophiles | 0,2 - 3% | |
| | Polynucléaires basophiles | 0 - 0,5% | |
| | Lymphocytes | 5 - 30% | |
| | Proérythroblastes | 0,5 - 3% | |
| | Érythroblastes basophiles | 10 - 30% | |
| | Érythroblastes polychromatophiles | 10 - 30% | |
| | Érythroblastes acidophiles | 10 - 30% | |
| | Plasmocytes | 0,1 - 3,5% | |
| | Monocytes | 0 - 3% | |
| | Mégacaryocytes | ++ | |
| | Conclusion | | |

| | | | |
|-------------------------------------|-------------|--|--|
| CMF (Cytométrie en flux) | CD 34 | | |
| | CD 117 | | |
| | HLA DR | | |
| | | | |
| Biologie moléculaire (Caryotype) | | | |
| Groupage Rhésus-Phénotypé | | | |
| Bilan d'hémostase | TP | | |
| | TCK | | |
| | Fibrinogène | | |
| | CIVD | | |

Annexes

| | | | |
|-----------------|--|---------------------------------|--|
| Bilan rénal | Acide urique | 0,2 – 0,4 g/l | |
| | Créatinine | 5 – 10 mg/l | |
| | Ionogramme : Na ⁺ /K ⁺ | 3,15-3,47 mg/l / 0,15-0.21 mg/l | |
| Bilan hépatique | TGO | < 40 UI /ml | |
| | TGP | < 45 UI /ml | |
| | Phosphatase alcaline | | |
| Bilan cardiaque | ECG | | |
| | FEV | | |
| | Échographie cardiaque | | |
| | Radio du thorax | | |

Bilan pré-thérapeutique

Sérologie virale :

Hépatite B :

Hépatite c :

HIV :

Compte rendu clinique et biologique :

Cytologie :

CMF :

Cytogénétique :

Conclusion générale :

Résumés

Cytogenetic study of Acute Myeloid Leukemia (AML) in the region of Constantine.

Abstract:

Leukemia is a malignant heterogeneous blood disease characterized by a lymphoid and/or myeloid proliferation. Acute Myeloid Leukemia (AML) has a proliferative profile which results in infiltration of bone marrow and blood by proliferative clonal undifferentiated myeloid precursors cells. Such accumulation comes from the existence of leukemic stem cells responsible of resistance to treatments and relapse of the disease. AML represents 80% of AL in adults and 20% in children.

The symptoms are multiple and non-specific, manifesting themselves by clinical signs related to tumor invasion (hypertrophy) and clinical signs related to medullar deficiency (hemorrhage). Morphological analyses, cytochemical and biological tests (myelogram, CBC) are FAB's classification criteria which recognize eight sub-types of AML (M0-M7). However, WHO completed this classification by introducing conventional and molecular cytogenetic analysis in order to give a better diagnosis, prognostic and care.

AML etiology remains unknown and less understood, despite their high incidence which increases with age in adults, many risk factors could be identified while others are just suspected ; such as genetic diseases like Down syndrome that highly increases risks of developing childhood AML.

Conventional and molecular cytogenetic appear to be a mean to characterize many genetic abnormalities (punctual mutation, chromosomal translocation) activating oncogenes or inactivating tumor suppressors. The use of classic cytogenetic analysis "karyotype" allows a correlation between chromosomal abnormalities and AML.

This study tends to show the qualitative contribution of conventional cytogenetic (karyotype) on a medical plan as a tool of treating AML, but also for a better therapeutic approach and a better prognostic.

Keywords: malignant hemopathies, acute myeloid leukemia, cytogenetic.

(AML) التحليل الخلوي الوراثي لسرطان الدم النخاعي الحاد في منطقة قسنطينة.

الملخص:

سرطان الدم النخاعي الحاد (AML) يتميز بطابعه التكاثري مما يؤدي إلى تراكم الخلايا النخاعية الغير متميزة في النخاع وفي الدم . هذا التراكم سببه تواجد خلايا جذعية سرطانية مسؤولة عن مقاومة العلاج وانتكاسة المرض . هذا المرض يصادف عند 20% من المرضى الصغار السن و في 80% عند المسنين .

الأعراض متعددة وغير محددة تتجلى من خلال علامات سريرية متعلقة بغزو الورم (تضخم) وأخرى متعلقة بفشل نخاع العظام (النزيف) . الاختبارات المورفولوجية والكيميائية والبيولوجية تعتبر أساس تصنيف FAB الذي يميز ثمانية أنواع (AML M0-M7). أكملت منظمة الصحة العالمية WHO هذا التصنيف عن طريق إدخال التحليل الخلوي الكلاسيكي والجزئي لتحسين التشخيص والتكهن وكذا لك رعاية أفضل. مسببات AML لا تزال غير معروفة وغير مفهومة على الرغم من نسبة الإصابة المرتفعة عند البالغين. لكن هنالك العديد من العوامل التي حددت، مثل الأمراض الوراثية وأهمها "متلازمة داون" التي تزيد بشكل كبير من خطر ظهور AML عند الأطفال.

لقد أثبت علم الوراثة الخلوية الكلاسيكية والجزئية أنه وسيلة للكشف عن العديد من التعديلات الجينية التي تنشط الجينات الورمية وتثبط الجينات الكابتة للأورام. إن استخدام التحليل الوراثي الخلوي الكلاسيكي وخاصة "النمط النووي" يسمح بالارتباط بين تشوهات الكروموسومات وظهور سرطان الدم النخاعي الحاد.

هدف هذه الدراسة هو إظهار المساهمة النوعية لعلم الوراثة الخلوية الكلاسيكية (النمط النووي) في المجال الطبي كأداة تشخيص أفضل لسرطان الدم النخاعي الحاد ولكن أيضا من أجل نهج علاجي أفضل وتوقعات أفضل.

الكلمات المفتاحية: الأورام الخبيثة في الدم، التحليل الخلوي الوراثي، سرطان الدم النخاعي الحاد.

Année universitaire : 2017 - 2018

**Présenté par : BALOUL Nesrine
LEBSIR Mohamed**

Analyse cytogénétique des Leucémies Aigues Myéloïdes (LAM) dans la région de Constantine.

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Génétique

Les leucémies sont des hémopathies hétérogènes malignes caractérisées par une prolifération des lignées lymphoïdes et/ou myéloïdes. Les LAM se distinguent par leur caractère prolifératif aboutissant à une accumulation de progéniteurs myéloïdes indifférenciés dans la moelle et dans le sang. Cette accumulation proviendrait de l'existence de cellules souches leucémiques responsables de la résistance aux traitements et de la rechute de la maladie. Elles représentent 80% des leucémies aigues de l'adulte et 20% de celles de l'enfant.

Les symptômes sont multiples et non spécifiques, se manifestant par des signes cliniques en rapport avec l'envahissement tumoral (hypertrophie) et des signes cliniques en rapport avec l'insuffisance médullaire (hémorragies). Les analyses morphologiques, cytochimiques et les tests biologiques (myélogrammes, hémogrammes) sont les critères de la classification FAB qui reconnaît huit sous-types de LAM (M0-M7). Cependant l'OMS compléta cette classification par l'introduction de l'analyse cytogénétique classique et moléculaire afin de permettre un meilleur diagnostic, un pronostic et une prise en charge améliorés.

L'étiologie des LAM reste encore inconnue et moins comprise, malgré leur forte incidence chez l'adulte qui a tendance à augmenter avec l'âge. Mais plusieurs facteurs à risques semblent avoir été identifiés alors que d'autres ne sont que suspects. Telles que les maladies génétiques dont la plus importante étant la trisomie 21 qui augmente fortement le risque de développer une LAM chez les enfants.

La cytogénétique classique et moléculaire se sont montrées comme un atout pour la mise en évidence de plusieurs altérations géniques (mutations ponctuelles, translocations chromosomiques) activant des oncogènes et inactivant les gènes suppresseurs de tumeurs. Le recours à l'analyse cytogénétique classique « caryotype » permet une corrélation entre des anomalies chromosomiques et les LAM.

Cette étude tend à montrer l'apport qualitatif de la cytogénétique classique (caryotype) sur le plan médical comme outil de prise en charge des LAM, mais aussi pour une meilleure approche thérapeutique et un meilleur pronostic.

Mots-clés : LAM, Cytogénétique, Caryotype.

Laboratoires de recherche : Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire - UFM Constantine 1.

Président du jury : Pr SATTI Dalila - Professeur - UFM Constantine 1.

Rapporteur : Dr REZGOUN Mohamed Larbi - MC.A - UFM Constantine 1.

Examineur : Dr ZIADA Hadia - MC.B - UFM Constantine 1.