

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث 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 :

**Étude cytogénétique des Leucémies Aigues Lymphoblastiques
(LAL) dans la région de Constantine**

Présenté et soutenu par : BENSALÉM Yasmine
GAMOUEH Assia

Le 09/07/2019

Jury d'évaluation :

Président : SATTA Dalila (Prof - Université des Frères Mentouri, Constantine 1).

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

Examineur : CHELLAT Djalila (MC-A - Université des Frères Mentouri, Constantine 1).

Année universitaire
2018 - 2019

*Au nom de Dieu clément et miséricordieux le plus grand merci
lui revient de nous avoir accordé des connaissances de la
science et de nous avoir aidés à réaliser ce travail et qui, sans sa
miséricorde, ce travail n'aurait abouti.*

À nos patients

Pour leur innocence, leur courage, vous restez à jamais ancrés dans nos cœurs et nos mémoires sachez que tant qu'il ya la vie l'espoir est permis à tous ceux qui souffrent d'hémopathie maligne puisse la science un jour apporte un répit à leurs souffrances.

Remerciements

Une mémoire n'est jamais un travail solitaire, cette œuvre est le fruit d'échange et de collaboration. Nous adressons nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire ainsi qu'à la réussite de cette formidable année universitaire.

*Nos remerciements les plus sincères s'adressent en premier lieu à notre encadreur docteur **REZGOUN ML.***

Nous avons eu la chance de faire partie de vos étudiants et de profiter de l'étendue de votre savoir. Nous ne saurons jamais vous exprimer notre profonde gratitude. Vos remarquables qualités humaines et professionnelles ont toujours suscité notre profonde admiration.

*Au Professeur **SATTA D**, nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant la présidence de notre jury de mémoire.*

*Nous souhaitons aussi adresser nos sincères remerciements au Dr **CHELLAT D** pour sa présence au sein de ce jury et d'avoir accepté de lire, étudier et évaluer ce travail, soyez assurée de nos profond respect et de notre reconnaissance.*

*Nous voudrions également exprimer nos remerciements à madame **NINI A** pour son accueil, et sa sympathie et sa disponibilité malgré les multiples charges professionnelles, puisse ce travail soit à la hauteur de la confiance que vous nous avez accordée.*

*Nous tenons également à remercier docteur **OUSTIL A** pour son accompagnement et sa sollicitude tout au long de notre travail de recherche au service de pédiatrie.*

Dédicaces

J'aimerai dédier ce modeste travail à tous ceux qui me sont chers

À ma très chère maman « Malika »

Celle qui m'a élevé, qui a su partager chaque moment de mon existence. Tu as veillé sur mon éducation et mon bien être avec amour, tendresse, dévouement et perfection.

Tes prières m'ont été d'un grand soutien au cours de ce long parcours.

Tu sais très bien que mon amour et mon respect pour toi sont sans limites, j'espère qu'en ce jour l'un de tes rêves se réalise à travers moi pour sentir le fruit de tes efforts.

Puisse dieu te préserver et faire de moi une fille à la hauteur de ton espérance.

Au meilleur des pères « Abd ellah »

Qui a tout fait pour ce que je ne manque rien et que je sois la meilleur dans mes études. Je te serai cher père reconnaissant toute ma vie pour tout ce que tu m'as donné (de l'amour, le soutien, l'encouragement).

Aucun mot ne saurait exprimer toute ma gratitude et le respect que j'ai pour toi.

Puisse dieu t'accorder santé, bonheur et longue vie pour que ma vie soit illuminée pour toujours.

À mes chers parents « Ghaniya » et « Said »

Qui m'ont donné la vie, Je vous remercie pour tout le soutien, l'encouragement et l'amour que vous me portez. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formules.

Puisse Dieu, le très Haut, vous accorde santé, bonheur et longue vie.

À mes adorables frères et sœurs

Seif eldine, Yasser, Soumia, Meriem, et ma chère jumelle Imene.

À une personne très précieuse à mon cœur, *qui a été toujours à mes côtés, je te prie de trouver dans ce travail l'expression de mon estime et mon sincère attachement.*

À toute ma famille *spécialement mes deux chers oncles Abd el Karim et Ali, mon beau-frère Redouane, ma nièce Alaa et mes petits neveux AbdelRahmen et Tajeddine.*

À mon encadreur « Mr Rezgoun Mohamed Larbi »

Pour le vif intérêt accordé à notre travail à travers son appui et ses conseils, qui nous ont été d'un apport précieux et bienveillant

Je te prie de trouver ici l'expression de ma respectueuse reconnaissance.

À Mme « Nini Anissa» pour l'amabilité de leur accueil qui ne s'est jamais démentie, pour ses encouragements et son implication dans notre partie pratique, ça été un plaisir de te rencontrer et de travaillé avec toi.

À une très belle rencontre que j'ai faite au cours de mon stage «Lina» qui a su nous aider et encourager.

Qu'il me soit permis en définitive, d'exprimer toute ma gratitude à tous les amis spécialement mes meilleures amies « Marwa» pour sa sympathie et sa solidarité envers moi.

« Dallel» et « rania» Pour leurs encouragements, pour leurs sincères amitiés et les moments agréables que nous avons passés ensemble. Veuillez trouver dans ce travail l'expression de mon affection la plus sincère.

Et « yasmine» mon binôme et sœur que je remercie de m'avoir supportée, soutenu, compris, encouragée, merci d'avoir être un très bon ami, et excellent binôme.

GAMOUH Assia

Dédicaces

Du profond de mon cœur, je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chère

À ma très chère mère :

Pour l'affection, la tendresse et l'amour que tu m'as toujours donné, pour le sacrifice et le dévouement dont tu as toujours fait preuve, Pour l'encouragement sans limites que tu ne cesses de manifester.

Aucun mot, aucune phrase ne peut exprimer mes sentiments profonds d'amour, de respect et de reconnaissance.

*Que ce modeste travail soit un début de ma gratitude envers toi.
Puisse le grand puissant te donner bonne santé et longue vie...*

À mon très cher Père

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, et le respect que j'ai pour vous, rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation, pour me chérir, me protéger et me soutenir tant moralement que matériellement pour que je puisse atteindre mon but.

À mes très adorable frères et sœurs

Hacen, Abd El Madjid, Djihene, Amina

À ma grand-mère maternelle Mama Hafiza

Pour son affection, son amour et son humour si unique, tu as toujours cru en moi et encourager tu es un cadeau du ciel.

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 toute ma famille *(spécialement ma tante Mouna et ma cousine Malek pour leurs affections et encouragements.)*

À ma copine « ABIR » *merci pour ton soutien et encouragement.*

À ma copine « DALLEL » *merci pour t'es encouragement et ton soutien, merci d'être une meilleur amie durant ces 4 ans d'amitié.*

Et enfin un grand merci à ma copine adorée « RANIA » merci de partager tant de si bons moments et de créer tant de si bons souvenirs avec moi.

Je te remercie d'être toujours honnête avec moi, et d'être une très bonne amie.

À mon amie « mon binôme Assia » *qui a toujours été à mes côtés et soutenue, merci d'avoir été une très bonne amie, et un excellent binôme.*

À Mme Anissa *qui a su nous mettre à l'aise, et nous faciliter notre travail sans oublier ses encouragements et son implication dans notre pratique.*

À Lyna *qui a su nous encourager et répondre à toutes nos questions.*

Enfin à mon encadreur « Mr REZGOUN Mohamed Larbi »

Comme on le dit le meilleur pour la fin.

C'est un grand honneur de vous avoir comme encadreur.

J'ai eu le grand privilège de compter parmi vos étudiants et je rends hommage à votre sérieux votre humanisme et votre haute compétence.

BENSALEM Yasmine

Abréviations

ADN : Acide Désoxyribo-Nucléique
BCR: Break point Cluster Region
CD :Clustersde Différenciation
CEBP : CCAAT/Enhancer Binding Protein alpha
CHU : Centre Hospitalier Universitaire
CLP : Progéniteurs Communs Lymphoïdes
CMP :Progéniteurs Communs Myéloïdes
CRBt : Centre de Recherches en Biotechnologies
CSH : Cellules Souches Hématopoïétique
EBV : Virus d'Epstein-Barr
EGIL:European Group for the Immunological Characterization of Leukemia
FAB: French American British
FCH : Facteurs de Croissance Hématopoïétiques
FISH : Hybridation *In Situ* en Fluorescence
GM-CSF: Colony Stimulating Factor
GMP :Granulo-Macrophagiques
HLA :Human Leucocyte Antigen
Ig :Immunoglobulines
IL : InterLeukines
ITK : Inhibiteur de Tyrosine Kinase
LAL : Leucémies Aiguës Lymphoblastiques
LAM :Leucémies Aiguës Myéloïdes
LLC :Leucémie Lymphoïde Chronique
LMC : Leucémie Myéloïde Chronique
MEP : Progéniteurs Érythro-Mégacaryocytaires
MGG : May-Grunwald-Giemsa
MLL :Mixed-Lineage Leukemia
MO :Moelle Osseuse
NCI :National Cancer Institute
NOS : Not Otherwise Specified
OMS :Organisation Mondiale de la Santé
PCR : Réaction de Polymérisation en Chaîne
Ph : chromosome Philadelphie
SCF : Stem Cell Factor
TCR :Récepteurs des Cellules T
TK :Tyrosine Kinase
VIH : Virus de l'Immunodéficiência Humaine

Table des matières

Introduction

Page 01

Partie bibliographique

Chapitre I : Système hématopoïétique et lymphopoïèse

I. Généralités sur le tissu sanguin	03
I.1 Le sang	03
I.2 Composition du sang	03
I.2.1 Plasma	03
I.2.2 Les éléments figurés	03
I.3 La moelle osseuse	05
II. L'hématopoïèse	05
II.1 Définition	05
II.2 Les cellules souches hématopoïétiques	06
II.3 Régulation de l'hématopoïèse	07
II.3.1 Microenvironnement médullaires	07
II.3.2 Facteur de croissance	07
II.3.3 Facteur de transcription	08
II.3.4 Vitamines et oligo-éléments	08
III. Leucémogènese	10

Chapitre II : Les LAL : aspects cliniques et biologiques

I. Définition	11
II. Epidémiologie	11
III. Etiopathologie	12
III.1 Facteurs exogènes	12
III.1.1 Facteur physique.....	12
III.1.2 Facteur chimique.....	12
III.1.3 Facteur infectieux.....	13
III.2 Facteur endogènes	13
III.3 Facteur génétique	13
IV. Classification	13
IV.1 Classification FAB.....	13
IV.2 Classification EGIL.....	14
IV.3 Classification OMS.....	14

V. Diagnostic.....	15
V.1 Diagnostic clinique.....	15
V.1.1 Syndrome d'insuffisance médullaire.....	15
V.1.2 Syndrome d'insuffisance tumorale.....	16
V.2 Diagnostic biologique.....	16
V.2.1 Hémogramme.....	17
V.2.2 Myélogramme.....	17
V.2.3 Immuno-phénotypage.....	18
V.2.4 Biopsie ostéo-médullaire.....	18
V.2.5 Etude cytogénétique conventionnel et moléculaire.....	18
VI. Facteur pronostic.....	19
VII. Traitement.....	20
VII.1 Chimiothérapie.....	20
VII.2 Lagreffe de la moelle osseuse.....	21
VII.3 Les thérapeutiques ciblées.....	21

Chapitre III : Génétique et cytogénétique des LAL

I. Mécanisme moléculaire de Leucémogènese lymphoïde.....	22
I.1 Les LAL-B.....	22
I.2 Les LAL à phl	23
I.3 Les LAL T.....	24
II. Les anomalies cytogénétique en causes des LAL.....	26
II.1 Les anomalies de structure récurrentes dans les LAL-B	27
II.2 Les anomalies de structure récurrentes dans les LAL-T.....	27
II.3 Ploïdie et anomalie de nombre.....	28
III. Indication de la cytogénétique dans les LAL.....	30

Partie pratique

Patients et méthodes

I Etude statistique	31
II Etude cytogénétique.....	32
II.1 Patient.....	32
II.2 Matériels et réactifs.....	32
II.2.1 Matériels	32
II.2.2 Réactifs.....	33
II.3 Méthodologie.....	34

Résultats

Résultats et discussions	39
Discussion	58
Conclusion et perspectives	66
Références bibliographiques	69
Résumés	

Liste des figures

Figure 01: Les compartiments de l'hématopoïèse	06
02 : Rôle des facteurs de transcription au cours de l'hématopoïèse	09
03 : Rôle des anomalies génétiques dans la leucémogènese des LAL-B.....	23
04 : Le chromosome Philadelphie	23
05 : Caryotype normal d'un individu de sexe masculin (46,XY) (RHG).....	38
06 : Répartition mensuelle des cas de LAL enregistrés (avril 2016 - avril 2019).....	39
07 : Répartition annuelle des cas de LAL enregistrés (avril 2016 - avril 2019).....	40
08 : Répartition annuelle des cas de LAL pédiatriques enregistrés.....	42
09 : Répartition annuelle des cas de LAL adultes enregistrés.	43
10 : Répartition des cas de LAL par tranche d'âge (tout âge confondus).....	44
11 : Répartition des cas de LAL pédiatriques par tranche d'âge.....	44
12 : Sex-ratio des patients LAL.....	45
13 : Répartition géographique des patients LAL.....	47
14 : Répartition selon la présence ou non d'ATCDF des patients LAL.....	48
15 : Répartition selon la consanguinité des patients LAL.....	49
16 : Type de LAL (tout âge confondu).....	50
17: Type de LAL pédiatriques.	50
18: Type de LAL adultes.....	51

19 : Relation type de LAL/sex-ratio (tout âge confondu).....	52
20 :Relation type de LAL pédiatrique/sex-ratio.....	52
21 : Relation type de LAL adultes/sex-ratio.....	53
22 : Distribution des signes cliniques chez les patients LAL.....	54
23 : Rémission / Rechute des patients LAL (tout âge confondu).....	55
24 :Rémission / Rechute des patients LAL pédiatriques.....	55
25 :Rémission / Rechute des patients LAL adultes.....	56
26 :Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé (Grossissement x100)	59
27 :Caryotype du patient N°06.....	60
28 :Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé (Grossissement x100)	61
29 : Caryotype du patient N°08.....	61
30 :Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé. (Grossissement x100)	62
31 : Caryotype du patient N°09.....	63

Liste des tableaux

Tableau I :Répartition géographique des patients LAL.....	46
II : Profil clinico-biologique des patients LAL en rechute.....	57
III :Caractéristiques clinico-biologiques des patients LAL caryotypés.....	58

La leucémie, du grec *leukos*, (blanc) et *haima* (sang), se définit comme une hémopathie maligne caractérisée par une accumulation incontrôlée de cellules immatures, non différenciées (blastes) de la Moelle Osseuse (MO), du sang périphérique et d'autres organes. La leucémie peut être chronique ou aigüe ; la leucémie chronique est caractérisée par une évolution lente ainsi qu'une prolifération et une accumulation de cellules originaires de la moelle, s'il s'agit des cellules de la ligne myéloïde. 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 sont, quant à elles, constituées des Leucémies Aiguës Lymphoblastiques (LAL) de la lignée B ou T et des Leucémies Aiguës Myéloïdes (LAM). Une leucémie lymphoblastique correspond à une multiplication désordonnée de cellules immatures destinées à donner les lymphocytes (lymphoblastes). C'est une hémopathie maligne ubiquitaire, elle représente le tiers des cancers en milieu pédiatrique. Les principales conséquences des LAL sont l'installation d'un tableau d'insuffisance médullaire pouvant associer une neutropénie fébrile, un syndrome anémique, un syndrome hémorragique et l'apparition d'un syndrome tumoral (**Schmidt, 2015**).

C'est une pathologie qui se rencontre plus fréquemment chez l'enfant, elle présente 80% des leucémies, et 30% des cancers infantiles. Chez l'adulte, elle est moins fréquente, et représente environ 20% des leucémies aiguës mais avec un pronostic plus sévère (**Chalandon et al., 2008**).

Généralement, le diagnostic initial de la LAL est basé sur les conclusions des études cyto-morphologiques du sang périphérique et de la moelle osseuse. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) exige un pourcentage de blastes d'au moins 20% dans la moelle et le sang périphérique pour confirmer le diagnostic de LAL (**Kaid, 2011**). Le taux de survie de cette hémopathie s'est nettement amélioré durant ces dernières décennies et ce grâce aux nouveaux protocoles associant plusieurs chimiothérapies de plus grande efficacité. Ce qui explique qu'actuellement plus de 95% des enfants sont mis en rémission complète et qu'environ 80% d'entre eux sont guéris (**El-Yachkouri, 2014**).

L'analyse cytogénétique conventionnelle des leucémies a révélé un spectre d'anomalies chromosomiques récurrentes, nombre d'entre elles étant associées à différents sous-types et constituent un indicateur diagnostic et pronostique majeur. L'existence d'anomalies récurrentes a ouvert la voie à l'étude moléculaire des régions chromosomiques impliquées. L'identification de nombreux gènes jouant un rôle dans le contrôle de la prolifération, la différenciation et la mort cellulaire a grandement contribué à la compréhension de la pathophysiologie de la leucémie (**Amorin et al., 2015**).

La leucémogénèse requiert probablement plusieurs étapes au cours desquelles se combinent ou s'alternent l'aneuploïdie et les mutations géniques. De nouveaux développements dans l'analyse diagnostique et des progrès dans la compréhension des altérations génétiques générées par les anomalies récurrentes devraient permettre d'identifier de nouveaux facteurs pronostiques et de développer des stratégies thérapeutiques plus efficaces et propres à chaque groupe de patients (**Schwab et Harrison, 2011**).

L'analyse cytogénétique est devenue aujourd'hui un examen indispensable lors du diagnostic d'une LAL. Elle est prise en compte dans les protocoles thérapeutiques en raison de sa valeur diagnostique et pronostique importante (**Baranger et al., 2016**). Malheureusement, cet examen, non disponible au niveau des structures de santé publique du pays, devenu indispensable pour ces patients, est le plus souvent réalisé à l'étranger à des coûts élevés. Ce constat désolant a motivé notre choix de cette thématique de recherche. Nous avons jugé important d'intégrer à l'axe premier de notre recherche qui traite de l'aspect épidémiologique des LAL dans la région, un deuxième axe dans lequel nous allons essayer de mettre au point et d'appliquer des techniques de cytogénétique classique à l'analyse des LAL et ce pour la recherche d'anomalies chromosomiques récurrentes et spécifiques associées à ces hémopathies malignes. Dans ce sens, lors de ce mémoire de Master, nous nous sommes fixés les objectifs suivants :

- Faire une étude statistique au niveau des services de pédiatrie et d'hématologie du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) Benbadis pour contribuer à l'évaluation de l'incidence et du profil épidémiologique des LAL dans la région de Constantine.
- Recueillir les données clinico-biologiques des patients retenus dans notre étude par le biais d'un questionnaire visant également à la prospection de certains facteurs de risque (profession, habitat, habitudes toxiques, antécédents médicaux... etc.). En cas de présence de cancers dans la famille, des arbres généalogiques seront établies.
- Avoir des prélèvements sanguins de patients atteints de LAL en vue de réaliser une étude cytogénétique au niveau du Centre de Recherches en Biotechnologies (CRBt) pour établir le caryotype de ces patients.
- Évaluer, en collaboration avec les médecins cliniciens, l'impact de l'anomalie cytogénétique sur le pronostic ainsi que la réponse thérapeutique du patient.

Partie bibliographique

Chapitre I

Systeme hématopoïétique et lymphopoïèse

I. Généralités sur le tissu sanguin :

I.1 Le sang :

Le sang est un tissu conjonctif liquide, spécialisé, d'origine mésenchymateuse, il est dépourvu de fibres, plus denses que l'eau, et visqueux dû à ses composants chimiques, légèrement alcalin (pH entre 7,35 et 7,45), et de saveur salée. Le sang est de couleur rouge, il reçoit sa couleur de l'hémoglobine, une protéine contenant du fer dont la teinte varie en fonction de son oxygénation (**Elaine, 2008**).

Il se compose de plasma et de divers types de cellules et représente environ 7 à 10% du poids corporel total, ce liquide spécialisé sert à lier des divers organes ; il achemine l'oxygène absorbé par les poumons et les nutriments absorbés par le tractus gastro-intestinal vers les cellules. Il transporte également les déchets, les hormones, les anticorps et d'autres substances (**Paubel *et al.*, 1999 ; Brunner et Suddarth, 2006**).

I.2 Composition du sang :

Le sang est un tissu mésenchymateux spécialisé dont la matrice, le plasma, est liquide. Les cellules constitutives sont appelées les éléments figurés du sang et sont représentés par des cellules nucléées, les leucocytes (globules blancs), et par des cellules anucléées, les hématies (globules rouges) et les plaquettes. Le plasma représente la phase totale liquidienne du sang ; le sérum est cette fraction qui se sépare du caillot après coagulation (**Elaine, 2008**).

I.2.1 Plasma :

De couleur jaunâtre, se compose d'environ 90% d'eau, il constitue la partie liquide du sang et contient plus de 100 solutés, dont des nutriments, des sels (électrolytes), des gaz respiratoires, des hormones, des déchets et des produits du métabolisme cellulaire, des protéines (**Elaine, 2008**). Différentes protéines du plasma participent à l'hémostase, à la défense de l'organisme vis-à-vis des agents infectieux (immunoglobulines) et participent au transport des molécules comme le fer (transferrine) (**Binet, 2003**).

I.2.2 Les éléments figurés (cellules) :

Le sang contient des cellules anucléées, les hématies (également nommées globules rouges ou érythrocytes), des cellules nucléées, les leucocytes (ou globules blancs) et des fragments de cytoplasme, les plaquettes (ou thrombocytes), qui constituent environ 45% du volume du sang total (**Annexe I**) (**Binet, 2003; Elaine, 2008**).

a. Les globules rouges :

Les globules rouges (ou hématies, érythrocytes, normocytes) sont des cellules anucléées, en forme de disque biconcave, d'environ 7,5µm de diamètre, la durée de vie d'un globule rouge varie entre 100 et 120 jours. Elles ne contiennent ni mitochondries ni ribosomes ni réticulum endoplasmique (Köhler, 2011 ; Atul *et al.*, 2003), elles contiennent des enzymes et d'hémoglobine qui donne la couleur rouge au sang et dont la fonction essentielle est de transporter de l'oxygène des poumons aux tissus et du gaz carbonique des tissus vers les poumons (Didier *et al.*, 2001).

b. Les globules blancs :

Les globules blancs (ou leucocytes) sont des cellules du système immunitaire, elles sont présentes dans le sang, la lymphe, les organes lymphoïdes, ainsi que dans plusieurs tissus conjonctifs de l'organisme (Chantal, 2011). On retrouve trois principales classes de leucocytes :

- **Les granulocytes :** ou bien polynucléaires, ils sont répartis en trois catégories selon leurs rôles dans la défense de l'organisme. On distingue les neutrophiles, les basophiles, et les éosinophiles. À l'opposé des autres leucocytes du sang (monocytes et lymphocytes), leurs noyaux sont, plus ou moins polylobés, d'où le nom de polynucléaires (Chantal, 2011).
- **Les monocytes :** sont les plus gros des leucocytes, ils se développent dans la moelle osseuse, puis sont libérés dans le sang, ils se déplacent vers les tissus où ils se différencient en macrophage, une fois parvenus dans les tissus, ils se transforment en macrophagocytes dont la fonction principale est la phagocytose extravasculaire (Brooker, 2001 ; Elaine, 2008). Leur durée de vie est très courte (24 heures), ils représentent 2 à 10% de l'ensemble des globules blancs (Köhler, 2011).
- **Lymphocytes :** ils possèdent un gros noyau violet qui occupe l'essentiel du volume de la cellule et ils ont tendance à se loger dans les tissus lymphoïdes (Harald, 2000). Ils représentent 25% du total des globules blancs, selon leurs fonctions on peut distinguer :
 - **Les lymphocytes B :** proviennent de la moelle osseuse. Ils fabriquent des Immunoglobulines (Ig) nommées anticorps dont ils gardent la mémoire, capables d'en former jusqu'à 5 000 par seconde, et sont responsables de l'immunité dite « humorale » (Joyeux, 2014).
 - **Les lymphocytes T :** sont dits T, car fabriqués par le thymus, glande développée chez l'enfant, située derrière le sternum. Ils sont responsables de l'immunité dite « cellulaire ». On distingue les lymphocytes « tueurs », « sécréteurs », « suppresseurs » et « régulateurs ». C'est dans le thymus que les lymphocytes T deviennent matures (Joyeux, 2014).

c- Plaquettes :

Aussi appelées thrombocytes, elles sont fabriquées par la moelle osseuse. Leurs durées de vie n'excèdent pas plus de 10 à 15 jours et meurent ensuite dans la rate. Elles ne sont pas véritablement des cellules car n'ont pas de noyau. Elles contiennent des substances chimiques actives nécessaires à la coagulation du sang en cas de plaie pour la formation du caillot sanguin (**Joyeux, 2014**).

I.3 La moelle osseuse :

La moelle osseuse est un tissu vivant spécialisé, également d'origine mésenchymateuse, à consistance « onctueuse », situé au centre des os, responsable de la production des différents types des cellules sanguines. C'est un tissu « mou », par conséquent il est protégé par de l'os qui est un tissu dur. Si on rassemblait toute la moelle osseuse chez un adulte, la masse obtenue pèserait 1,6 à 3Kg (**Drouet et Lagrange, 2010**). Il y a deux types de moelle osseuse :

- **La moelle rouge** responsable de la production des hématies, des globules blancs et des plaquettes,
- **La moelle jaune** constituée principalement de cellules adipeuses.

Il y a un certain nombre de vaisseaux sanguins et de capillaires traversant par la moelle lui effectuant un organe très vasculaire. À la naissance et dans la petite enfance, pratiquement toute la moelle est rouge. Avec l'âge, on assiste dans la moelle osseuse à une diminution de la proportion de cellules hématopoïétiques en faveur d'une augmentation de la proportion des adipocytes (**Mandel, 2019**). La moelle osseuse hématopoïétique assure plusieurs fonctions : hématogène (production des cellules du sang), immunologique (c'est un organe lymphoïde primaire, lieu de différenciation et de maturation des lymphocytes B) et ostéogène (assurant la formation, la croissance et le modelage du tissu osseux avec des ostéoblastes et des ostéoclastes) (**Fliedner et al., 2002**).

II. L'hématopoïèse :**II.1 Définition :**

L'hématopoïèse est l'ensemble des phénomènes de différenciation et de maturation cellulaire qui aboutit à la formation des cellules sanguines, elle assure le remplacement continu de différentes cellules sanguines où il y aura un renouvellement de 1% des hématies, 10% des plaquettes et la totalité des granulocytes, elle s'effectue donc à partir de cellules indifférenciées pluripotentes appelées Cellules Souches Hématopoïétique (CSH) (**Benosman, 2010**).

La différenciation des CSH va donner des progéniteurs dits indifférenciés : les Progéniteurs Communs Lymphoïdes (CLP) à l'origine des lymphocytes (NK, T et B) et les Progéniteurs Communs Myéloïdes (CMP). Ces derniers donneront des précurseurs desquels partiront les lignées Granulo-Macrophagiques (GMP), aboutissant aux polynucléaires et macrophages, et les Progéniteurs Érythro-Mégacaryocytaires (MEP) qui donneront les globules rouges et les plaquettes. Ces différentes étapes sont sous le contrôle de voies de signalisations qui peuvent être activées par les cytokines ou facteurs de croissance hématopoïétiques (Cumano et Godin, 2007).

L'homéostasie du système hématopoïétique impose que le nombre de cellules produites dans chaque lignée soit précisément contrôlé en fonction des besoins de l'organisme. L'hématopoïèse est un phénomène qui se produit durant la vie intra utérine, dans le sac vitellin ensuite le foie, et la rate et enfin la moelle osseuse, après la naissance celle-ci se produit exclusivement dans la moelle osseuse (Lacombe, 2006 ; Hirsch, 2016).

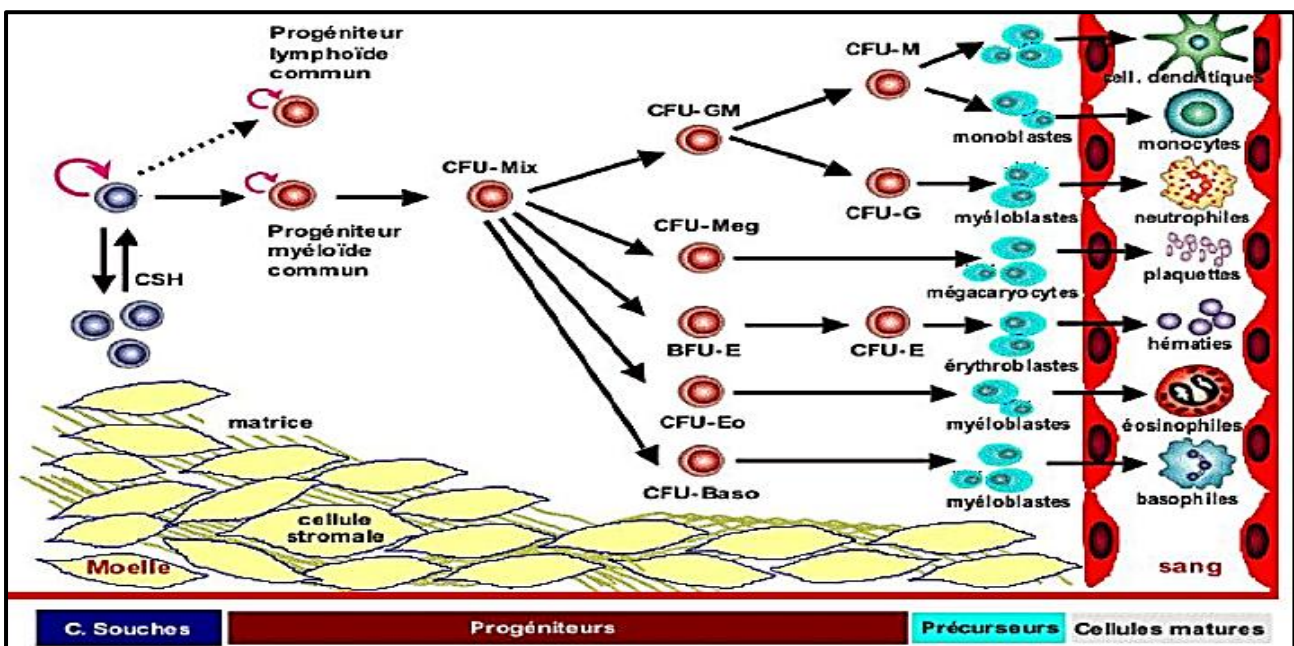


Figure 01 : Les compartiments de l'hématopoïèse (Mauzon, 2011).

II.2 Les cellules souches hématopoïétiques :

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 spécialisées afin de donner toutes les lignées hématopoïétiques (Atul *et al.*, 2003). Les cellules souches maintiennent une hématopoïèse stable, équilibrée, et ce durant toute la vie de l'individu, elles sont minoritaires en nombre (Sébahoun, 2006).

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**), elles se caractérisent par deux propriétés fonctionnelles :

- **L'auto-renouvellement** : les CSH effectuent une division asymétrique pour pouvoir s'auto-renouveler, avec la formation d'une cellule ayant conservé son caractère de cellule souche et d'une cellule qui va entrer dans un processus de prolifération et de différenciation. Ce mécanisme permet d'entretenir un « pool » de cellules souches et de maintenir une réserve constante de CSH primitives (**Giebel et Beckmann, 2007**).
- **La multipotence dite la différenciation** : c'est-à-dire la possibilité de se diviser en s'engageant de façon irréversible vers une ou plusieurs lignées en fonction des différents signaux qu'elles peuvent percevoir : facteurs de croissance, cytokines et apparentées vont induire des facteurs de transcription activant un programme de renouvellement ou de différenciation, la cellule perd alors sa multipotence pour devenir une cellule souche engagée (**Marmier, 2008 ; Muller, 2009**).

II.3 Régulation de l'hématopoïèse :

Afin de garantir une régulation hématopoïétique correcte plusieurs éléments sont mis en jeu tels que les cytokines, les vitamines et des oligoéléments, Cependant, trois éléments importants jouent un rôle primordial :

II.3.1 Microenvironnement médullaires :

C'est une structure tridimensionnelle complexe composée de différents éléments cellulaires (cellules stromales, ostéoblastes et adipocytes), de molécules solubles (facteurs de croissance et/ou chimiokines principalement sécrétées par les cellules stromales) et de molécules insolubles (protéines et enzymes de la matrice extracellulaire, molécules d'adhésion). On assimile le rôle du microenvironnement médullaire à celui d'une niche hématopoïétique indispensable au maintien des cellules souche totipotentes en régulant les équilibres complexes entre survie et apoptose, quiescence et prolifération, auto-renouvellement et différenciation (**Nardi et Alfonso, 1999**).

II.3.2 Facteur de croissance :

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**).

Les Facteurs de Croissance Hématopoïétiques (FCH) peuvent être synthétisés par différents types de cellules comme les cellules endothéliales, les fibroblastes, les macrophages, les lymphocytes. Ces FCH sont des cytokines sauf ceux synthétisés spécifiquement par les lymphocytes que l'on nomme InterLeukines (IL) et qui reconnaissent leurs cellules cibles par l'intermédiaire de récepteurs membranaires. En fonction de leur site d'action au cours de l'hématopoïèse, on peut distinguer 3 types de facteurs de croissance :

- **Les facteurs multipotents :** ils permettent la survie et la différenciation des CSH. Ce sont l'IL3 et le GM-CSF (Colony Stimulating Factor) que l'on retrouve à tous les stades de différenciation de la lignée myéloïde.
- **Les facteurs de promotion :** ils augmentent le nombre de CSH et les sensibilisent à l'action des autres facteurs de croissance. Ce sont principalement l'IL1, l'IL4, l'IL6 et le SCF (Stem Cell Factor).
- **Les facteurs restreints :** ils agissent sur les cellules souches déjà engagées en favorisant la multiplication cellulaire et la maturation des précurseurs. Ce sont le G-CSF, le M-CSF, l'IL4, l'IL5, l'IL6, l'EPO et la TPO (**Binet *et al.*, 2004**).

II.3.3 Facteur de transcription :

Sont des éléments qui vont orienter la réponse cellulaire, en termes d'auto-renouveaulement, de différenciation de prolifération, d'apoptose, de sénescence, de migration ou encore 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. (**Boyer, 2016**). On notera par exemple le rôle clé joué par PU-1 dans le contrôle des fonctions des CSH puisqu'il a été décrit que les CSH *PU-1*^{-/-} présentent une altération de l'auto-renouveaulement et de différenciation initiale vers les progéniteurs immatures lymphoïdes et myéloïdes. De plus, *CEBP α* (CCAAT/Enhancer Binding Protein alpha) qui est impliqué dans la différenciation de la lignée granuleuse est fréquemment inactivé dans les LAM (**Rosenbauber et Tenen, 2007**).

II.3.4 Vitamines et oligo-éléments :

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'Acide Désoxyribo-Nucléique (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 de cet oligoélément, la cellule ne pourra pas avoir une concentration suffisante en hémoglobine nécessaire pour bloquer les divisions cellulaires, engendrant des divisions supplémentaires provoquant l'apparition de cellules plus petites (microcytose) (Zunic, 2016).

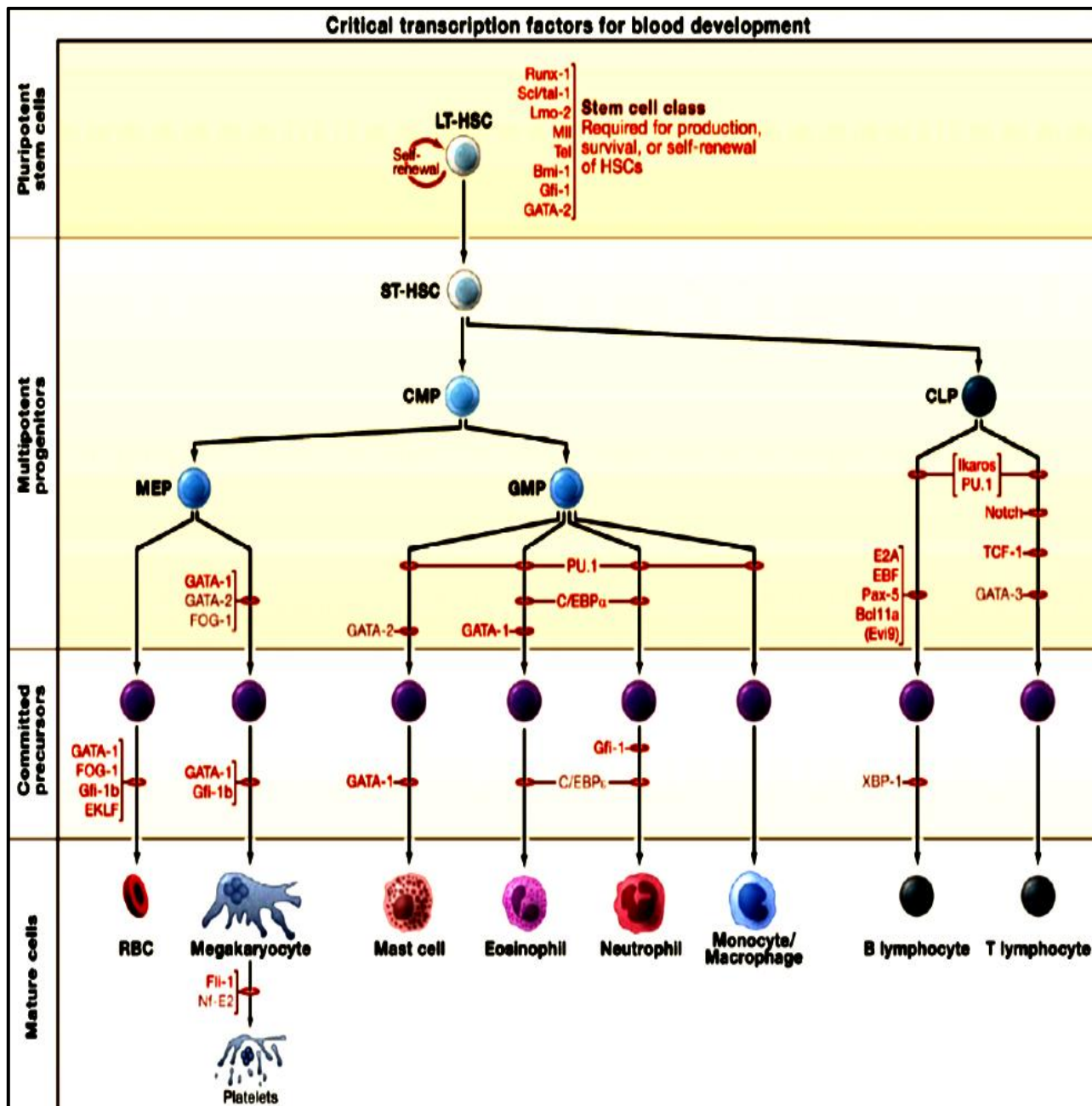


Figure 02 : Rôle des facteurs de transcription au cours de l'hématopoïèse (Orkin et Zon, 2008).

III. Leucémogénèse :

La leucémogénèse est l'ensemble des mécanismes responsables d'une prolifération cellulaire avec blocage de la maturation. Le processus leucémique consiste donc en l'apparition d'un clone cellulaire provenant d'une cellule immature à un moment quelconque de sa différenciation. Le type de leucémie aiguë est ainsi déterminé par l'origine de la lignée cellulaire dont provient le clone et par le degré de différenciation atteint au moment de la transformation maligne. Ces cellules malignes envahissent la moelle osseuse et peuvent passer dans le sang. Elles sont bloquées dans leur différenciation, à la différence des clones cellulaires des syndromes myéloprolifératifs et des syndromes myélodysplasiques, et ne peuvent aboutir à une hématopoïèse normale et efficace. Parallèlement, la diminution de l'hématopoïèse résiduelle définit l'insuffisance médullaire et les cytopénies périphériques conséquentes (**Dick, 2008 ; Lopis, 2009**).

Grâce aux technologies de plus en plus fines de l'étude du génome, il est devenu possible de déceler la totalité des anomalies présentes dans le génome de cellules leucémiques et donc d'apprécier l'importance d'autres événements génétiques dans le processus de la leucémogénèse T (**Mullighan et al., 2007**). Par exemple, au cours de la LAL on a remarqué une région fréquemment amputée du bras court du chromosome 9, qui abrite le gène *PAX5*, un régulateur transcriptionnel de la différenciation lymphoïde B. Une autre étude a montré l'impact décisif de l'activation permanente de la calcineurine, une phosphatase « calcium dépendante », dans l'apparition des LAL-T (**Bories, 2007**).

Bien que les mécanismes moléculaires exacts conduisant à la leucémie restent inconnus, nous savons que certains facteurs, précédemment exposés, peuvent induire la leucémogénèse aux travers d'altérations génétiques (translocations chromosomiques et anomalies génétiques récurrentes). Des anomalies génétiques sont mises en évidence chez 80% des enfants atteints de LAL : elles peuvent concerner la structure et le nombre de chromosomes. Ces anomalies sont acquises par quelques cellules souches (elles ne sont donc pas héréditaires). Ces cellules vont subir leur cycle de vie « normal », vont se multiplier, se différencier, mais cette différenciation s'achèvera à différents stades en fonction de la mutation génétique et du type de leucémie (exemples : LAL progéniteur B, LAL précurseur B) (**Hunger et Mullighan, 2015**).

Chapitre II

Les LAL : Aspects cliniques et biologiques

I. Définition :

La LAL prend naissance dans la moelle osseuse des os plats, tels que le crâne, les côtes, le sternum ou la colonne vertébrale, où sont produits les différents types de cellules sanguines (globules rouges, globules blancs et plaquettes) (**Pui et Evans, 1998**). La LAL est un trouble malin qui provient d'un seul précurseur hématopoïétique à l'origine de la lignée de cellules B ou T. L'acquisition par le précurseur d'une série d'anomalies génétiques perturbe le processus de maturation normale, ce qui conduit à un arrêt de la différenciation et à la prolifération de la cellule transformée. En conséquence, il y a accumulation de cellules de la lignée B immatures ou d'un clone de cellules T dans la moelle osseuse qui entraîne la suppression de l'hématopoïèse normale. Elle peut se développer à n'importe quel âge, mais plus fréquemment chez l'enfant que chez l'adulte (**Graux, 2006**).

II. Épidémiologie :

La LAL a une incidence globale de 1 à 1,5 pour 100 000 personnes. Le pic d'incidences situe entre 4 à 5 ans (4 à 5 cas pour 100 000 personnes), et un autre pic à l'âge de 50 ans (2 cas pour 100 000 personnes) (**Jabbour et al., 2005**). La LAL est la leucémie infantile la plus fréquente, elle représente 80% des leucémies aiguës chez l'enfant et 20% des leucémies chez l'adulte (**Thomas, 2007**). La LAL est rare chez les adultes. Environ 10 000 nouveaux cas sont diagnostiqués chez des adultes chaque année en Europe (**Bassan et al., 2004**). En France, l'incidence est de 3,4 cas pour 100 000 habitants pour les enfants de moins de 15 ans. Il existe environ 400 nouveaux cas par an en France (**Micheli, 2006**).

La LAL est légèrement fréquente chez les garçons que chez les filles (sex-ratio H/F : 1,3/1). Cette prédominance est notée dans presque toutes les tranches d'âge. Aux USA, il y a un pic très net de l'incidence de LAL entre 2 et 4 ans suivi par une baisse pendant l'enfance et l'adolescence. Il y a un pic secondaire au-delà de 60 ans. Les LAL-T arborent un sex-ratio homme/femme de 4:1. Cette incidence chez l'enfant est aussi plus élevée chez le garçon avec un sexe ratio de 3:1. La LAL est plus fréquente chez les patients d'origine européenne et plus rare chez ceux d'origine africaine. Chez les adultes aux États-Unis, l'incidence chez les Blancs est de 1,7 pour 100 000 par rapport à 0,9 pour 100 000 chez les Noirs (**Hourigan et Goldstone, 2011**).

Le pronostic des LAL est meilleur chez l'enfant avec une survie à 5 ans de 90%, alors qu'elle n'est que de 35 à 40% chez l'adulte. On note une amélioration régulière de cette survie dans les pays occidentaux. Les LAL-B sont plus fréquentes et de meilleur pronostic que les LAL-T (**Marc, 2015**).

III. Étio-pathologie :

La prolifération non contrôlée de cellules anormales (les blastes) que l'on observe dans la LAL est, comme dans d'autres cancers, le résultat d'une perturbation des mécanismes de régulation de la croissance cellulaire et de sa différenciation. Ces mécanismes sont régulés par des gènes. L'altération de ces gènes peut conduire à la formation de cancers par des mécanismes que nous ne comprenons qu'en partie. Les raisons pour lesquelles ces altérations des gènes surviennent et entraînent la LAL ne sont que partiellement connues ; mais de nombreux facteurs de risques ont pu être identifiés (**Thomas *et al.*, 2004 ; Chalandon *et al.*, 2008**).

III.1 Facteurs exogènes :

III. 1.1 Facteurs physiques :

Une exposition fœtale ou dans la petite enfance aux radiations ionisantes à forte dose augmente fortement le risque relatif de LAL chez l'enfant, au maximum à 5 ans après l'exposition. Des résultats préliminaires indiquent que le scanner pendant l'enfance augmenterait le risque relatif jusqu'à 3, avec 50 mGy d'irradiation sur la moelle osseuse. Les champs magnétiques à extrêmement basse fréquence augmenteraient le risque à 1,7.

Chez l'adulte, l'exposition aux radiations ionisantes, aux rayons X et à des substances radioactives naturelles (minerais) ou artificielles (générateurs de rayons X), l'exposition lors de l'extraction, traitement et transport de minerais ou des déchets radioactifs en secteur nucléaire, lors de la préparation de substances radioactives (chimiques ou pharmaceutiques), lors de la fabrication, la maintenance et l'utilisation d'appareils de radiodiagnostic et de radiothérapie ainsi que lors de la mesure des substances radioactives et des rayons X utilisés pour l'enseignement et la recherche sont fortement incriminés (**Brugère *et al.*, 2006**).

III. 1.2 Facteurs chimiques :

Le risque leucémogène des chimiothérapies anti-cancéreuses telles que les agents alkylants et les inhibiteurs de topo-isomérase II est reconnu. Le benzène à forte dose est reconnu comme facteur de risque chez l'adulte. Le rôle des solvants organiques autres que le benzène dans la LAL, comme le trichloréthylène, a été largement étudié. Plusieurs études ont montré une faible corrélation entre les pesticides (insecticides, herbicides et fongicides) et les LAL par rapport à d'autres tumeurs malignes hématopoïétiques. Cependant, des études récentes ont suggéré un lien plus fort entre l'exposition de la mère lors de son travail aux pesticides durant la grossesse et la leucémie chez l'enfant (**Dominik *et al.*, 2006**).

III. 1.3 Agents infectieux :

Chez l'homme, deux virus sont impliqués dans les hémopathies lymphoïdes : le Virus d'Epstein-Barr (EBV) dans le lymphome de Burkitt endémique et à la LAL-B mature et l'HTLV-1 pour des LAL-T touchant les jeunes adultes. Le rôle du Virus de l'Immunodéficience Humaine (VIH) a été aussi reconnu dans les LAL-B matures (**Valensi, 2003**).

III.2 Facteurs endogènes :

III. 2.1 Facteurs génétiques :

La principale anomalie caryotypique est la trisomie 21 qui multiplie par 15 à 40 le risque d'atteinte leucémique par rapport à un enfant indemne, ce risque est encore plus important au cours de la première année de vie. Le risque de leucémie chez un jumeau lorsque l'autre est atteint est en moyenne de l'ordre de 25%. Des études ont montré que l'augmentation du risque était due à la transmission des clones leucémiques d'un jumeau à l'autre par voie transplacentaire. Les maladies génétiques des systèmes de réparation de l'ADN (syndromes de Bloom, Anémie de Fanconi, ataxie télangiectasie) sont fortement liées au risque de leucémie. Ce risque est également augmenté dans certains déficits immunitaires, comme le syndrome de Wiscott-Aldrich, la neurofibromatose de Recklinghausen (**Delphine et al., 2001**).

Il existe une susceptibilité génétique au développement d'une LAL : des études ont retrouvé certains polymorphismes associés à une augmentation du risque de LAL. Les polymorphismes les plus fréquents sont situés sur les gènes *ARID5B*, *CDKN2A*, *GATA3*. Le risque relatif est d'environ 3 (**Mullighan, 2012**).

VI. Classification :

Il existe actuellement trois types de classifications pour les LAL, établies selon la chronologie suivante : la classification FAB (French American British), la classification EGIL (European Group for the Immunological Characterization of Leukemia) ainsi que la classification OMS.

VI.1 La classification FAB :

La classification morphologique du groupe FAB distingue trois types de LAL (L1, L2 et L3) en fonction de la taille des cellules, du cytoplasme, des nucléoles, de la basophilie du cytoplasme et de la présence de vacuoles Cette classification est de moins en moins utilisée (**Annexe II**) (**Thomas, 2007**).

VI.2 La classification EGIL :

Une seconde approche de la classification des LAL est fondée sur leurs caractéristiques phénotypiques dues à des « Clusters » de Différenciation (CD) retrouvés à la surface des cellules leucémiques. La classification EGIL est basée sur les critères immuno-phénotypiques établis par cytométrie en flux de marqueurs cellulaires membranaires. Largement utilisée aujourd'hui, elle reconnaît quatre sous-groupes au sein des LAL-B et quatre sous-groupes au sein des LAL-T (Annexe III) (Thomas, 2007 ; Baranger *et al.*, 2016).

VI.3 Classification OMS :

C'est la classification la plus utilisée. Elle introduit les anomalies génétiques ainsi que les caractéristiques cytologiques et cytochimiques retrouvées sur les blastes (CD). Ces CD sont classés et appartiennent soit à la lignée T soit à la lignée B, ce qui permet de déterminer le type de LAL. Selon la classification de l'OMS, révisée en 2008, les LAL sont divisées en LAL-T et LAL-B, en fonction de la lignée lymphoïde affectée. Les LAL-B sont subdivisées en fonction de l'anomalie cytogénétique rencontrée. Dans les LAL-T, malgré la diversité des anomalies cytogénétiques, l'absence de différences clinico-biologiques a amené l'OMS à ne pas les subdiviser (Swerdlow *et al.*, 2008).

VI.3.1 Leucémie lymphoblastique aiguë de type B :

Selon la classification de l'OMS de 2008, les LAL-B sont divisées en 2 groupes :

- Les LAL-B associées à des anomalies génétiques récurrentes,
- Les LAL-B non associées à des anomalies génétiques récurrentes.

Dans le premier groupe, on retrouve les anomalies suivantes :

- La t(9;22)(q34;q11.2) conduisant à la formation du gène de fusion *BCR-ABL1*,
- Les translocations impliquant un réarrangement de *MLL* (11q23), principalement la t(4;11)(q21;q23) et la t(11;19)(q23;p13.3),
- t(12;21)(p13;q22) conduisant à la fusion *ETV6-RUNX1*,
- L'hyperploïdie, soit un nombre de chromosomes compris entre 51-57,
- L'hypoploïdie, soit un nombre de chromosomes inférieur à 45,
- La t(5;14)(q31;q32) *IL3-IGH* conduisant à la surexpression d'*IL3*,
- La t(1;19)(q23;p13.3) entraînant la fusion *TCF3-PBX1* (Hunger et Mullighan, 2015).

Le deuxième groupe rassemble les LAL-B non associées à des anomalies génétiques récurrentes. Les critères de classification non génétiques (critères immuno-phénotypiques) seraient alors utiles pour identifier l'appartenance des blastes à la lignée lymphocytaire B (**Hunger et Mullighan, 2015**).

VI.3.2 Leucémie lymphoblastique aiguë de type T :

Selon la classification de l'OMS de 2008, les LAL-T ne sont pas divisées selon les facteurs génétiques car ceux-ci ne sont pas clairement associés à des caractéristiques biologiques uniques des LAL-T. L'immunophénotype identifie et classe alors les blastes dans la lignée lymphocytaire T.

Les anomalies les plus récurrentes dans ce groupe sont les translocations impliquant les locus α et δ des Récepteurs des Cellules T (TCR) en 14q11.2, le locus β en 7q35 et le locus γ en 7p14-15 avec une liste étendue de partenaires. Ces translocations entraînent la surexpression des gènes partenaires, majoritairement des facteurs de transcription (**Cools, 2010**).

V. Diagnostic :

À côté de l'altération de l'état général qui se voit fréquemment dans la LAL, avec une fièvre dans 25% des cas au diagnostic, l'expression clinique de la maladie se résume en deux types de signes : ceux qui sont liés à l'insuffisance médullaire et ceux qui sont liés à la prolifération tumorale (**Hoffbrand, 2018**).

V.1 Diagnostic clinique :

Le diagnostic positif pose de grandes difficultés. Il est évoqué cliniquement chez tout patient présentant, un malaise, une douleur osseuse, une fièvre, une pâleur, une angine ou une ulcération des muqueuses, du purpura, des adénopathies et une splénomégalie. La symptomatologie clinique est très polymorphe, parfois très riche, parfois très réduite. Elle est représentée par des signes d'insuffisance médullaire traduisant le retentissement de la prolifération tumorale sur les lignées myéloïdes et lymphoïdes normales, et par des manifestations tumorales traduisant l'infiltration leucémique des organes hématopoïétiques et, éventuellement, d'autres organes (**Sébahoun, 2006**).

V.1.1 Syndrome d'insuffisance médullaire :

a- Syndrome anémique :

L'anémie peut s'exprimer par une pâleur, une asthénie, une dyspnée d'effort, voire de repos, des vertiges, des palpitations, des crises d'angor et par un souffle systolique fonctionnel à l'auscultation. Elle est très fréquente et de profondeur variable (**Kaid, 2011 ; Coster, 2018**).

b- Syndrome hémorragique :

La thrombopénie (< 20 G/L chez 25% des patients) peut être responsable en dessous d'un certain seuil, de purpura, d'ecchymoses (en particulier aux points de ponction veineuse), de saignements muqueux, d'épistaxis ou de gingivorragie. Un tableau hémorragique est présent chez environ 50% des patients porteurs d'une LAL. Il peut menacer la vie lorsqu'il concerne le tractus digestif, les poumons, l'appareil génito-urinaire ou le système nerveux central (**Kaid, 2011**).

c- Syndrome infectieux :

La neutropénie explique la grande fréquence des infections, se traduisant souvent par une fièvre avec ou sans foyer cliniquement décelable, ainsi que la non-régression sous antibiothérapie. Si la fièvre n'est pas de cause infectieuse, mais spécifique de l'hémopathie, elle disparaît après engagement de la chimiothérapie. Les sites de l'infection les plus fréquents sont la bouche (mucites), la sphère oto-rhino-laryngologique (angines, ulcéro-nécrotiques), la peau (abcès), la région périnéale et les poumons (**Kaid, 2011**).

V.1.2 Syndrome d'insuffisance tumorale :

Un syndrome tumoral est également fréquent par envahissement des organes hématopoïétiques, se traduisant par une splénomégalie et la présence d'adénopathies. Un syndrome de leucostase peut survenir en cas de très forte hyperleucocytose, à des taux dépassant 100 G/L. Les patients présentent alors au niveau pulmonaire une hypoxie, voire une détresse respiratoire, et au niveau cérébral des troubles de la conscience allant jusqu'au coma. L'envahissement de l'espace méningé par les cellules malignes a un impact pronostic péjoratif majeur et la symptomatologie est à type de céphalées et de paralysie des nerfs crâniens. Chez les hommes et les garçons, un envahissement testiculaire est également possible. Enfin, des localisations osseuses, prédominantes aux diaphyses proximales sont principalement retrouvées chez les enfants et sont responsables de douleurs (**Coster, 2018**).

V.2 Diagnostic biologique :

Il est biologiquement évoqué devant une anémie normocytaire normochrome arégénérative, une thrombopénie, la présence de leucocytes anormaux dans le sang. Devant ces signes, un myélogramme pratiqué apportera la confirmation du diagnostic (**Sébahoun, 2006 ; Hoffbrand, 2018**).

V.2.1 Hémogramme :

L'hémogramme, se définit comme l'analyse quantitative et qualitative des éléments figurés du sang ; c'est la première étape dans le diagnostic de LAL. Son aspect est conditionné par l'insuffisance de l'hématopoïèse normale résiduelle et la présence éventuelle de cellules leucémiques circulantes. Il oriente le diagnostic avec une anémie normochrome normocytaire arégénérative constante, d'intensité variable le plus souvent inférieure à 8g/dl, rarement isolée. On constate chez au moins 75% de ces patients une hyperleucocytose, une anémie et une thrombopénie (**Sébahoun, 2006 ; Hoffbrand, 2018**).

La leucocytose est variable, si une neutropénie est plus souvent retrouvée, le nombre de blastes sanguins peut varier de quelques dizaines à plusieurs centaines de milliers par μl . La formule leucocytaire montre la présence de cellules blastiques circulantes, en proportion d'autant plus importante que la leucocytose est élevée. Il n'y a pas de formes intermédiaires entre les blastes et les polynucléaires (hiatus leucémique). On définit aussi les formes hyper-leucocytaires souvent très blastiques, et les formes leucopéniques parfois visibles à la formule leucocytaire qui ne doit pas empêcher la réalisation du myélogramme. La thrombopénie est fréquente, dans 90% des cas, d'intensité variable (**Paillassa, 2017**). L'analyse du type cytologique des cellules blastiques permet de distinguer les deux grandes variétés de LA : les LAM et les LAL. Le caractère lymphoïde de la leucémie est affirmé par l'absence de granulations cytoplasmiques et par l'analyse cytochimique retrouvant une négativité de la réaction des peroxydases dans le cytoplasme (caractérisant la lignée myéloïde) (**Hoffbrand, 2018**).

V.2.2 Myélogramme :

La ponction médullaire permet l'étude morphologique des cellules médullaires sur étalements, après une coloration classique de type May-Grunwald-Giemsa (MGG). Les étalements peuvent être réalisés selon deux techniques principales : le frottis ou l'écrasement d'un grain de moelle (**Sébahoun, 2006 ; Hoffbrand, 2018**).

Le myélogramme est indispensable au diagnostic même en cas de présence de cellules blastiques circulantes. Il permet d'affirmer la leucémie aigüe par la présence de plus de 20 ou 25% de cellules blastiques sur le frottis. Le prélèvement permet une analyse morphologique effectuée après coloration de MGG complétée par une étude cytochimique. La nature lymphoblastique de la leucémie aigüe est en règle facilement établie par l'étude cytologique et enzymatique. La ponction médullaire permet d'obtenir des échantillons de moelle en plus grande quantité afin d'effectuer d'autres types d'examen (caryotype et immuno-phénotypage) (**Sébahoun, 2006 ; Hoffbrand, 2018**).

V.2.3 Immuno-phénotypage :

L'immuno-phénotypage est un examen essentiel dans la classification de la LAL. Il est réalisé sur un prélèvement de moelle osseuse ou, à défaut, sur du sang si la blastose sanguine est suffisante. Il permet la distinction entre lymphoblastes et blastes myéloïdes via l'utilisation d'anticorps marqués ciblant des antigènes de surface ou intra-cytoplasmiques des cellules (**Bene et al., 1995**).

L'immuno-phénotypage est une analyse majeure pour différencier les LAL et les LAM lorsque l'analyse morphologique ne permet pas de trancher. Il permet également de différencier les LAL-B et les LAL-T. Toutes les LAL-B ont au moins deux des trois antigènes suivants : CD19, CD22 (de surface ou cytoplasmique) et CD79a cytoplasmique. Les autres marqueurs lymphoïdes, CD10, chaîne μ intra-cytoplasmique et immunoglobulines de surface, permettent de classer la LAL selon la classification de l'EGIL. Elle reprend les stades normaux de maturation des cellules lymphoïdes dans la moelle osseuse et le thymus, de B-I le plus immature, à B-IV le plus mature. La LAL-B-II, également appelée LAL-B commune est la plus fréquente (**Paillassa, 2017**).

L'immuno-phénotypage recherche par cytométrie de flux l'expression de divers antigènes de différenciation membranaires ou intra-cytoplasmiques pour établir le bon diagnostic et définir la lignée des cellules leucémiques (**Paillassa, 2017**).

V.2.4 Biopsie ostéo-médullaire :

Le diagnostic des LAL est généralement basé sur les études morphologiques et immuno-phénotypiques du sang périphérique et de la moelle osseuse. L'examen histologique à partir d'une biopsie ostéo-médullaire n'est généralement pratiqué que dans les formes associées à une fibrose médullaire ou en cas d'insuffisance du nombre de cellules sur le frottis médullaire, ou en cas d'échec du prélèvement médullaire par aspiration du myélogramme (**Sébahoun, 2006 ; Hoffbrand, 2018**).

V.2.5 Étude cytogénétique conventionnelle et moléculaire :

L'analyse cytogénétique de la LAL chez chaque patient est devenue un élément essentiel du diagnostic avant l'instauration du traitement. Les anomalies chromosomiques clonales sont retrouvées chez 70% des adultes atteints de LAL. Elles ont une valeur pronostique indépendante qui rend le caryotype indispensable avant la mise en route du traitement car il conditionne la thérapeutique. Le caryotype révèle toutes les aberrations reconnaissables au microscope qui surviennent simultanément dans les cellules leucémiques indépendamment du fait que ces aberrations sont numériques ou structurelles (**Baranger et al., 2016**).

Bien qu'il s'agisse d'un examen indispensable, le caryotype est parfois mis en défaut. Les techniques d'Hybridation *In Situ* en Fluorescence (FISH) sont alors très utiles pour compléter le caryotype conventionnel. Ces techniques se sont développées depuis des années grâce à la disponibilité de sondes moléculaires marquées ou révélées par un ou plusieurs fluorochromes qui s'hybrident sur les séquences homologues dans les chromosomes (FISH sur métaphase) et les noyaux (cytogénétique interphasique). La détection des signaux spécifiques se fait au microscope à fluorescence équipé de filtres spécifiques de chacun des fluorochromes employés et le plus souvent couplé à une caméra et un logiciel d'analyses d'images (Mullighan, 2017).

La biologie moléculaire, essentiellement par la technique de Réaction de Polymérisation en Chaîne (PCR) est la méthode la plus sensible et rapide pour détecter les réarrangements géniques clonaux. Cette technique permet de détecter les transcrits de fusion au niveau moléculaire lorsqu'il existe une translocation récurrente et (ou) le réarrangement des gènes des Ig (LAL-B) ou des gènes du récepteur T pour l'Ag (LAL-T) spécifiques du clone malin. La technique de PCR quantitative permet de suivre l'évolution de la masse leucémique résiduelle sous traitement. La persistance d'un réarrangement spécifique du clone malin détectable en fin de traitement, ou l'augmentation du signal en PCR quantitative sont des facteurs prédictifs de rechute (Schwab et Harrison, 2011).

VI. Facteurs pronostics :

En 1993, le National Cancer Institute (NCI) a essayé définir des facteurs pronostics uniformes pour les LAL pouvant être utilisés dans des études futures. L'analyse rétrospective des données cliniques, cytologiques, immunologiques et cytogénétiques a permis de compléter ces facteurs pronostics, permettant d'adapter l'intensité des traitements. Ces nombreux facteurs pronostics sont souvent associés entre eux. L'intensité du traitement efface cependant certains facteurs pronostics (Jaso *et al.*, 2011). Plusieurs facteurs pronostics sont à considérer :

- **L'âge** : les LAL de l'enfant ont globalement un meilleur pronostic.
- **Le sexe** : l'incidence de LAL est plus élevée chez les mâles que chez les femelles, quel que soit l'âge. Cependant, non seulement il y a une différence d'incidence entre les hommes et les femmes, mais le pronostic de la LAL peut aussi dépendre du sexe. Cette différence devient encore plus évidente après les deux premières années de traitement.
- **L'hyperleucocytose** : reflet de la masse tumorale, elle constitue un facteur de mauvais pronostic. Une leucocytose initiale supérieure à 5 G/L est souvent associée à des rechutes.

- **La cytogénétique** : les LAL avec translocation t(9;22), ou avec transcrite BCR/ABL, sont les formes ayant le pronostic le plus péjoratif. Il s'agit généralement de LAL-B. L'association à une hyperdiploïdie supérieure à 50 chromosomes, de même que l'absence d'anomalies chromosomiques supplémentaires (monosomie 7, anomalies 9q) sont considérées comme de meilleur pronostic. La monosomie 7 et les anomalies du chromosome 9 confèrent généralement un plus mauvais pronostic. La LAL avec translocation t(4;11)(q21;q23) et t(1;19), ont également un très mauvais pronostic (**Kaid, 2011; Moueden, 2018**).

La survie de l'enfant de moins de 15 ans s'est considérablement améliorée : de moins de 10% au début des années 60 à environ 75% à la fin des années 90. Malheureusement, le pronostic demeure sombre dans les pays pauvres, où près de 80% des enfants vivent (**Jaso et al., 2011**).

VII. Traitement :

La reconnaissance du caractère hétérogène de la LAL a permis d'utiliser des traitements ciblés selon le phénotype, le génotype et le pronostic. Aussi, de nombreux facteurs affectent le choix et le résultat du traitement incluant le sous-type de LAL, le dénombrement de cellules leucémiques dans le sang, l'immunophénotype, le caryotype, les antécédents du patient, l'atteinte du système nerveux central, l'âge et la santé du patient. Le traitement standard de la LAL consiste en une chimiothérapie intensive en commençant par une induction suivie par des cycles de consolidation et un long traitement d'entretien jusqu'à une durée totale de deux ans et demie. La greffe de cellules souches fait partie du traitement de consolidation dans la plupart des essais (**Kaid, 2011 ; Durrieu, 2013**).

VII.1. Chimiothérapie :

VII.1.1. Traitement d'induction :

La phase initiale de la chimiothérapie est appelée induction. Les drogues spécifiques, les doses utilisées et la durée de leur administration, dépendent sur plusieurs facteurs incluant l'âge du patient, les caractéristiques spécifiques de la LAL et la santé du patient. La sévérité de la maladie et les effets secondaires de la thérapie rendent nécessaire une hospitalisation du patient entre quatre et six semaines. L'objectif du traitement d'induction est donc d'éradiquer plus de 99% du nombre initial de cellules leucémiques, et de restaurer une hématopoïèse et une forme physique normale. Dans la plupart des centres, ce traitement d'induction consiste en l'administration d'une chimiothérapie, c'est-à-dire à l'utilisation d'une combinaison de plusieurs médicaments qui vise à tuer les cellules cancéreuses ou du moins à bloquer leur croissance (**Durrieu, 2013**).

VII.1.2 Traitement de consolidation et d'entretien :

Même lorsqu'un patient est en rémission, il subsiste toujours quelques cellules leucémiques qui ne pourront être détectées par les analyses habituelles. De ce fait, d'autres traitements, à savoir le traitement de consolidation et le traitement d'entretien, sont nécessaires pour éradiquer les cellules leucémiques et éviter les rechutes. Quand l'hématopoïèse est revenue à la normale, les patients en rémission reçoivent un traitement de consolidation. Ce traitement est administré en cycles de quatre à six mois. De plus, les patients avec une LAL doivent généralement recevoir une thérapie d'entretien pour des raisons qui sont encore mal comprises. Cette thérapie d'entretien s'étend sur une période de deux ans. Les médicaments utilisés pendant ces deux phases sont en général différents de ceux utilisés lors du traitement d'induction (**Durrieu, 2013**).

VII.2 La greffe de la moelle osseuse :

Elle est généralement réalisée après une rechute et lorsque le malade est en deuxième rémission. On peut alors faire une allogreffe, à partir d'un membre de la famille compatible ou à partir d'un donneur Human Leucocyte Antigen (HLA) compatible. On peut aussi pratiquer une autogreffe en prélevant la moelle lors de la rémission. Cette moelle est alors traitée ou non avant d'être réinjectée au patient. Il est aussi possible, dans certain cas, de réaliser une greffe de la moelle à la première rémission ce qui donne de meilleurs résultats qu'à la deuxième (**Tilly, 2003**).

VII.3 Les thérapeutiques ciblées :

Le traitement ciblé est un type de traitement qui a recours à des médicaments pour cibler des molécules spécifiques qui participent à la croissance des cellules cancéreuses, tout en limitant les dommages aux cellules normales, Il est possible d'administrer le traitement ciblé comme traitement principal ou bien à n'importe quelle phase du traitement. Ce traitement est utile si les cellules de la LAL (Ph+), et également pour les cellules présentant une LAL à précurseurs B (Ph-). L'imatinib mésylate est aujourd'hui incorporé systématiquement dans le traitement des LAL à chromosome Philadelphie. Les inhibiteurs de seconde génération (nilotinib et dasatinib) sont en cours d'investigation pour les patients résistants à l'imatinib (**Thomas, 2007**).

Sur le modèle des LAL-B agressives, le groupe allemand GMALL a testé l'adjonction de rituximab, un anticorps monoclonal anti-CD 20, à un protocole de chimiothérapie conventionnelle chez les patients LAL B Ph1- CD20+. Les taux de rémissions étaient comparables entre les patients ayant reçu ou non l'anticorps, cependant chez les patients ayant reçu le rituximab, le taux de rémission moléculaire était augmenté et cette rémission moléculaire était atteinte plus rapidement, ce qui se traduisait par un taux de rechute diminué (**Beckerich, 2017**).

Chapitre III

Génétique et cytogénétique des LAL

I. Mécanismes moléculaires de la leucémogénese lymphoïde :

La genèse des LAL réside dans la dérégulation de l'homéostasie hématopoïétique menant à un blocage de la maturation des précurseurs hématopoïétiques avec expansion clonale. Ce dysfonctionnement peut être dû à une expression incorrecte ou à des altérations de gènes suite à des mutations ponctuelles, des anomalies chromosomiques et/ou des modifications épigénétiques. Ces altérations génétiques acquises concernent des oncogènes et des gènes suppresseurs de tumeurs. Elles donnent souvent lieu à un avantage prolifératif et impliquent en général des gènes intervenant dans la survie, la croissance cellulaire et/ou l'apoptose (**Schwab et Harrison, 2011**) (**Annexe IV**).

La LAL est une hémopathie maligne complexe résultant de l'effet de plusieurs gènes dont l'action est tempérée par des facteurs externes qui modifient le risque de développer la maladie. La plupart des études d'épidémiologie génétique concernent les leucémies de l'enfant. Malgré de nombreux efforts, la pathogenèse de la LAL reste mal comprise de même que les bases génétiques qui expliquent la vulnérabilité de ceux qui en sont victimes (**Amorin et al., 2015**).

I.1. Les LAL-B :

Plus d'une centaine d'anomalies génétiques codant des protéines aux fonctions très diverses y sont décrites dans les LAL-B. Un grand nombre de ces anomalies impliquent des facteurs de transcription tel que *PAX5*, des co-activateurs ou co-répresseurs transcriptionnels comme *ETV6*, des tyrosines kinases comme *Kit* ou *PDGFR*, des protéines intervenant dans le contrôle du cycle cellulaire ou des protéines anti-apoptotiques. Aussi, les réarrangements chromosomiques peuvent aboutir à des activations oncogéniques, des activations constitutives de tyrosines kinases ou des perturbations de gènes impliqués dans la lymphopoïèse. Cependant, ces altérations n'entraînent pas à elles seules la transformation leucémique. La leucémogénese est induite par l'association aux mutations génétiques primaires, d'altérations additionnelles de natures et de fréquences très diverses. Par exemple, les LAL avec un réarrangement *MLL* (Mixed-Lineage Leukemia) portent en moyenne une seule mutation additionnelle alors que les LAL avec une translocation *ETV6-RUNX1* présentent 6 à 8 altérations additionnelles. Des réarrangements chromosomiques sont probablement acquis très tôt dans la leucémogénese et conduisent à une dérégulation transcriptionnelle et épigénétique et à un renouvellement cellulaire anormal. Des altérations génétiques secondaires perturbent le développement lymphoïde aboutissant à un blocage de la maturation. Ces événements conduisent à l'établissement et à la prolifération d'un clone leucémique. Des changements génétiques dans des clones mineurs présents au diagnostic peuvent conférer la résistance à la chimiothérapie et être responsables des rechutes (**figure 03**) (**Mullighan, 2012**).

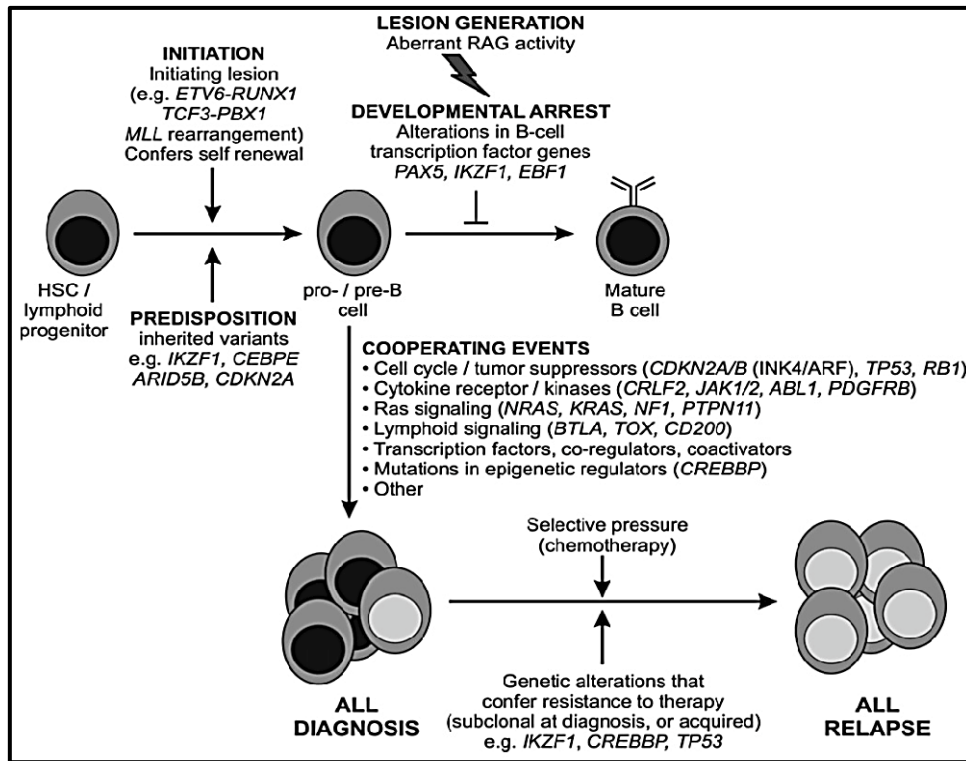


Figure 03 : Rôle des anomalies génétiques dans la leucémogénèse des LAL-B (Mullighan, 2012).

I.2. Les LAL à Ph1 :

La fréquence des LAL à chromosome Philadelphie (LAL à Ph1) varie avec l'âge. Ces LAL représentent de 2 à 3% des LAL de l'enfant et en moyenne 20 à 30% des LAL de l'adulte ainsi réparties : de 10 à 15% chez l'adulte jeune, de 50% environ à 50 ans et de 70% à 70 ans. Leur incidence est en augmentation depuis 10 ans sans cause évidente (figure 04) (Kurzrock *et al.*, 2003).

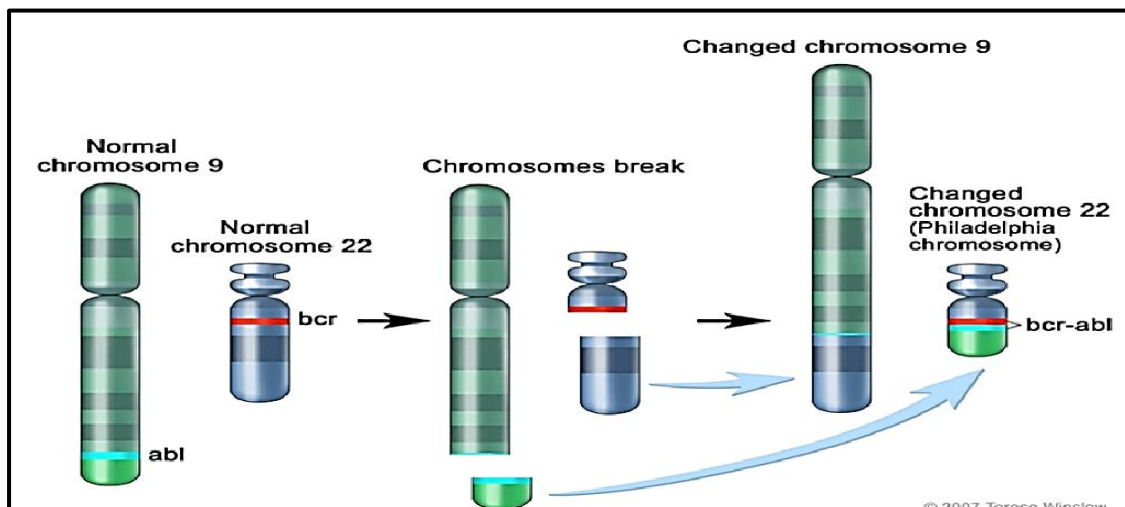


Figure 04 : Le chromosome Philadelphie (Kurzrock *et al.*, 2003).

Le chromosome Philadelphie est issu de la translocation réciproque entre les chromosomes 9 et 22, respectivement en position 9q34 au niveau du gène Abelson (*ABL*) codant la protéine Abl et en position 22q11 au niveau du gène *BCR* (pour Break point Cluster Region) codant la protéine Bcr. Il a été décrit pour la première fois en 1960 par *Nowell* et *Hungerford* et est présent dans la LMC, hémopathie maligne appartenant au groupe des syndromes myéloprolifératifs (**Jaso *et al.*, 2011**).

La protéine Abl est une protéine à activité Tyrosine Kinase (TK) ayant un rôle essentiel dans le fonctionnement cellulaire avec des fonctions à la fois nucléaires et cytoplasmiques. Sa structure comprend trois régions SH (SH1, 2 et 3) dans la partie NH₂ terminale, une région riche en proline dans la partie centrale, et des séquences nucléaires dans la partie COOH-terminale. L'activité TK est assurée par le domaine SH1 où sont localisés le site de liaison à l'ATP, site majeur d'autophosphorylation, et le domaine catalytique phospho-transférase. La protéine Bcr est d'expression ubiquitaire au niveau des cellules hématopoïétiques et possède deux domaines fonctionnels essentiels, un domaine d'oligomérisation et un domaine présentant une activité sérine-thréonine kinase. Le domaine d'oligomérisation est responsable de l'homo-tétramérisation de la molécule, il est indispensable à son activité. Le domaine à activité sérine/thréonine kinase contient un résidu tyrosine essentiel (Y177) qui assure la liaison avec l'adaptateur moléculaire GRB2 conduisant à l'activation de la voie de signalisation intracellulaire Ras jouant un rôle important dans la régulation de la prolifération, de la survie, de la différenciation, de la migration cellulaire, et de l'angiogenèse (**Lafage-Pochitaloff *et al.*, 2014**).

I.3. Les LAL-T :

Les LAL-T sont dues à la transformation oncogénique de précurseurs hématopoïétiques de la lignée lymphoïde T. Elles correspondent à des proliférations clonales malignes développées à partir des précurseurs thymiques. L'oncogenèse des LAL-T et le développement physiologique lymphoïde T sont liés, en particulier en ce qui concerne les mécanismes de régulation des recombinaisons somatiques, à l'origine de la mise en place d'un récepteur T à l'antigène (TCR). De nombreux signaux de prolifération et/ou d'apoptose physiologiques sont de ce fait impliqués dans la leucémogénèse des LAL-T. La classification des LAL-T repose sur des critères morphologiques, sur l'expression d'antigènes de différenciation spécifiques de la lignée lymphoïde T et sur l'étude des réarrangements des TCR. L'expression du CD3 cytoplasmique ou membranaire est nécessaire et suffisante pour affirmer l'appartenance des blastes à la lignée lymphoïde T (**Van Vlierberghe et Ferrando, 2012**).

La transformation blastique d'un lymphocyte T est un processus multi-étape dans lequel différentes lésions géniques s'accumulent et modifient la prolifération, la survie, le cycle cellulaire et la différenciation de cellules T. De nombreuses altérations telles que des translocations réciproques ou non, des mutations, des délétions et des amplifications doivent être acquises par la cellule lymphoïde avant d'aboutir à cette transformation maligne. Les oncogènes impliqués dans une translocation avec un TCR sont très nombreux. Une classification simplifiée de ces nombreuses altérations a été proposée, laquelle s'inspire du mécanisme cellulaire qu'elles affectent tel que la différenciation, les étapes de contrôle au niveau du cycle cellulaire, la prolifération ou la survie (**Durinck et al., 2015**). Deux grands types d'anomalies sont distinguées, selon qu'elles touchent des oncogènes de type 1 ou de type 2 :

- **Les anomalies de type 1 :** sont corrélées à un stade d'arrêt de maturation. Elles seraient responsables du blocage de maturation à des stades spécifiques du développement des lymphocytes T. Elles sont mutuellement exclusives et probablement fondatrices. Différents sous-groupes cytogénétiques et moléculaires, impliquant *TAL/LMO*, *c-MYC*, *HOXA*, *TLX1*, *TLX3*, sont distingués en tenant compte également du profil d'expression transcriptionnel associé. La surexpression de ces oncogènes peut être due à différents mécanismes propres à chaque oncogène. Il peut par exemple s'agir d'une surexpression induite par une translocation avec les loci du TCR β et TCR α/δ ou par une délétion mettant l'oncogène sous le contrôle d'un promoteur ou par une expression ectopique du fait de l'existence de transcrits de fusion (**Van Vlierberghe et Ferrando, 2012**).
- **Les anomalies de type 2 :** ne sont pas corrélées à un stade précis de maturation. Plus de 30 mutations sont actuellement décrites. Redondantes entre elles et avec les anomalies de type 1, elles correspondent souvent à des atteintes impliquées dans la régulation du cycle cellulaire, dans l'auto-renouvellement, dans la voie de signalisation du TCR dans la différenciation T. Elles peuvent induire l'activation des tyrosines kinases avec en conséquence une prolifération et/ou une survie excessive. Ces anomalies agissent en synergie dans le processus de transformation. La perte de *CDKN2A/B* et les anomalies de la voie de signalisation de Notch1 constituent les lésions d'oncogènes les plus prédominantes. Dans ces LAL-T, L'inactivation génomique homozygote ou hétérozygote des loci *CDKN2A* et *CDKN2B* est l'anomalie la plus fréquente avec une incidence d'environ 90%. Elle entraîne des anomalies du cycle cellulaire telles qu'une entrée incontrôlée en cycle, la désactivation des points de contrôles et une apoptose (**Van Vlierberghe et Ferrando, 2012 ; Durinck et al., 2015**).

II. Les anomalies cytogénétique en cause des LAL :

Des anomalies chromosomiques clonales sont retrouvées dans la majorité des cas de LAL ; 80% chez l'enfant et 70% chez l'adulte. Elles ont une valeur pronostique indépendante qui rend le caryotype indispensable avant la mise en route du traitement car il conditionne la thérapeutique. Bien que les techniques du caryotype soient particulièrement difficiles dans les LAL, le taux de réussite des caryotypes s'est considérablement amélioré au cours des dernières années. D'autres techniques (FISH et RT-PCR) sont parfois des compléments indispensables du caryotype car celui-ci peut être d'interprétation difficile dans cette pathologie. On distingue des anomalies de nombre et de structure bien que ces deux types soient parfois associés (**Baranger et al., 2016**).

II.1 Les anomalies de structure récurrentes dans les LAL-B :

- **t(12;21)(p13;q22) et *ETV6-RUNX1*** : il s'agit des LAL les plus fréquentes chez l'enfant (25% des LAL-B de l'enfant), tandis que les cas rapportés chez l'adulte sont plutôt rares (2%). La translocation t(12;21)(p13;q22) est cryptique ; c'est-à-dire invisible au caryotype. Elle est fréquemment accompagnée par une ou plusieurs anomalies caryotypiques : trisomie 21, délétion 9p, délétion 12p ou tétraploïdie. Elle réarrange les gènes *ETV6* et *RUNX1* et est détectable en FISH par une sonde de fusion *ETV6-RUNX1*. La translocation t(12;21) est une anomalie de bon pronostic, avec néanmoins des rechutes tardives mais qui répondent bien à la chimiothérapie. La sonde *ETV6-RUNX1* permet également de détecter les amplifications intra-chromosomiques du chromosome 21, ainsi que de suggérer les hyperdiploïdies méconnues au caryotype (**Coster, 2018**).
- **t(1;19)(q22;p13.3) et *E2A-PBX1*** : elle représente environ 5% des LAL-B de l'enfant et 3% des LAL-B de l'adulte. La translocation t(1;19)(q23;p13) fusionne dans la très grande majorité des cas les gènes *TCF3* et *PBX1*. Très rarement, cette translocation correspond à une fusion *MEF2D-DAZAP1*, ces deux gènes étant localisés dans les mêmes bandes chromosomiques que les gènes *TCF3* et *PBX1*. Enfin dans un nombre limité de cas, cette translocation correspond à un gain 1q impliquant aléatoirement le chromosome 19 et sans fusion génique. Dans le cas de la fusion *TCF3-PBX1*, la translocation est souvent déséquilibrée et le caryotype met en évidence deux chromosomes : un chromosome 19 normal et un dérivé 19 issu de la translocation. Le pronostic initialement intermédiaire tend vers un pronostic favorable avec l'adaptation des protocoles de chimiothérapie (**Coster, 2018**).

- **Réarrangement du gène *MLL*** : cette translocation représente 3 à 10% des LAL-B de l'adulte et 2 à 8% des LAL-B de l'enfant et 70% des LAL-B du nourrisson. Ce réarrangement est de mauvais pronostic. La survie à 5 ans est inférieure à 30%. Cette translocation implique le gène *MLL* en 11q23 et le gène en 4q21. Le gène de fusion entraîne la formation d'une cellule B immature CD19+ (**Doval, 2015**).
- **t(9;22)(q34;q11) et fusion *BCR-ABL1*** : il s'agit de l'anomalie cytogénétique la plus fréquente (30% des LAL-B de l'adulte et 3% chez l'enfant). La fusion des gènes *BCR* et *ABL* entraîne l'apparition du chromosome Philadelphie qu'il est très important de détecter car sa présence conditionne le protocole thérapeutique. Ce groupe de LAL bénéficie d'un traitement par Inhibiteur de Tyrosine Kinase (ITK), enzyme qui inhibe l'activité de la protéine de fusion. Même si l'association d'un ITK aux chimiothérapies permet d'obtenir une rémission complète dans 90% des cas, une allogreffe de CSH est proposée dès que possible (**Doval, 2015**).
- **LAL de type Burkitt** : la translocation (8;14)(q24;q32) et ses variantes (8;22)(q24;q11) et (2;8)(p12;q24) sont caractéristiques des LAL type Burkitt qui sont des LAL-B matures. Elle représente 5% des LAL de l'adulte ou de l'enfant (**Kaid, 2011**).
- **Autres anomalies récurrentes dans les LAL-B** : les LAL-B avec t(5;14)(q31;q32) sont une entité très rare (moins de 1% des LAL). Cette translocation est responsable de la fusion du gène de l'*IL3* avec le locus codant les chaînes lourdes d'immunoglobuline. La conséquence est une hyperproduction d'*IL3*, responsable d'une hyperéosinophilie. La t(17;19)(q22;p13.3), responsable de la fusion *E2A-HL*, est généralement marquée par une hypercalcémie au diagnostic et un pronostic très sombre. Enfin, certaines translocations impliquant les tyrosines kinases *JAK2*, *ABL1* (autre que *BCR-ABL*) et *PDGFRB* ont été rapportées dans certaines LAL-B à haut risque (**Roberts et al., 2012**).

II.2 Les anomalies de structure récurrentes dans les LAL-T :

La majorité des translocations impliquent les gènes du récepteur T codant pour la chaîne alpha (TCR-A), la chaîne delta (TCR-D) et la chaîne bêta (TCR-B) située en 7q35. Elles sont retrouvées dans 30% des cas de LAL-T. Les translocations impliquant 10q24, (11;14)(p13;q11) et (11;14)(p15;q11) représentent 7% des caryotypes anormaux dans les LAL-T de l'enfant et 5% de ceux de l'adulte. D'autres translocations n'impliquant pas ces gènes : la translocation (10;11)(p12;q13) retrouvée dans 4% des LAL-T de l'enfant et 5% de celles de l'adulte, la translocation (5;14)(q35;q32) est présente dans environ 22% des LAL-T de l'enfant et 13% des LAL-T de l'adulte (**Lafage et Charrin, 2003**).

II.3 Ploïdie et anomalies de nombre:

Les anomalies de nombre touchent des chromosomes entiers, c'est-à-dire des milliers de gènes, et sont donc peu informatifs quant à la détermination des facteurs initiateurs de la leucémogénèse. Cependant, leur implication dans l'oncogénèse pourrait être associée à un défaut ou un excès de représentation allélique, ce qui modifierait l'expression de plusieurs gènes concourant aux mêmes fonctions. Les outils technologiques pour étudier l'impact de ces milliards de combinaisons de dérégulation n'existent pas aujourd'hui (**Paulsson *et al.*, 2015**). La ploïdie désigne le nombre de chromosomes, plusieurs groupes de ploïdie peuvent être identifiés dans les LAL.

- **Les hyperdiploïdies :** correspondent à un caryotype de plus de 50 chromosomes. Elles sont retrouvées chez 20 à 30% des enfants malades et chez 9% des adultes. Au même titre que les réarrangements *TEL-AML1*, ce type d'anomalies semble se développer *in utero*. Cette anomalie ne correspond pas à un gain uniforme ou aléatoire mais à des gains préférentiels des chromosomes X, 4, 10, 14, 17, 18, et 21. Le caryotype est rarement associé aux translocations récurrentes productrices de gènes de fusion. Le seul profil informatif de cette classe d'anomalies est une triple trisomie 4,10 et 17 qui apparaît de bon pronostic. Des anomalies récurrentes comme les mutations ponctuelles de *FLT3*, *NRAS*, *PTPN11*, des microdélétions de *CDKN2A*, d'*ETV6*, de *PAX5*, et des anomalies structurales comme *dup(1q)* et *i(17q)* ont été associées à ces profils mais n'ont pas de valeur pronostique établie à ce jour. De manière générale, les hyperdiploïdies sont de bon pronostic (**Paulsson *et al.*, 2010**).
- **Les hypodiploïdies :** correspondent à un caryotype inférieur ou égal à 45 chromosomes. Ce sont des anomalies rares qui concernent moins de 5% des patients, seulement 1% si l'on considère ceux qui ont une ploïdie inférieure à 45 chromosomes. Du fait de leur rareté, ces caryotypes particuliers sont moins documentés que les hyperdiploïdies. Il apparaît cependant que ce profil cytogénétique soit de mauvais pronostic (**Nachman *et al.*, 2007**).

Des anomalies de nombre isolées ou associées à des anomalies de structure sont présentes dans environ 50% des LAL. Dans les LAL de l'enfant et de l'adulte, huit groupes de ploïdie, peuvent être définis à partir du caryotype diploïde normal à 46 chromosomes :

- **Hypodiploïdie (41 à 45 chromosomes) :** plus de 80% ont un nombre modal à 45 chromosomes. En dehors de la perte de l'un des chromosomes sexuels (l'Y essentiellement), les chromosomes fréquemment impliqués sont les chromosomes 7, 9, 12, 17 et 20 (**Lafage et Charrin, 2003**).

- **Near-haploïdie (25 à 29 chromosomes)** : l'haploïdie proche est présente dans environ 1% des LAL de l'enfant <15 ans mais jamais retrouvée chez le nourrisson ou l'adulte. Elle est définie par une perte chromosomique massive résultant en un nombre modal de moins de 30 chromosomes. Les chromosomes sexuel X/Y et les chromosomes 10, 14, 18, et 21 sont le plus souvent conservés. Fréquemment des mutations activatrices de *Ras* sont retrouvées ainsi que des altérations d'*IKZF1* (Decool, 2016).
- **Hypodiploïdies sévères** : les faibles hypodiploïdies sont définies par une perte chromosomique résultant en un nombre modal compris entre 30-39 chromosomes. Les clones sont typiquement monosomiques pour les chromosomes 3, 7, 15, 16 et 17 tandis que les chromosomes 1, 6, 11 et 18 sont volontiers diploïdes. On y retrouve des altérations de *TP53*, *CDKN2A/B* et *RBI*, et des mutations/délétions de *IKZF2* (Decool, 2016).
- **Hyperdiploïdie (47 à 50 chromosomes)** : représente environ 15% des caryotypes des enfants ou des adultes, associés dans 50% des cas à des anomalies de structure. Les trisomies 8, 18, 19 et 21 sont les plus fréquentes, de répartition équivalente dans les LAL-B ou T et de pronostic intermédiaire. La trisomie 8 isolée est considérée comme une anomalie récurrente rare dans les LAL-T (Decool, 2016).
- **Hyperdiploïdie à plus de 50 chromosomes (51 à 65 chromosomes)** : représente environ 25% des LAL chez l'enfant, 7% chez l'adulte. Les chromosomes trouvés à l'état trisomique, les plus fréquemment impliqués sont les chromosomes 4, 6, 10, 14, 17, 18, 21 et X ; on trouve fréquemment quatre copies du chromosome 21 (Decool, 2016).
- **Near-triploïdie (64 à 78 chromosomes)** : très rare chez l'enfant (< 1%), mais pouvant atteindre 3% chez l'adulte âgé, ce type d'hyperdiploïdie est caractérisé par un profil non aléatoire et correspond à une duplication d'une forme « hypodiploïdie sévère ». Les chromosomes 3, 7, 15 et 17 sont fréquemment à l'état disomique et les chromosomes 1, 6, 8, 11, 18, 19, 21 et 22 à l'état tri ou tétrasomique (Decool, 2016).
- **Near-tétraploïdie (82 à 94 chromosomes)** : groupe rare (1 à 2%) résulterait de l'endo-duplication d'un clone pseudo-diploïde ou hyper-ploïde. Plus fréquente dans les LAL de la lignée T que B (Lafage et Charrin, 2003 ; Decool, 2016).
- **Pseudo-diploïdie (46 chromosomes)** : groupe cytogénétique hétérogène, avec une fréquence plus élevée chez l'adulte que chez l'enfant (59 et 42%, respectivement) (Lafage et Charrin, 2003).

III. Indications de la cytogénétique dans les LAL :

À partir des années 1980, l'hétérogénéité des LAL liée à l'existence d'anomalies chromosomiques typiques ayant une valeur pronostique indépendante des autres paramètres cliniques et biologiques a été reconnue. La répartition des anomalies cytogénétiques est différente chez l'enfant et chez l'adulte, avec une majorité d'anomalies associées à un pronostic favorable chez l'enfant, ce qui explique en partie la différence de pronostic entre enfant et adulte, avec un taux de guérison chez l'enfant proche de 85%, soit deux fois plus que chez l'adulte (**Hunger et al., 2015**). La classification des LAL proposée par l'OMS en 2008 reflète cette importance en tenant compte des résultats de la cytogénétique lors du bilan diagnostique. Elle ne distingue cependant que certaines anomalies cytogénétiques récurrentes et ce uniquement dans les LAL-B, soit du fait de leur valeur pronostique (hyperdiploïdie, hypodiploïdie, t(9;22), t(12;21), réarrangements *MLL*), soit de leur spécificité clinico-biologique (t(1;19), t(5;14)). Parmi ces anomalies récurrentes, une place particulière est réservée dans les protocoles thérapeutiques aux LAL avec translocation t(9;22)/*BCR-ABL1* (chromosome Philadelphie) afin que ces patients puissent bénéficier d'une thérapeutique ciblée dirigée contre l'activité tyrosine kinase de la protéine chimérique BCR-ABL1. Les autres LAL-B sont classées par l'OMS 2008 dans un groupe sans anomalie caractéristique (dit NOS : Not Otherwise Specified). Les LA de type Burkitt ont été exclues des LAL-B pour être reclassées avec les proliférations lymphoïdes B matures. Certains marqueurs moléculaires, comme la délétion d'*IKZF1* (Ikaros) dans les LAL-B et les LAL de type Ph-like ainsi que de nombreuses entités cytogénétiques au sein des LAL-T n'ont pas été intégrés dans la classification OMS de 2008, car leur valeur clinique n'était pas encore clairement établie (**Annexe V**) (**Swerdlow et al., 2008 ; Baranger et al., 2016**).

Les anomalies cytogénétiques des LAL peuvent être mises en évidence par le caryotype : analyse des chromosomes dans les métaphases obtenues après culture cellulaire et coloration des préparations, ou par des techniques de cytogénétique moléculaire comme la FISH, qui peut mettre en évidence soit des anomalies dites cryptiques, car de trop petite taille pour être décelées par le caryotype, soit des anomalies présentes dans les cellules leucémiques qui ne sont pas en métaphase (FISH interphasique). D'autres techniques complètent l'analyse cytogénétique, comme la cytométrie en flux, qui permet d'évaluer les marqueurs spécifiques de lignée et de stades de différenciation (immuno-phénotypage) et qui a également pour intérêt de détecter des phénotypes blastiques aberrants qui pourront servir au suivi de la maladie résiduelle, ainsi la mesure du contenu en ADN (index d'ADN), qui permet de repérer certaines anomalies de nombre (**Jouault, 2002 ; Amorim et al., 2015**).

Partie pratique

Patients et méthodes

Notre étude s'articule autour de deux axes :

- **Une étude statistique :** il s'agit d'une enquête rétrospective étendue sur une période de 3 ans, entre avril 2016 et avril 2019, effectuée à partir des dossiers de patients atteints de LAL, hospitalisés dans les services d'hématologie et de pédiatrie du CHU Benbadis Constantine. L'objectif de cette prospection étant de contribuer à la connaissance de l'état épidémiologique des LAL dans la région de Constantine.
- **Une étude cytogénétique :** étalée sur une période de 3 mois, du 03 mars au 06 juin 2019, cette étude vise en premier à l'apprentissage puis à l'application des techniques de cytogénétique standards et avec bandes sur des hémopathies malignes de type LAL. Les prélèvements sanguins sont issus de patients hospitalisés au niveau des services de pédiatrie et d'hématologie du CHU Benbadis Constantine. La réalisation du caryotype s'est faite au niveau de l'unité de cytogénétique du CRBt - Constantine.

I- Étude statistique :

Nous avons étudié les dossiers des patients consécutivement pris en charge au niveau des services d'hématologie et de pédiatrie du CHU Benbadis Constantine pour une LAL entre avril 2016 et 2019. Tous les patients diagnostiqués avec une LAL typique pour cette période ont été inclus. Les patients présentant une autre hémopathie maligne (LAM, LMC ou LLC) ou dont le caractère aigue lymphoïde de la prolifération n'a pas été précisé ont été exclus.

Pour le recueil des données relatives aux patients inclus dans notre étude, un questionnaire a été établi (**Annexe VI**) et dûment renseigné pour chaque malade. Dans l'exploitation des dossiers, nous avons essayé de rassembler les données cliniques, biologiques, anthropométrique (taille, poids) et sociodémographiques (provenance, profession, habitudes alimentaires et toxiques). La présence de consanguinité, d'antécédents personnels et familiaux a été explorée.

Les résultats pour les patients LAL recrutés dans cette étude ont été traités par Excel (Microsoft Office® 2016).

II- Étude cytogénétique :

II-1- Patient :

Pour l'étude cytogénétique nous avons sélectionné de façon aléatoire 10 patients : 8 enfants et 2 adultes, diagnostiqués avec une LAL typique et suivis pour un traitement chimio-thérapeutique, respectivement au niveau des services d'hématologie et de pédiatrie du CHU Benbadis Constantine. Tous ces patients (ou leurs tuteurs légaux dans le cas de mineurs), après lecture et explications, ont signé un consentement éclairé nous autorisant à l'utilisation de leurs données clinico-biologiques et de leur matériel génétique dans la réalisation de cette étude (**annexe VII**).

Les échantillons sanguins sont recueillis par ponction veineuse dans des conditions stériles. Ces prélèvements sont adressés le jour même au CRBt pour la réalisation de la culture cellulaire ; première étape de l'étude cytogénétique.

II-2- Matériels et réactifs :

II-2-1- Matériels :

- Tubes coniques 15 ml (Aliquote) de cultures,
- Tubes coniques 15 ml (Aliquote) de centrifugation,
- Tubes coniques 15 ml (Aliquote),
- Lames de microscope 26×76 mm (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),
- Vortex (IKA[®]), (VELP[®], WIZARD Advanced IR Vortex Mixer),
- Station cytogénétique motorisée (Leica[®] CTR6000) reliée à un ordinateur disposant d'un système d'acquisition et de traitement d'image (logiciel Cytovision[®]),
- Étuve réglée à 37°C (Mettler[®]),
- Réfrigérateur à 4°C, congélateur à -20°C,
- Bain marie (Mettler[®]),
- Bêchers en verre (20 ml, 25 ml, 100 ml, 600 ml et 1000 ml),
- Bêchers en plastique (50 ml, 100 ml et 400 ml),

- Pince,
- Cuve à coloration (Hellendahl®),
- Papier absorbant,
- Éprouvette graduée en verre (250 ml, 500 ml),
- Bac en verre,
- Pipette pasteur,
- Portoir pour tubes,
- Pipette graduée 0,5 ml,
- Présentoir de lames,
- Gants nitrile non stériles (non poudré),
- Embouts à Pipette (ISOLAB® 200 µl).

II-2-2- Réactifs :

- PB max : préparé 8 ml,
- Phosphate Buffered Saline (PBS) : 1 à 2 comprimés de PBS dans 400 ML d'eau bi distillé (Sigma®),
- Thymidine (100 µl) : 0,6 g dans 100 ml de PBS,
- Eau distillée,
- Eau minérale,
- Eau bi-distillée,
- Acide acétique 100%,
- Éthanol,
- Giemsa liquide Fluka®,
- Éthanol 70%,
- Huile d'immersion,
- Sérum de Veau Fœtal (SVF) (1,5 ml),
- RPMI 1640 Medium avec L-glutamine et sodium bicarbonate (5 ml),
- Colchicine (60 µl) : 0,1 g dans 100 ml d'eau distillée,
- KCl : 5,6g/l,
- Phosphate de sodium anhydre (NaH₂PO₄),
- Carnoy : 3V éthanol +1V d'acide acétique,
- Tampon de Gür.

II-3- Méthodologie :

II-3-1- Prélèvement sanguin :

Le prélèvement sanguin (5 à 10 ml) est recueilli par des infirmiers dans des conditions stériles par ponction veineuse, dans un tube vacutainer contenant l'héparine de lithium comme anticoagulant.

II-3-2- Mise en culture :

- On commence par étiqueter les tubes du milieu de culture avec le nom et le numéro d'organisation.
- On ouvre les tubes en évitant de passer les mains au-dessus des tubes tout en travaillant sous hotte à flux laminaire vertical.
- On met 10 gouttes de sang dans un tube conique avec 15 ml du milieu de culture PBMax.
- Dans un plateau en verre, on dispose les tubes horizontalement, bien fermés, et on les place dans une étuve réglée à 37 °C pour une période de 72h.

II-3-3- Synchronisation :

On ajoute 100 µl de thymidine (agent synchronisant) après 48h de mise en culture et on remet en culture.

II-3-4- Caryotype :

a- Lavage :

- On retire les tubes de l'étuve, puis on procède à la centrifugation des tubes à 1500 tours par minute (tpm) durant 5 min 30.
- Après la centrifugation, et après avoir préparé les réactifs (Tampon PBS : 2 comprimés de PBS dans 400 ml d'eau bi-distillée), on déverse le surnageant dans un bécher réservé pour le déchet du surnageant, on ajoute vers 1 ml de PBS (le PBS aide à enlever la thymidine). On mélange bien avec le vortex, ensuite on complète à 10 ml avec du PBS et on mélange bien.
- On centrifuge une deuxième fois puis on procède à un deuxième lavage (on déverse le surnageant dans le bécher spécifique, dilution au PBS, on mélange au vortex, on rajoute 10 ml de PBS et on remet à la centrifugeuse).

b- Remise en culture :

Après centrifugation, on enlève le surnageant, puis on complète avec 5 ml de RPMI et 1,5 ml de SVF avec une pipette graduée. Après on homogénéise bien par retournements et on remet en culture durant 5h à 5h30 en position horizontale.

c- Blocage en métaphase :

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

d- Choc hypotonique et pré-fixation :

Après l'exposition des cellules à la colchicine, la prochaine étape consiste à faire subir un choc hypotonique aux cellules en leur ajoutant une solution de chlorure de potassium. Cette étape permet à la fois de lyser les hématies présentes et de faire gonfler les cellules, pour faciliter la dispersion des chromosomes à l'intérieur de la cellule.

On centrifuge les tubes de cultures à 1500 tpm pendant 5 min 30. Sous hotte chimique, on déverse le surnageant dans un autre béccher réservé à la colchicine. On ajoute 1 à 2 ml de KCl à concentration 5,6 g/l préchauffé à 37°C. On mélange au vortex et on complète jusqu'à 10 ml avec du KCl. On homogénéise par retournements. Après on incube à l'étuve en position horizontale pendant 20 minutes à 37°C.

Par la suite, les métaphases obtenues sont fixées avec un mélange d'acide acétique glacial et de méthanol absolu (solution de Carnoy). Ce mélange a pour effet de déshydrater les cellules et de dénaturer les protéines qui fragilisent la membrane cytoplasmique, préparant ainsi le matériel pour l'étape suivante, soit l'étalement sur lame. La fixation de la préparation est réalisée comme suit :

- Pour la préfixation on prépare du Carnoy en mélangeant 3V d'éthanol avec 1V d'acide acétique (300 ml / 100 ml).
- On ajoute 0,5 ml à 1 ml de Carnoy dans chaque tube contenant l'échantillon. On homogénéise par retournements puis on centrifuge les tubes de culture à 1500 tpm durant 5 min 30.
- Sous hotte chimique, on déverse le surnageant dans un béccher spécifique au Carnoy.

e- Fixation :

- On ajoute 1 à 2 ml de Carnoy, on agite avec un vortex et on complète avec ce produit.
- On homogénéise par retournements et on laisse la fixation se dérouler à température ambiante pendant 20 minutes.
- On centrifuge les tubes de culture à 1500 tpm pendant 5 min 30.
- On enlève le surnageant sous hotte chimique dans le bécher mis à disposition.
- On refait une deuxième fixation : par ajout de quelques gouttes de Carnoy, on homogénéise, on agite avec un vortex, et puis on complète jusqu'à 10 ml avec du Carnoy et on conserve au froid à 4°C.

f- Étalement :

L'étalement consiste à déposer les préparations chromosomiques récoltées sur une lame, dans une enceinte à humidité et température contrôlées. On adapte la technique au type d'échantillon en s'assurant de ne pas trop disperser ou enchevêtrer les chromosomes pour être en mesure de bien les analyser. Cette étape est cruciale pour la réalisation d'un caryotype de bonne qualité. Cette opération décisive se fait comme suit :

- On commence d'abord par dégraisser les lames on les plaçant dans un grand bécher contenant de l'éthanol et de l'eau distillée, on recouvre avec un papier film et on met au réfrigérateur.
 - On centrifuge les tubes à 1500 tpm pendant 5 min 30, on déverse le surnageant (correspondant à l'ancien Carnoy) et on le remplace par un nouveau Carnoy. À l'aide d'une pipette Pasteur on mélange le culot afin de le mettre en suspension.
 - On allume le bain marie et le préchauffe jusqu'à 86°C. On place une lame dégraissée et on la préchauffe en l'exposant à l'humidité du bain marie, on laisse tomber deux gouttes du culot à une certaine distance (~30 cm) de la lame, on rince au Carnoy ou non cela dépend de la qualité de l'étalement.
- Une fois l'étalement effectué, les lames doivent sécher à l'air.
- Il faut savoir que les conditions atmosphériques (température, humidité, pression atmosphérique) peuvent modifier la qualité des étalements. Ces données doivent être prises en considération.

Cette étape est également importante car elle conditionne la qualité de la dénaturation et de la coloration des chromosomes.

g- Dénaturation et coloration (R-banding) :

- On commence d'abord par réhydrater les lames dans de l'eau distillée durant 5 minutes.
- On plonge les lames dans 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 pendant 13 à 20 minutes (pour optimiser le résultat).
- On prépare la solution tampon Giemsa-tampon Gür, en mélangeant 10 ml de tampon Gür (pour mieux colorer les chromosomes) avec 5 ml de Giemsa dans une cuve à coloration Hellendahl, après on plonge les lames dans le colorant Giemsa-tampon de Gür et on complète avec de l'eau minéral jusqu'à ce que les lames soient submergées, on les laisse ainsi durant 5 minutes.
- On fait sortir les lames de la cuve et on les rince à l'eau courante, et on laisse sécher.
- Il faut savoir que pour certaines lames on a fait seulement une coloration par Giemsa.
- Bien sécher les lames sur le bord du bain marie.

h- Observation des lames après coloration :

Après toutes les étapes décrites précédemment, l'analyse des chromosomes peut débuter. Au moyen du microscope on cherche et on photographie les métaphases sur les lames en sélectionnant attentivement des métaphases de qualité assez satisfaisante.

- Observer les lames sous microscope optique et traiter les captures avec le logiciel installé. Après avoir choisi les lames à colorer, elles sont ensuite observées et étudiées par la station cytogénétique motorisée reliée à un ordinateur traitant les images par le logiciel : Cytovision®. On observe d'abord 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).

i- L'interprétation des résultats :

Après avoir photographié un nombre suffisant de métaphases (de 20 à 25 le plus souvent), on passe à l'étape de classement des chromosomes à l'aide d'un logiciel d'analyse. Il apparie les chromosomes deux par deux et les range par ordre, en vue du repérage d'éventuelles anomalies.

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 LAL est fixé à 10% par le Groupe Français de Cytogénétique Hématologique (GFCH).
- **Informativité du caryotype** : désigne la proportion de cellules anormales dans le prélèvement. Cette informativité est très variable selon les pathologies : pour les LAL, cette informativité est évaluée par le GFCH à plus de 70% de caryotypes anormaux.

La lecture des résultats et la prononciation sur la présence d'une éventuelle anomalie se fait par comparaison avec un caryotype de référence normal (**figure 05**).

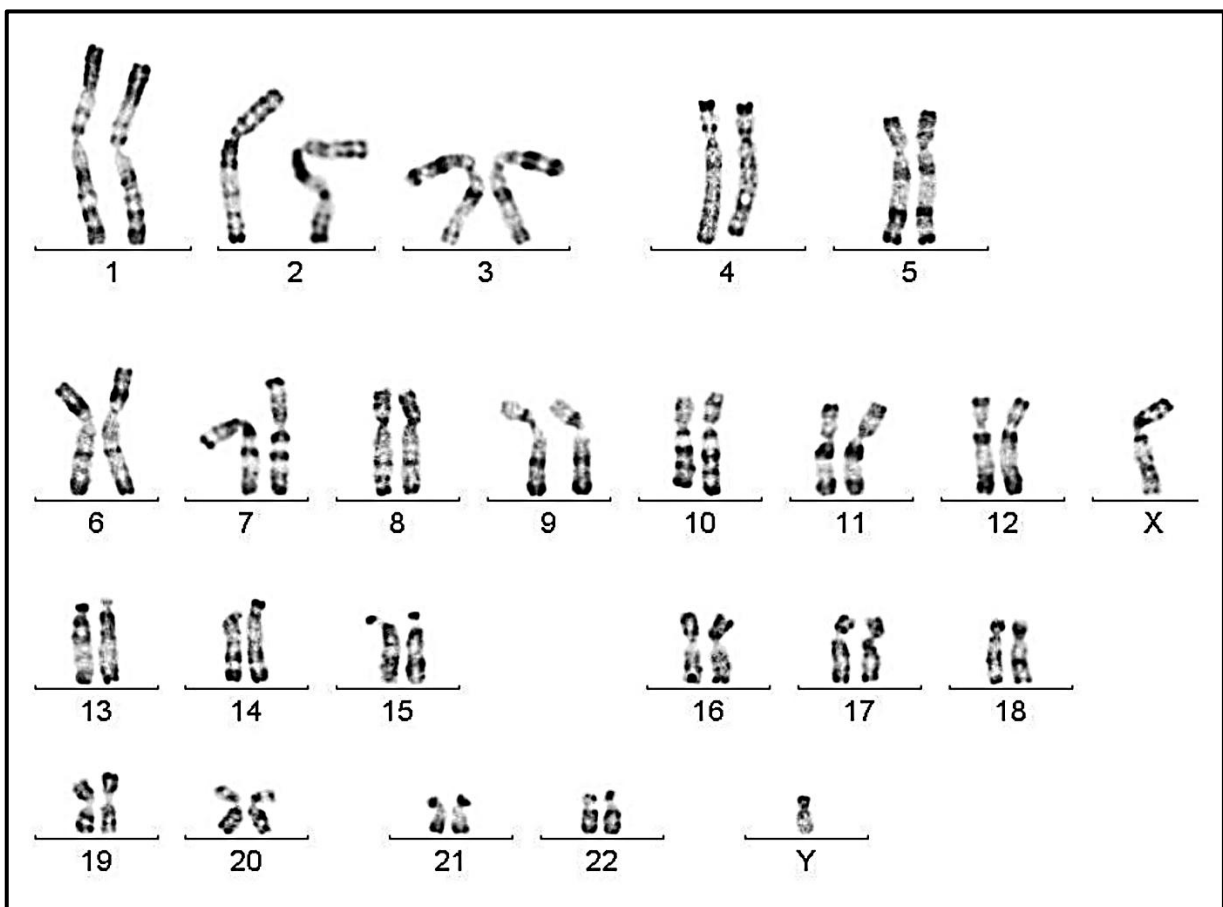


Figure 05 : Caryotype normal d'un individu de sexe masculin (46, XY) (RHG) (Lefebvre, 2016).

**Résultats
et
discussion**

I- Étude statistique :

Une étude rétrospective a été réalisée sur une période de 3 ans (avril 2016 - avril 2019) au niveau des services de pédiatrie et d'hématologie du CHU Benbadis Constantine. La population étudiée était représentée par les malades atteints de la LAL provenant de plusieurs localités. Durant cette période d'étude 104 cas ont été notifiés.

Cette étude statistique avait pour objectif de connaître l'incidence de cette pathologie dans la région de Constantine ainsi que les wilayas avoisinantes et de contribuer à l'évaluation du profil épidémiologique de cette hémopathie dans la région. Les informations ont été recueillies à partir des dossiers des malades avec l'accord des médecins-chefs responsables des deux unités d'hospitalisation en question. Il est à signaler que certains dossiers de patients atteints de LAL manquent cruellement d'informations utiles pour procéder à une enquête épidémiologique rétrospective (données clinico-biologiques, présence d'antécédents familiaux de pathologies cancéreuses ou autre).

1- Date d'hospitalisation :

La répartition mensuelle des cas de LAL enregistrés au CHUC est illustrée dans la figure ci-dessous. Le nombre de cas enregistrés chaque moi oscille entre 1 et 6. Ces chiffres illustrent bien la rareté de cette hémopathie. Il est à signaler que les services d'hématologie et de pédiatrie du CHUC n'ont enregistré aucun cas de LAL durant les mois de janvier 2017, mai, juin et décembre 2018 (**figure 06**).

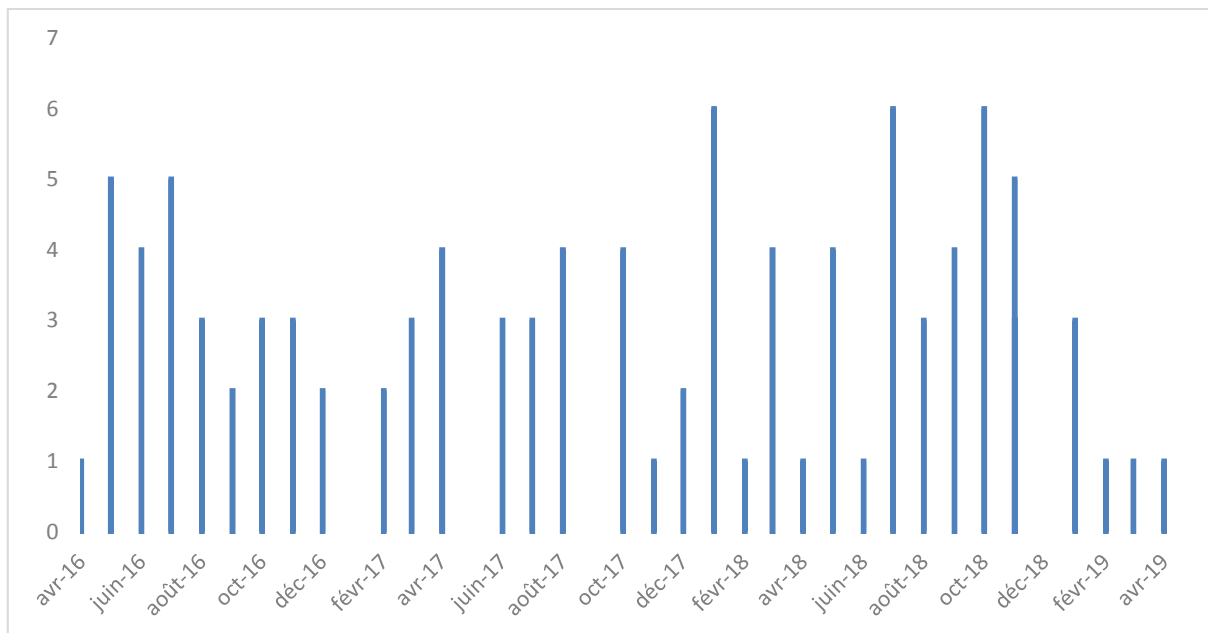


Figure 06 : Répartition mensuelle des cas de LAL enregistrés (avril 2016 - avril 2019).

La répartition annuelle n'est pas très variable, allant du 1 avril 2016 au 30 avril 2017 37% des cas de LAL ont été pris en charge au CHU Benbadis. Tandis qu'une légère diminution a été remarquée du 1 mai 2017 au 30 avril 2018 avec un pourcentage de 29%. Puis, entre mai 2018 et avril 2019, une légère augmentation a été enregistrée. En effet, pour cette période, nous avons observé un taux d'enregistrement de 38%, pratiquement identique à celui relevé au courant de la période 2016/2017 (**figure 07**).

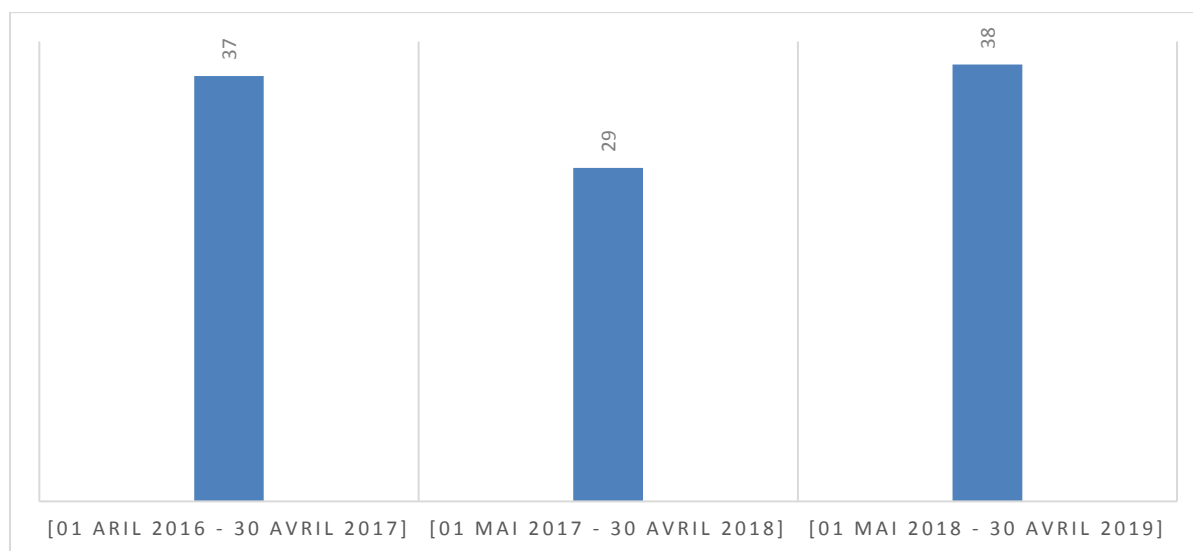


Figure 07 : Répartition annuelle des cas de LAL enregistrés (avril 2016 - avril 2019).

L'analyse de ces données enregistrées sur 3 ans suggère que l'incidence des LAL est relativement stable dans la région de Constantine ces dernières années. Cependant, en discutant avec les médecins responsables de la prise en charge des LAL au niveau du CHUC Benbadis, il a été constaté par rapport à la précédente décennie une augmentation du nombre de cas de LAL afférents en hématologie et en pédiatrie pour prise en charge. Malheureusement, aucune étude épidémiologique étendue sur période de plus de 10 ans n'a été réalisée. La réalité de cette tendance ne pourra pas être confirmée.

Plusieurs explications possibles peuvent être données à cette recrudescence du nombre de cas de LAL pris en charge au CHU Benbadis durant ces dernières années : la découverte plus efficace et rapide de cette pathologie souvent foudroyante qui, sans prise en charge adéquate, peut occasionner la mort en quelques mois, l'amélioration des modalités d'enregistrement au niveau des services concernés, une augmentation réelle de l'incidence due à une exposition plus importante à des facteurs étiologiques particuliers (facteurs chimiques, facteurs physiques, mode de vie, alimentation, etc...) ou simplement d'un biais statistique d'échantillonnage.

Selon les données mondiales sur les hémopathies malignes, sur une période d'enregistrement de 22 ans (1980-2001), les hémopathies malignes ont un taux d'incidence standardisé de 25,5/100 000 avec des variations importantes selon les différentes catégories. Ainsi les hémopathies myéloïdes dans leur ensemble ont une incidence de 10,6 et les hémopathies lymphoïdes ont une incidence de 17,4. Une tendance mondiale à l'augmentation des hémopathies malignes, particulièrement les hémopathies lymphoïdes a été constatée. La part des LAL dans cette augmentation est non négligeable (**Baldi et al., 2008**).

L'étude épidémiologique la plus étendue réalisée en Algérie sur l'incidence des leucémies aiguës en général est une enquête multicentrique regroupant 12 services d'hématologie du pays, rétrospective menée sur une période de 11 ans, allant de 1995 à 2005. Cette enquête a répertorié 1877 cas de LAM et 791 cas de LAL, ce qui fait une moyenne de 70 cas de LAL environ enregistrés annuellement (**Benakli, 2009**). En comparaison avec ces données, nos résultats indiquent une nette augmentation des cas de LAL enregistrés. Cependant, l'absence de données épidémiologiques exactes et actualisées, ne permet pas de préciser le taux réel de cette augmentation probable de l'incidence des LAL.

Nos résultats concordent bien 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 aiguës.

Les hémopathies malignes en général, et les LAL en particulier se présentent de façon très différente chez l'enfant et chez l'adulte. Selon plusieurs rapports de la littérature, la distribution des LAL varie considérablement en fonction de l'âge : bimodale, avec la plus forte incidence enregistrée entre 2 et 4 ans, puis une décroissance pendant la fin de l'enfance, l'adolescence et le début de l'âge adulte, puis une réascension entre 25 et 50 ans, et une incidence deux à trois fois plus importante après 60 ans.

Pour interpréter de manière cohérente les données recueillies concernant les LAL, nous avons procédé pour l'étude de plusieurs des paramètres enregistrés, à la séparation de notre cohorte en deux groupes :

- **Enfants** : âgés de moins de 17 ans, pris en charge au niveau du service de pédiatrie,
- **Adultes** : âgés de plus de 16 ans, pris en charge au niveau du service d'hématologie.

Dans le groupe des patients LAL de notre série pris en charge au niveau du service de pédiatrie, l'évolution annuelle du nombre de cas enregistré a été estimée à des niveaux très similaires qui sont respectivement de 22 pour la période avril 2016-avril 2017 et à 23 pour la période avril 2017-avril 2018. Pour la période 2018-avril 2019 une nette augmentation a été constatée avec 35 cas enregistrés (**figure 08**). L'augmentation considérable du nombre d'enfants leucémiques admis en pédiatrie peut s'expliquer par la demande grandissante des wilayas avoisinantes et qui ne disposent pas de structures spécialisées. Cette tendance a été confirmée par le personnel médical du service de pédiatrie.

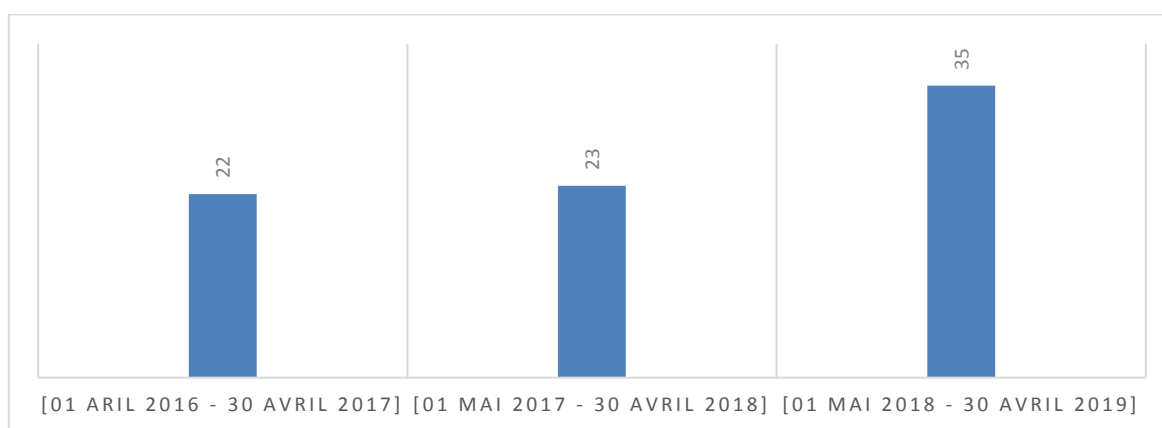


Figure 08 : Répartition annuelle des cas de LAL pédiatriques enregistrés.

La part réelle de cette augmentation doit être confirmée en comparant les données obtenues dans la région de Constantine par rapport à celles d'autres structures de santé du pays. Malencontreusement, après une recherche bibliographique rigoureuse, à notre connaissance, aucune étude épidémiologique Algérienne ne s'est intéressée spécifiquement aux leucémies aiguës pédiatriques.

De par le monde, en pédiatrie, l'incidence annuelle des leucémies est estimée à 43 cas par million. Il s'agit presque uniquement de leucémies aiguës. Les LLC ne se voient pas chez l'enfant et les LMC sont extrêmement rares (0,5 cas par million). La LAL représente 80% des leucémies. Il s'agit non seulement de la plus fréquente des leucémies de l'enfant mais aussi du cancer le plus fréquent chez l'enfant. Elle représente 31% des cancers de l'enfant entre 2 et 10 ans. La fréquence de cette hémopathie change selon les pays. En France, l'incidence est de 3,4 cas pour 100000 habitants pour les enfants de moins de 15 ans. Il existe approximativement 400 nouveaux cas par an en France. L'incidence la plus faible de la maladie est observée en Afrique Noire (1,18 pour 100000 habitants) et la plus élevée est observée dans les populations hispaniques (5 pour 100000 habitants) (**Baldi *et al.*, 2008 ; Huguet et Récher, 2011**).

Paradoxalement à l'enfant, chez l'adulte, les LAL sont plutôt rares et représentent environ 20% des leucémies aiguës de l'adulte (Thomas 2007). Il est à signaler que les leucémies aiguës se situent au 4^{ème} rang des hémopathies malignes les plus fréquentes derrière les lymphomes malins non hodgkiniens, qui sont de loin les affections hématologiques malignes les plus fréquentes, devant les leucémies lymphoïdes chroniques et le myélome multiple (Maynadié et Troussard, 2015).

Dans notre série de patients, l'évolution annuelle du nombre de cas de LAL adultes pris en charge au niveau du service d'hématologie-CHU Benbadis durant avril 2016 et avril 2017 est évalué à 11 cas, pratiquement identique au chiffre enregistré pour l'année d'après qui était de 10 cas. Curieusement, pour la période allant de mai 2018 et avril 2019 aucun cas n'a été notifié. Cette constatation serait probablement due à un biais statistique (figure 09).

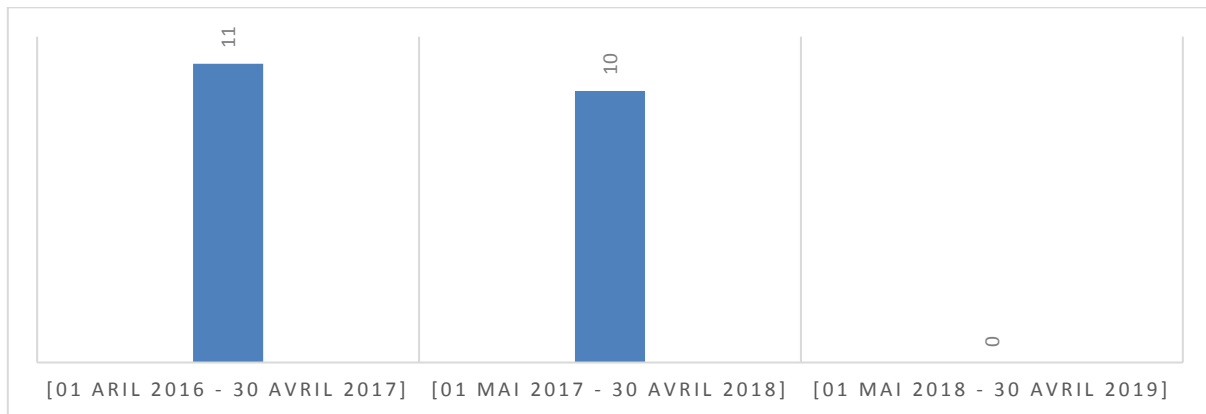


Figure 09 : Répartition annuelle des cas de LAL adultes enregistrés.

2- Age :

Nos 104 patients ont une moyenne d'âge de $13,95 \pm 17,12$ avec des extrêmes de 2 et 81 ans. Il à signaler que l'âge n'est pas spécifié pour 3 patients. La représentation graphique de ces données dans la figure ci-dessous (figure 10) démontre une très nette prédominance des LAL en milieu pédiatrique. En effet, 66 (65,34%) cas étaient âgés de moins de 10 ans et 19 (18,81%) cas de LAL âgés de 11 à 20 ans. Pour les tranches d'âges supérieures à 20 ans, aucune observation particulière n'est à signaler.

Chez nos 80 patients pris en charge en pédiatrie, la moyenne d'âge était de $6,83 \pm 3,85$, alors que pour les 21 patients adultes pris en charge au niveau du service d'hématologie, la moyenne d'âge était de $41,10 \pm 20,76$. Cette répartition met en évidence une plus grande dissemblance dans l'âge de survenue de ces hémopathies malignes. Cette tendance est beaucoup plus marquée chez les enfants que chez les adultes.

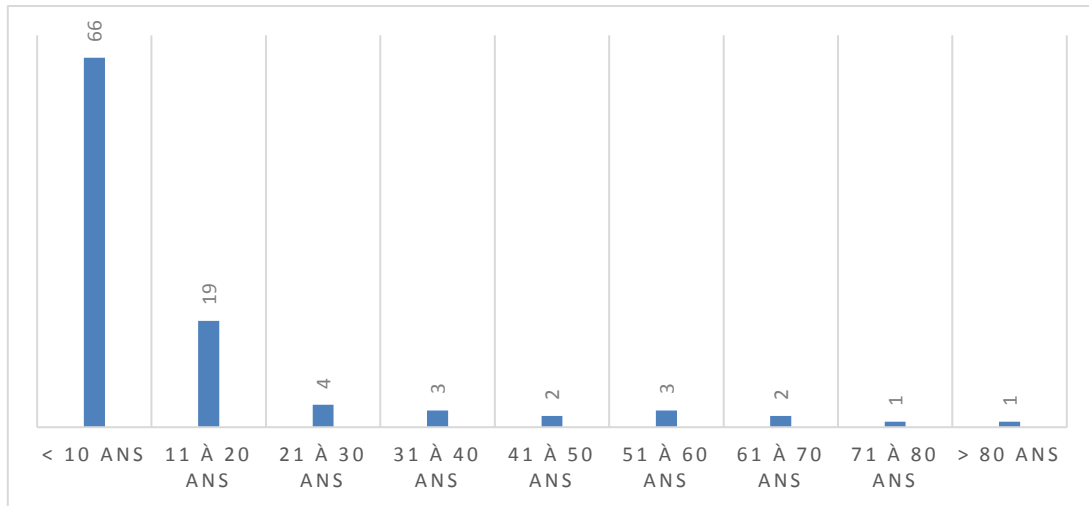


Figure 10 : Répartition des cas de LAL par tranche d'âge (tout âge confondus).

Nos résultats sont en parfait accord avec les données de la littérature qui rapportent toutes des taux de LAL beaucoup plus élevés chez les enfants que chez les adultes. La signification biologique à cette différence de répartition entre adultes et enfants demeure inexplicée. Une explication probable à cette constatation serait une lymphopoïèse beaucoup plus active à un bas âge et qui décroît graduellement à l'âge adulte (**Huguet et Récher, 2011**).

Au niveau du service de pédiatrie, 80 patients ont un âge inférieur ou égale à 16 ans avec une moyenne de $6,83 \pm 3,85$. Cette répartition par tranche d'âge de 2 ans chacune indique la grande majorité des cas de LAL pédiatrique (65%) sont âgés entre 2 et 8 ans. D'ailleurs, 3 pics de fréquences, avec un pic majeur pour la tranche d'âge comprise entre 4 et 6 ans, ont été notés (**figure 11**).

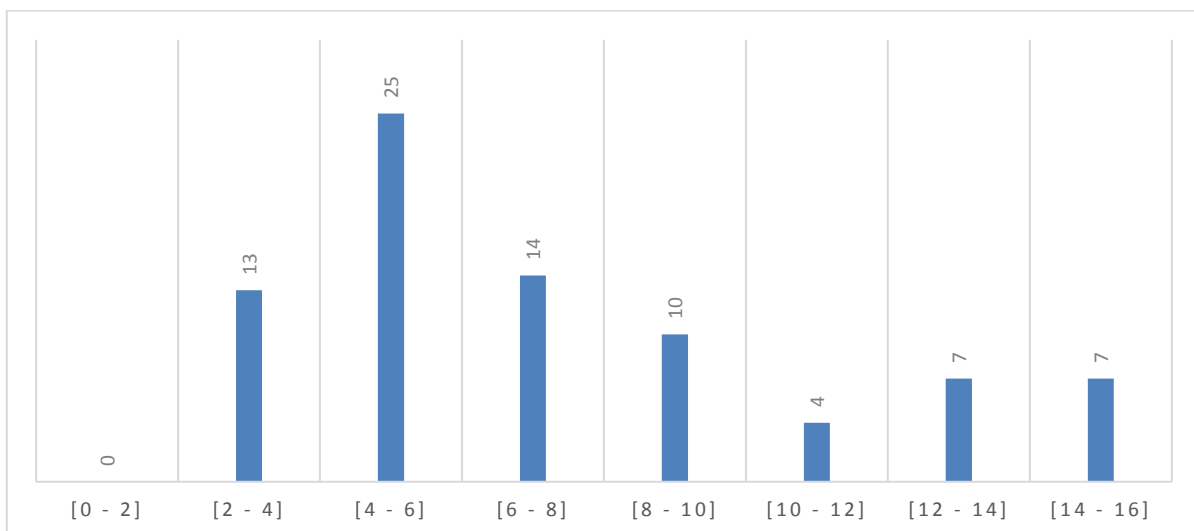


Figure 11 : Répartition des cas de LAL pédiatriques par tranche d'âge.

Nos résultats sont similaires à ceux de **Jabbour *et al* (2005)** où le pic d'incidence se situe entre 4 à 5 ans et à ceux de **Hourigan et Goldstone (2011)** qui ont rapporté dans une étude qu'il y avait un pic très net de l'incidence de LAL entre 2 et 4 ans suivi par une baisse pendant l'enfance et l'adolescence. C'est presque le même constat qui a été fait par **Remontet *et al* (2002)** qui rapportent que le pic majeur de fréquence des LAL est signalé pour la tranche d'âge 2-5 ans. Cette étude rapporte également que ce pic de fréquence est surtout marqué dans les pays occidentaux, peu marqué en Afrique, en Asie et chez la population afro-américaine. Ce pic d'incidence serait apparu dans les années 1920 en Grande-Bretagne, dans les années 40 aux États-Unis et dans les années 60 au Japon. Son apparition correspond à des périodes d'industrialisation et d'élévation du niveau de vie et est attribuable essentiellement aux LAL de la lignée B (**Hourigan et Goldstone, 2011**).

3- Sexe ratio :

Sur cette représentation graphique on remarque, une fréquence plus élevée chez les hommes atteints par la LAL par rapport aux femmes et ce, que ce soit pour toute la cohorte prise ensemble, ainsi que pour les deux groupes pédiatriques et adultes. En effet, cette répartition Masculin / Féminin était de 70% / 30% chez les enfants et 71%/29% chez les adultes. Les sexes-ratio H/F calculés étaient de 2,55 chez les enfants et de 3 chez les adultes (**figure 12**).

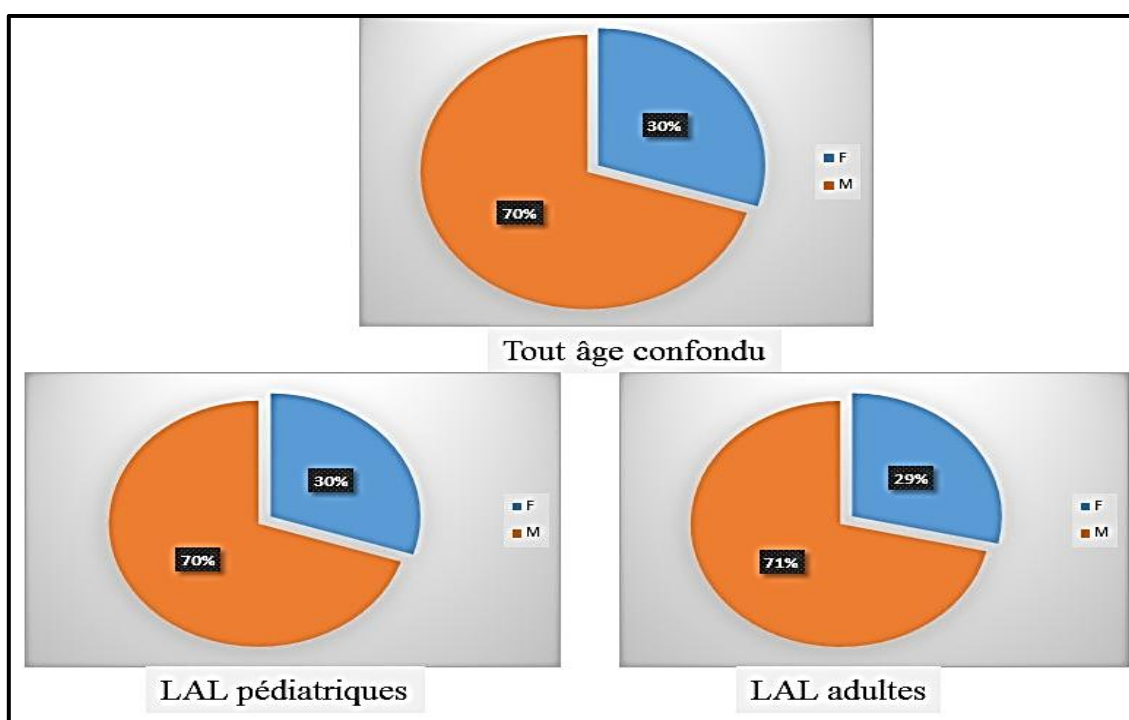


Figure 12 : Sex-ratio des patients LAL.

La prédominance masculine observée dans notre série pour les LAL est également retrouvée dans la littérature. En effet, d'après **Kaid (2011)** l'incidence des LAL est plus élevée chez les mâles que chez les femelles quel que soit l'âge. Sauf que le sexe ratio dans notre étude n'est pas superposable avec d'autres études, comme celle de **(Khattar 2014)** où le sexe ratio est estimé à 1,47 et celle de **(Hourigan et Goldstone 2011)** qui ont trouvé un sexe ratio de 1,15 **(Khattar et al., 2014)**.

Toutes les données bibliographiques disponibles sur l'épidémiologie des LAL rapportent que l'incidence de cette hémopathie présente un sex-ratio en faveur d'une légère prédominance masculine (en moyenne entre 1 et 1,5). Cette prédominance devient de plus en plus marquée avec l'âge et avoisine le 2. Cette tendance a été expliquée par plusieurs auteurs par le fait qu'il y'a une exposition plus marquée à des substances potentiellement cancérigènes avec l'âge. Ces expositions sont en rapport avec des habitudes liées au mode de vie (consommation de tabac) ou plutôt en rapport avec la profession exercée (agriculture, métallurgie, industrie pétrochimique). Les hommes sont plus sujets à ces expositions que les femmes **(Huguet et Récher, 2011)**.

4- Provenance :

La répartition géographique des patients en fonction de leur lieu de résidence montre qu'une grande majorité d'entre eux habitent la ville de Constantine (18%) ainsi que les wilayas limitrophes comme Mila, Skikda et Oum El Bouaghi avec respectivement 18%, 17% et 16% des cas de LAL enregistrés au niveau du CHUC durant ces trois dernières années. Un nombre de cas moins important a été enregistré pour les patients LAL en provenance des villes d'El Oued, Tébessa et Jijel avec respectivement 10, 08 et 08 cas consignés. Pour les wilayas de Annaba, Batna, Khenchela, Ouargla et Touggourt, un seul cas provenant de chacune a été signalé.

Tableau I : Répartition géographique des patients LAL.

Annaba	Batna	Constantine	El Oued	Jijel	Khenchela	Mila	Ouargla	Oum El Bouaghi	Skikda	Tébessa	Touggourt
01	01	19	10	08	01	19	01	17	18	08	01

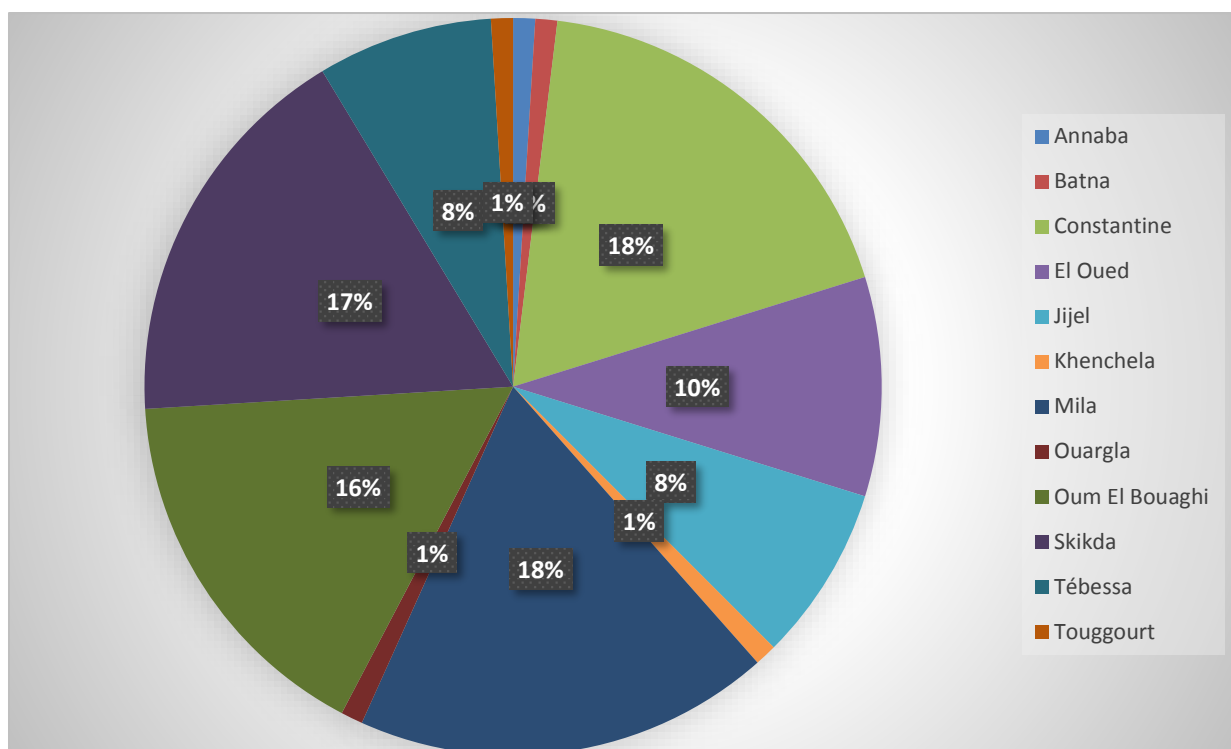


Figure 13 : Répartition géographique des patients LAL.

L'observation de près de ces résultats nous permet de dresser deux constats majeures. En premier lieu, nous avons constaté l'orientation vers le service d'hématologie et plus particulièrement vers le service de pédiatrie, des cas de LAL provenant de wilayas n'appartenant pas à la zone géographique de l'Est algérien. En effet, dans cette rétrospective de 3 ans, nous avons constaté la présence de 10 cas de la localité d'El Oued, 01 cas de Ouargla ainsi qu'un autre cas de Touggourt. Durant notre travail de recherche au niveau des deux services concernés, une charge importante a été constatée, et ce du fait qu'il s'agissait là de la seule structure de santé spécialisée dans la prise en charge de ces hémopathies malignes qui, drainant ainsi une population en quête de soins et de prise en charge provenant de plusieurs régions de l'Est et du Sud Algérien. Malheureusement, il a été constaté que des familles venant du Sud se voient même contraintes d'abandonner le traitement de leurs proches du fait des coûts très lourds du déplacement.

Le deuxième constat fait sur cette répartition géographique des patients LAL est le nombre important des cas de LAL provenant des wilayas de Mila, Skikda et Oum El Bouaghi, et qui était approximativement égal à ceux originaires de Constantine. Cette constatation ne trouve de sens qu'en pondérant le nombre de cas enregistrés sur trois ans par rapport au nombre d'habitants des villes concernées.

En effet, selon l'Office National des Statistiques (ONS), alors que le nombre d'habitant de la ville de Constantine est de 943 111, celui des villes de Mila est de 768 418, Skikda 904 195 et Oum El Bouaghi 644 364 habitants (ONS, 2008). Ces résultats suggèrent une très forte incidence des LAL, particulièrement dans la wilaya d'Oum El Bouaghi. Ces observations peuvent être expliquées par l'aspect plus rural de ces aires géographiques.

En milieu professionnel, de nombreuses études ont montré une augmentation du risque d'hémopathies malignes pour des niveaux d'exposition professionnelle élevés et pendant de longues périodes. Les populations agricoles et, plus largement, rurales, sont potentiellement exposées aux pesticides du fait de la proximité de leur lieu de résidence vis-à-vis des lieux d'application de pesticides. Plusieurs études montrent que les expositions aux pesticides des populations étaient largement corrélées à leur lieu de résidence, à la distance qui sépare leur lieu de résidence des surfaces agricoles consommatrices de pesticides. Mais un lien causal reste cependant à démontrer, car d'autres facteurs de risque présents peuvent jouer un rôle dans les associations trouvées (Sommelet *et al.*, 2003).

5- Antécédents familiaux médicaux :

À partir des données recueillies, nous avons pu classer nos malades selon leurs antécédents familiaux. 71% n'ont aucun antécédent pathologique ou chirurgical mentionné dans le dossier médical. Parmi les antécédents pathologiques, le diabète occupe le premier rang avec 12% d'antécédents diabétiques dans notre série. Environ 06% de nos LAL présentaient des antécédents d'HTA. Enfin, pour 03% de notre population d'étude, les antécédents ne sont pas indiqués. Chez 02% seulement, nous avons relevé des antécédents de LAL (figure 14).

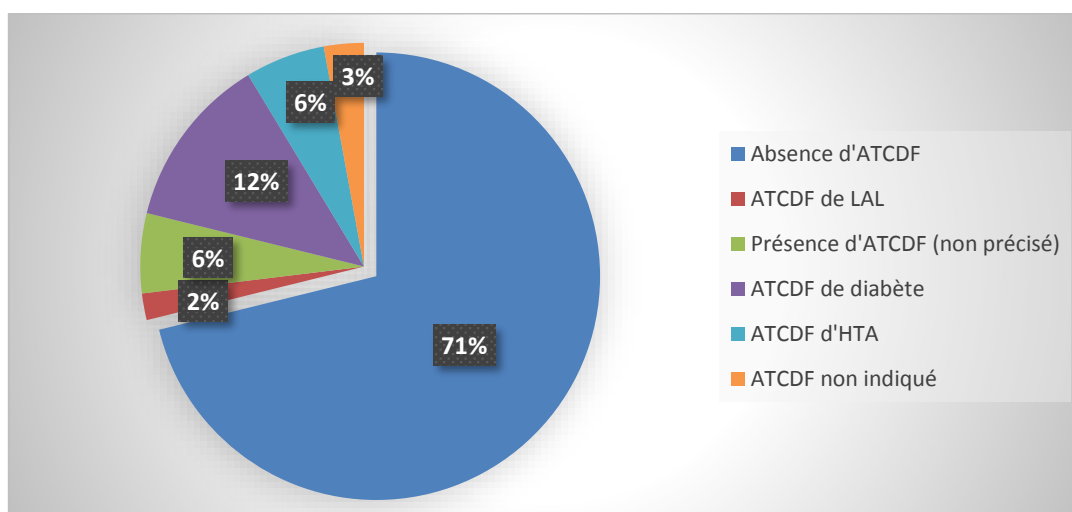


Figure 14 : Répartition selon la présence ou non d'ATCDF des patients LAL.

Des agrégations familiales ont été décrites pour les différents types d'hémopathies malignes, et en particulier dans les LLC et les lymphomes. Ces agrégations regroupent souvent plusieurs types d'hémopathies lymphoïdes. Des hémopathies malignes apparaissent également dans des maladies héréditaires comme l'ataxie télangiectasie, le syndrome de Bloom, l'anémie de Fanconi, le syndrome de Li et Fraumeni. Ces facteurs familiaux ne sont à même d'expliquer qu'une très faible proportion des cas. Selon la littérature un facteur héréditaire, est le plus souvent soupçonné devant une agrégation familiale de leucémies aiguës (Évrard *et al.*, 2006). La LAL survient par cas isolés, mais parfois on assiste à plusieurs cas de leucémies dans la même famille, probablement en rapport avec un facteur familial prédisposant. Une association significative entre la survenue d'une LAL de l'enfant et une histoire familiale d'hémopathie maligne ou de cancer solide a été observée dans une étude française de type cas-témoin avec un risque relatif de 2,2. Ce risque augmente de 20% si la leucémie est apparue avant 6 ans et de 100% si la leucémie est apparue avant 1 an (Perillat *et al.*, 2001).

6- Consanguinité :

En ce qui concerne la consanguinité, nos résultats démontrent qu'une proportion très élevée (81%) de nos patients sont issus d'un mariage non consanguin, alors que 14% d'entre eux sont issus de mariages consanguins, et que pour les 5% restants cette information n'était pas mentionnée dans les dossiers étudiés (figure 15). Cette distribution s'explique probablement par l'absence ou la faible influence de la consanguinité dans la survenue d'une LAL. Même si ce paramètre a été exploré par plusieurs études, à notre connaissance, aucune association significative n'a été rapportée.

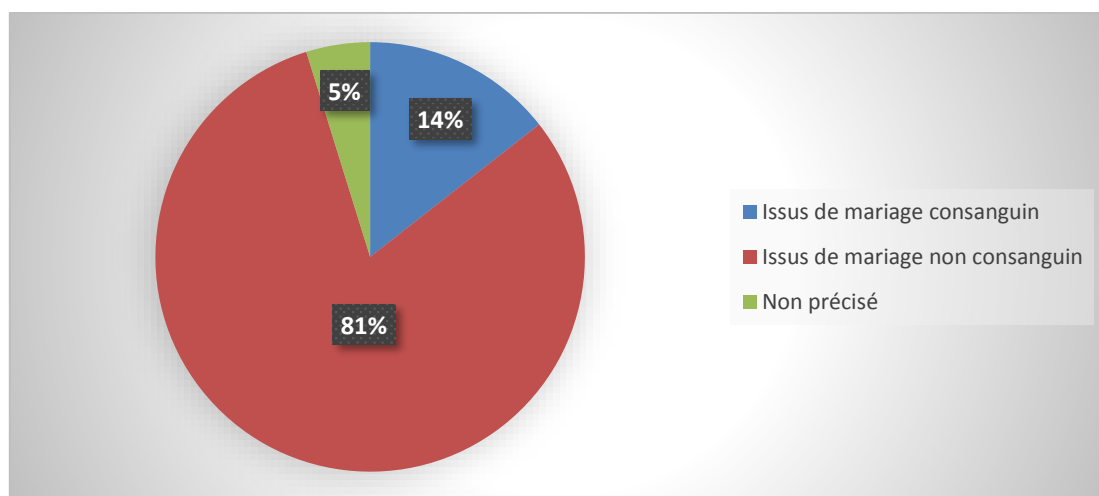


Figure 15 : Répartition selon la consanguinité des patients LAL.

7- Le type de LAL :

Dans cet effectif, la LAL-B prédominait avec 81% des cas tandis que la LAL-T n'était que de 16 %. Il est à signaler que le type de LAL n'est pas précisé pour 3 cas : deux âgés de 15 ans et un de 16 ans. Le sous-type de LAL a été précisé pour 6 patients âgés respectivement de 7 (3 cas), 9, 12 et 29 ans. Pour les 5 premiers il s'agissait d'une LAL-T alors que pour le dernier c'est une LAL-B à chromosome Philadelphie (**figure 16**).

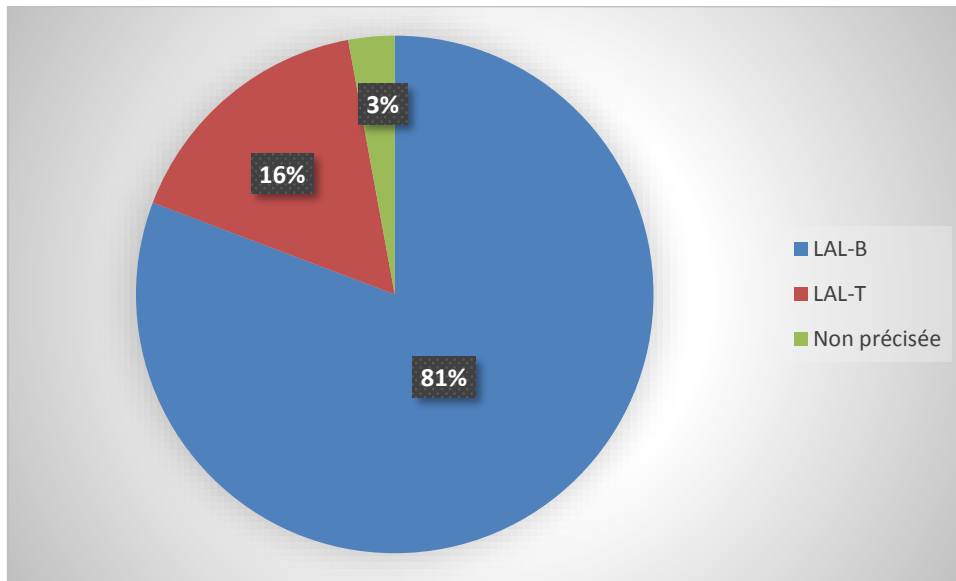


Figure 16 : Type de LAL (tout âge confondu).

Parmi les 79 enfants leucémiques, 71% d'entre eux présentaient une LAL-B et 29% qui présentent une LAL-T (**figure 17**).

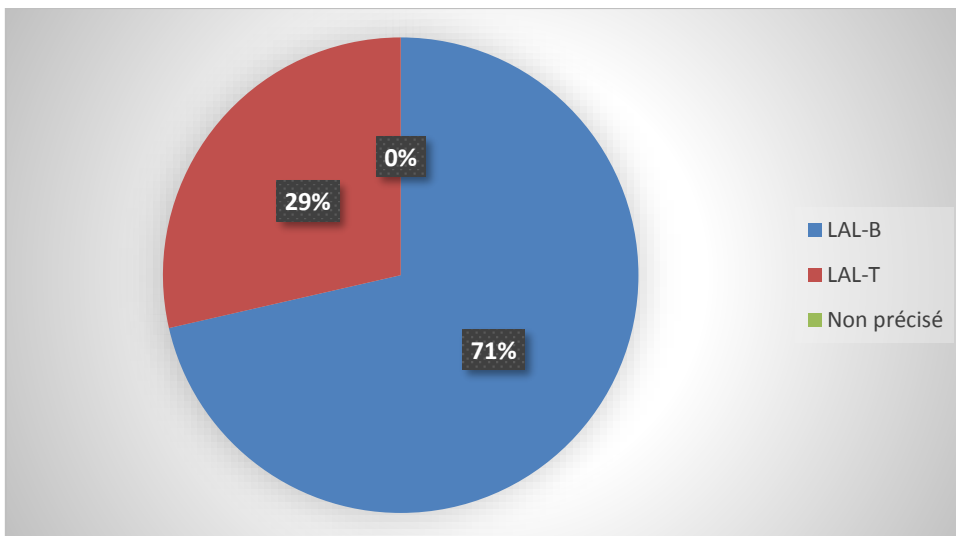


Figure 17 : Type de LAL pédiatriques.

D'une manière générale, les hémopathies malignes se présentent de façon très différente chez l'enfant. Très majoritairement, elles se développent aux dépens des précurseurs des lignées lymphoïdes, avec une forte prépondérance de la lignée B. Les LAL n'échappent pas à cette règle. En effet, en médecine pédiatrique, les LAL représentent environ 80% des cas, et 75% d'entre elles sont des LAL-B (**Baldi *et al.*, 2008**).

Dans le groupe des LAL de l'adulte, on dénombre 71% des cas qui présentaient une LAL-B et 29% qui présentaient une LAL-T (**figure 18**).

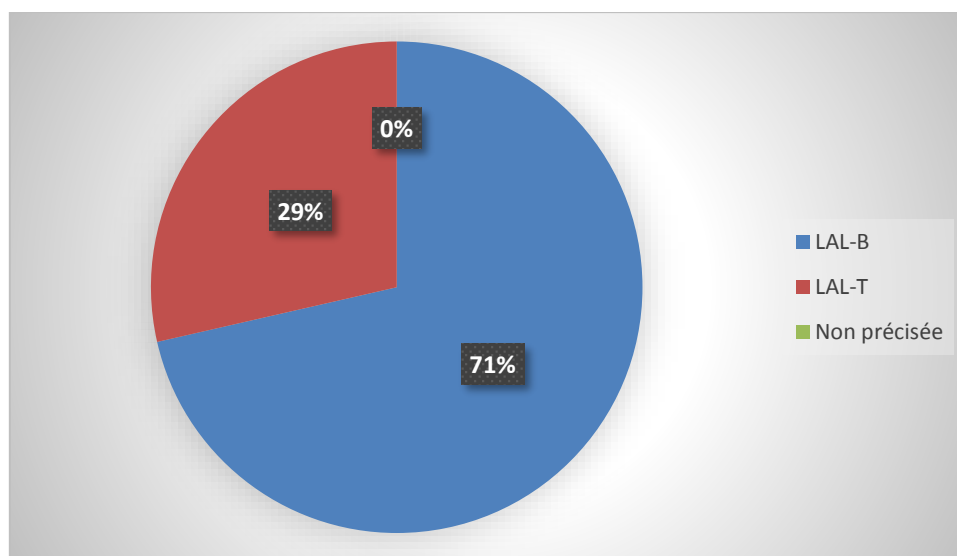


Figure 18 : Type de LAL adultes.

Nos résultats sont en accord avec les données de la littérature qui rapportent toutes un ratio proche de 3 pour 1 pour la répartition des LAL-B par rapport au LAL-T et ce quel que soit l'âge (**Maynadié et Troussard, 2015**). Cependant, dans quelques revues de la littérature, une certaine disparité des proportions LAL-B / LAL-T est observée entre enfant et adulte, mais la nette prédominance des formes B est toujours d'actualité. À titre d'exemple, selon **Bousquet (2008)**, les hémopathies à précurseurs T représentent environ 15% des cas des LAL de l'enfant et 25% des LAL de l'adulte. Selon **Huh Yo et Ibrahim (2000)**, environ 75% des cas de LAL de l'adulte sont de la lignée B et 25% sont de la lignée T, alors que pour **Doval (2015)**, les LAL de la ligne B représente 80 % des LAL alors que les LAL de la ligne T sont les moins fréquents avec un pourcentage de 20%. Dans un autre rapport, parmi les LAL, 80% dérivent de précurseurs ou progéniteurs des lymphocytes B (LAL pré-B), alors que moins de 5% dérivent de cellules B matures, pour le reste, 15%, il s'agissait de LAL à cellules T (**Diller, 2011**).

Pour les LAL-B, l'analyse de notre série prise dans son ensemble (tout âge confondu) a montré une prédominance masculine que ce soit pour les LAL-B ou les LAL-T. En effet, pour les LAL-B, 58 de nos patients étaient de sexe masculin et 26 de sexe féminin ce qui a donné lieu à un sex-ratio M/F de 2,23. Pour les LAL-T, le sous-groupe était composé de 14 patients de sexe masculin et 3 de sexe féminin, arborant ainsi un ratio M/F de 4,66. Comme signalé précédemment, le type de LAL n'était pas précisé pour 3 patients : l'un de sexe féminin et deux de sexe masculin (**figure 19**).

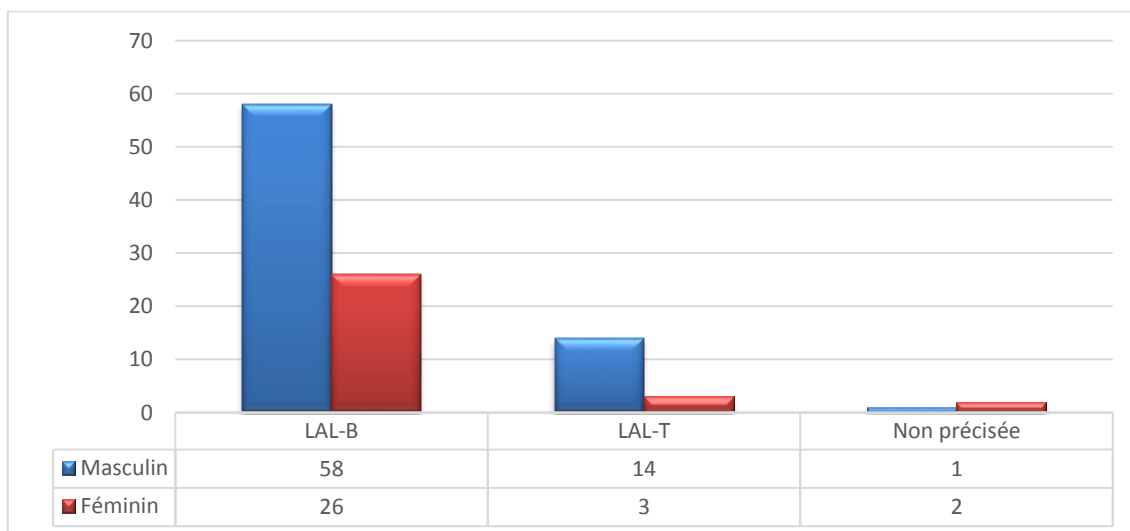


Figure 19 : Relation type de LAL/sex-ratio (tout âge confondu).

Par la suite, nous avons essayé d'évaluer cette répartition du type de LAL dans les deux sexes en fonction de l'âge. Dans le groupe des LAL pédiatriques, nous avons observé un sexe ratio de 2,47 pour les LAL-B et de 2,66 pour les LAL-T (**figure 20**).

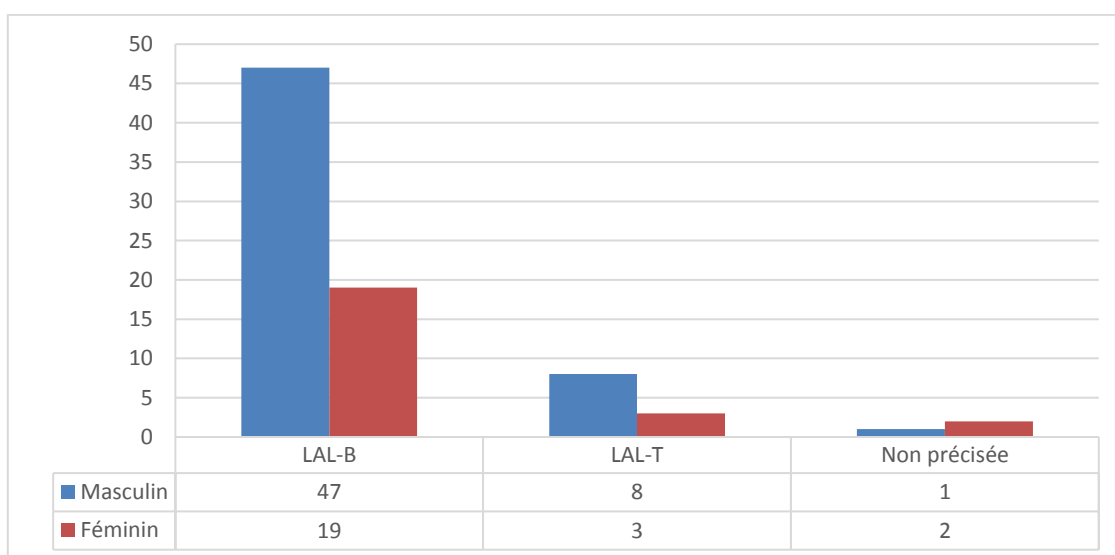


Figure 20 : Relation type de LAL pédiatrique/sex-ratio.

Chez les adultes, nous avons observé un sexe ratio de 1,5 pour les LAL-B. Tous nos patient dans ce groupe d'âge atteint de LAL-T sont de sexe masculin (**figure 21**).

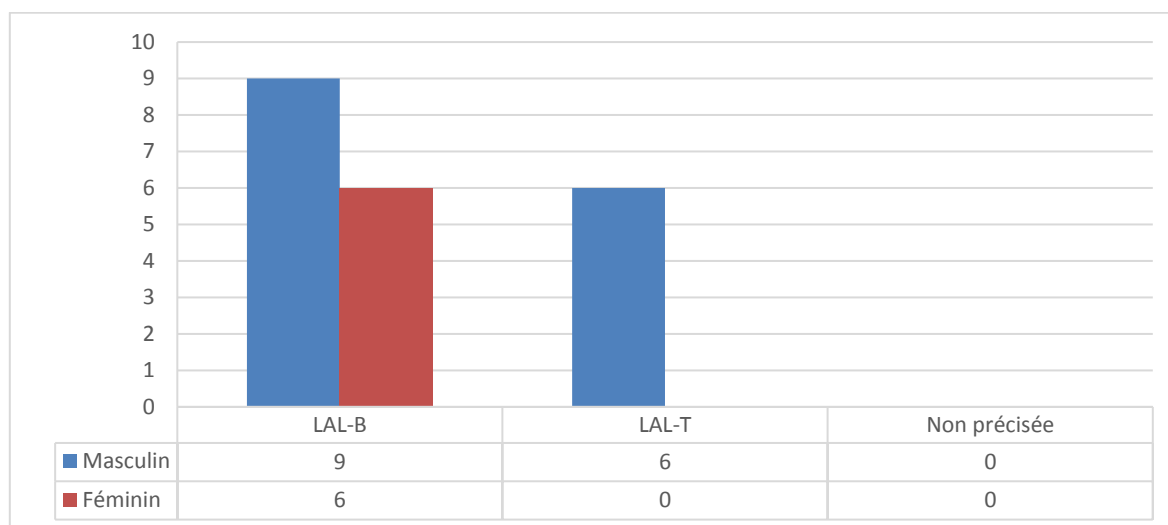


Figure 21 : Relation type de LAL adultes/sex-ratio.

Ces résultats sont en accord avec les données de la littérature qui rapportent un sex-ratio en faveur d'une prédominance masculine aussi bien pour les LAL-B, les plus fréquentes, que pour les LAL-T. Cependant, pour les LAL-T cette tendance est beaucoup plus marquée.

Nos résultats sont proches des données de la littérature qui rapportent des sex-ratio de 4 pour les LAL-T et de 1,2 pour les LAL-B. Les deux différences relevées concernaient un sex-ratio plus marqué pour les LAL-B pédiatrique (2,47 dans notre série). Le sex-ratio était très marqué pour les LAL-T adulte ou tous les patients étaient des hommes. Cette différence relevée entre les LAL pédiatriques et adultes n'a pas été rapportée dans la littérature. Le constat fait dans cette étude serait probablement dû à un biais statistique causé essentiellement par la taille réduite de notre échantillon.

8- Signes cliniques :

Dans notre cohorte, nos patients LAL présentaient des signes cliniques très variés et à des degrés divers. En ce qui concerne les signes anémiques, ils sont présents chez 68,27% des patients de notre série et absents chez 25%. La présence ou non de ces signes n'a pas été précisé pour 6,73% des cas. Chez 11,54% des patients, des signes d'infection ont été notés contre 80,77% des patients qui ne les présentaient pas et 7,69% pour qui cette précision n'a pas été faite. Des indications hémorragiques sont présentes chez 36,54%, absentes chez 54,81% et non précisées chez 8,65% des cas (**figure 22**).

Pour ce qui est du syndrome tumoral, des signes ont été relevés chez la grande majorité de nos patients. En effet, ces signes concernaient 84,62% de notre cohorte de LAL contre 6,73%. Pour 8,65% des cas, la présence ou non des signes de ce syndrome n'a pas été avancée (**figure 22**). Il est à signaler que la distribution de ces signes cliniques était très ressemblante entre les deux sexes, entre adultes et enfants ainsi qu'entre sous-type B et T.

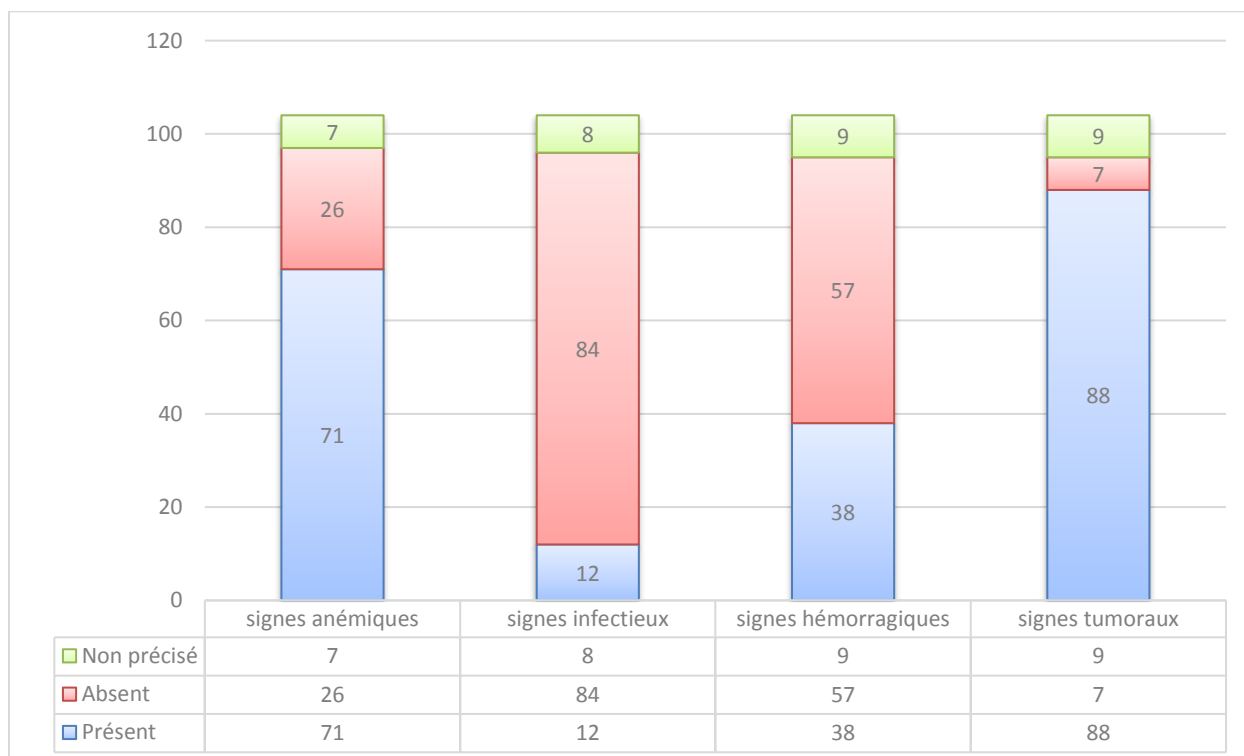


Figure 22 : Distribution des signes cliniques chez les patients LAL.

Nos résultats sont en parfait accord avec les données de la littérature qui rapportent une symptomatologie clinique assez riche et très polymorphe, marquée essentiellement par des signes tumoraux et anémiques quasi constants, et qui étaient présents respectivement chez 84,62% et 68,27% des patients de notre cohorte. Les signes hémorragiques et d'infection dans les LAL sont inconstants, mais ne sont pas rares. Nous les avons relevés chez 36,54% et 11,54% des leucémiques de notre série (**Sébahoun, 2006**).

9- Rechute :

Sur les 104 cas de LAL enregistrés, chez 84% il a été noté une rémission complète tandis que 10% d'entre eux ont rechuté. Pour 6% des cas, ce point n'a pas été précisé (**figure 23**).

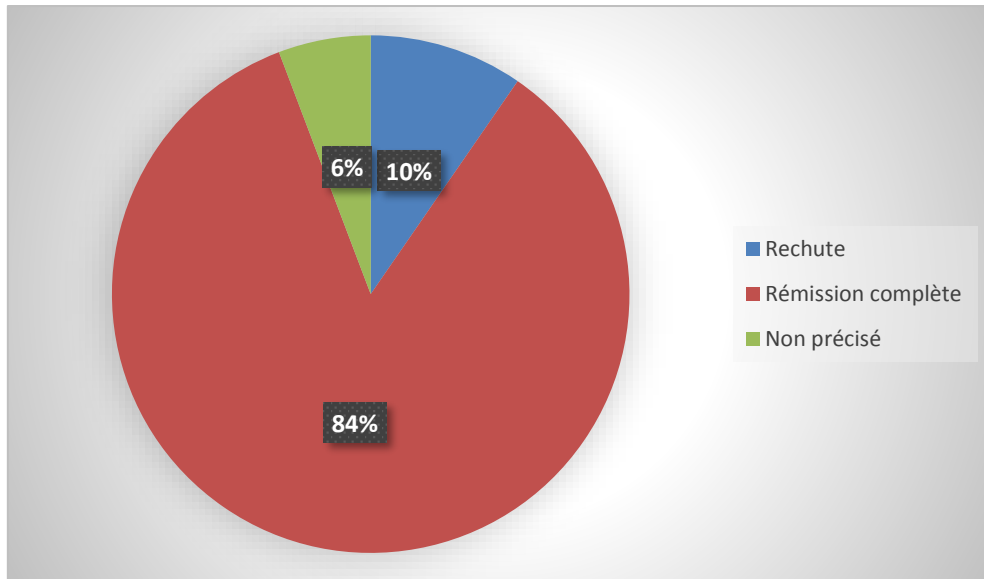


Figure 23 : Rémission / Rechute des patients LAL (tout âge confondu).

La prospection de ce paramètre dans les deux groupes d'âge a révélé une grande disparité entre enfants et adultes, sous-tendant un pronostic différent en fonction de l'âge. En effet, dans le groupe des LAL pédiatriques, le taux de rémission complète était de 94% (**figure 24**), alors que dans le groupe des LAL de l'adulte, ce taux avoisinait les 57% (**figure 25**). Même si dans ce dernier sous-groupe le statut rémission complète / rechute n'a pas été précisé pour 14% des adultes LAL, le taux de rechute demeure très important (29% des cas) en comparaison avec ce qui est observé en milieu pédiatrique (05% des cas).

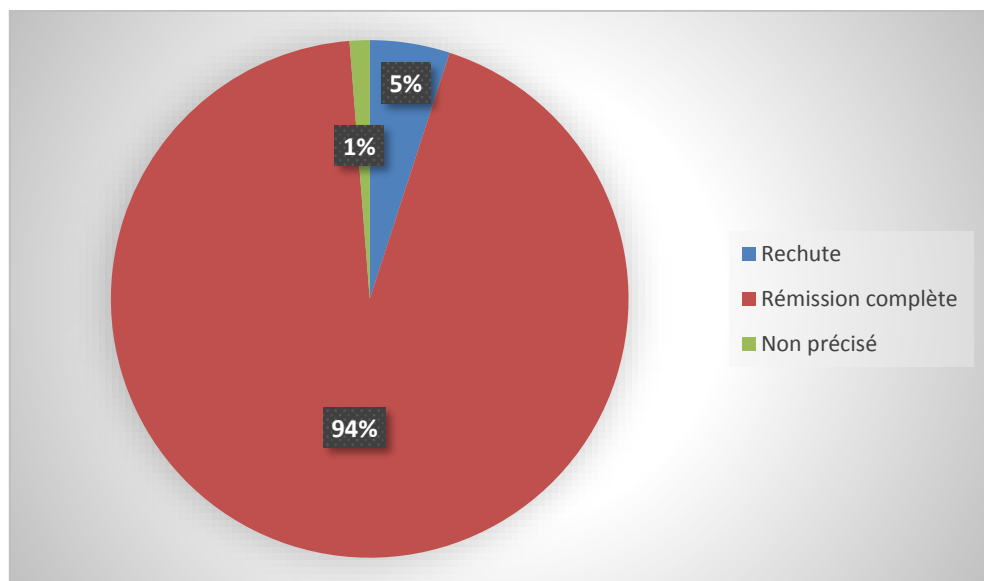


Figure 24 : Rémission / Rechute des patients LAL pédiatriques.

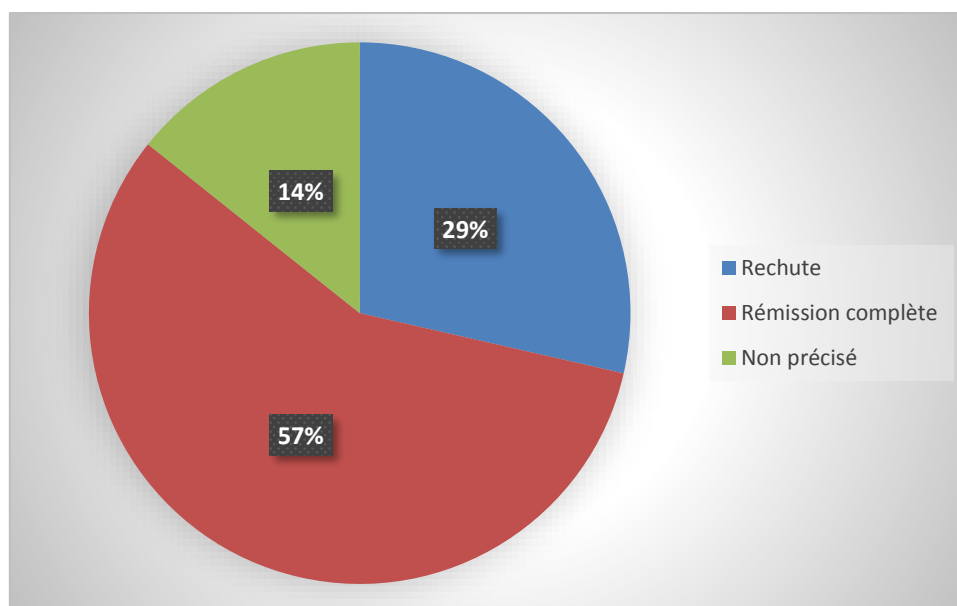


Figure 25 : Rémission / Rechute des patients LAL adultes.

La survie, bien que globalement bonne, est extrêmement variable d'une hémopathie maligne à l'autre. D'après les données de la littérature, chez l'enfant, celles des LAL-B est de l'ordre de 80% tout âge confondus, celle des LAL-T de 70% et celle des LAM d'un peu moins de 60%. Au sein même des LAM, la survie à 5 ans des LAM3 (promyélocytaires) est relativement bonne (environ 80%), alors que celle des LAM6 (érythrocytaires) et des LAM7 (mégacaryocytaire) est de l'ordre de 40%. Le pronostic est plus sombre lorsque la leucémie survient avant l'âge de 1 an, quel que soit le type (**Baldi et al., 2008**).

La LAL est principalement une pathologie de l'enfant et de l'adolescent avec un pic d'incidence vers quatre ans. Le pronostic des LAL de l'enfant s'est amélioré de façon spectaculaire durant les quatre dernières décennies. Les protocoles développés dans les années 1990 permettent d'obtenir un taux de guérison proche des 80%. Malheureusement, les résultats obtenus chez l'adulte sont nettement moins bons avec des taux de guérison plus fréquemment compris entre 30 et 40% (**Thomas, 2003**).

Cette différence s'explique en partie par une fréquence plus élevée de formes à un risque élevé de rechute chez l'adulte (phénotype T, cytogénétique défavorable, formes hyperleuocytaires) mais également une plus grande résistance aux corticoïdes et à la chimiothérapie. Il existe par, ailleurs, une différence de dose/intensité entre les protocoles pédiatriques et adultes pour des raisons de tolérance. Dans ce sens, les indications d'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques sont donc beaucoup plus étendues chez l'adulte que chez l'enfant (**De Botton et al., 2002**).

Dans la perspective de dresser le profil clinico-biologique des patients qui ont été sujets à des rechutes dans notre étude, nous avons regroupés toutes les données disponibles les concernant.

Nos patients LAL, déclarés en rechute, au nombre de 10. Quatre d'entre eux étaient pris en charge au niveau du service de pédiatrie alors que 06 étaient soignés au niveau du service d'hématologie. L'analyse de données recueillies chez les patients en rechute indique une moyenne d'âge $25,20 \pm 20,03$ et un sex-ratio M/F de 1. En ce qui concerne le type de la prolifération, 70% sont des LAL-B, 10% sont des LAL-T et pour 20% le type de LAL n'est pas précisé. La même panoplie de signes cliniques a été observée avec des signes tumoraux dans 80% des cas, anémiques dans 70% des cas, hémorragiques dans 40% des cas et infectieux dans 30% des cas. Environ 70% d'entre eux présentaient des antécédents.

Tableau II : Profil clinico-biologique des patients LAL en rechute.

Age	Sexe	ATCDF	Type	Consanguinité	signes anémiques	signes infectieux	signes hémorragiques	Signes tumoraux
4	M	LAL	LAL-B	-	+	-	+	+
8	F	Diabète	LAL-B	+	+	-	+	+
15	F	-	/	-	+	+	+	+
16	F	Diabète	/	-	/	/	/	/
17	M	Diabète	LAL-B	+	+	-	-	+
19	M	HTA	LAL-T	-	-	+	-	+
24	M	-	LAL-B	/	+	-	-	+
27	M	-	LAL-B	-	-	-	-	+
60	F	+	LAL-B	-	+	-	-	-
62	F	HTA	LAL-B	-	+	+	+	+

Parmi les facteurs de pronostic reconnus des LAL, les plus importants sont l'âge, le sexe, l'hyperleucocytose et la cytogénétique. D'autres facteurs de risque sont encore débattus tels que le type de LAL et la présence d'antécédents familiaux d'hémopathies malignes (Ducassou, 2018). Dans notre cohorte, l'effet de plusieurs paramètres tels que l'hyperleucocytose et la cytogénétique sur la rechute ne pourra pas être évalué, et ce du fait que ces informations n'étaient pas mentionnées dans les dossiers des malades.

Dans notre cohorte, l'effet de l'âge semble marqué car l'essentiel des patients LAL en rechute sont des adultes. Ces résultats sont en parfait accord avec les données de la bibliographie. Le sexe masculin est le plus souvent associé à un risque de rechute plus important que chez les LAL de sexe féminin. Cette observation n'a pas été reproduite dans notre étude du fait que le sex-ratio de la catégorie des patients en rechute était de 1.

En ce qui concerne le sous-type de LAL, nos patients en rechute avaient, pour la plupart, une LAL-B (70%) ce qui est en contradiction avec les données de la littérature qui indiquent un taux d'échec beaucoup plus important dans les LAL-T (**Ducassou, 2018**).

Il est regrettable que le caryotype, considéré comme le facteur pronostic le plus important et dont l'effet n'est pas conditionné par les autres facteurs, n'a pas pu être évaluée dans notre étude. Pour aucun des patients en rechute, le résultat de l'analyse cytogénétique n'a été mentionné.

II- Étude cytogénétique :

Dans le volet cytogénétique de notre étude, nous avons soumis 10 patients atteints de LAL et pris en charge durant la période de notre étude dans les structures de soins choisies, à l'examen du caryotype. Après une explication exhaustive donnée au patient ou à son tuteur légal présent, un consentement pour utilisation de prélèvement sanguin à des fins de recherche a été donné. Les caractéristiques clinico-biologiques des patients ayant acceptés de participer à notre étude et caryotypés sont exposés dans le tableau ci-dessous.

Tableau III : Caractéristiques clinico-biologiques des patients LAL caryotypés.

N°	Sexe	Age	Type de LAL	Consanguinité	ATCD	Date du prélèvement	Rechute
01	M	8 ans	LALB	NON	Non	07/04/2019	Non
02	M	5ans	LALB	NON	Non	07/04/2019	Non
03	F	10ans	LALB	NON	Non	07/04/2019	Non
04	M	16ans	LALB	?	Oui	08/04/2019	Non
05	M	5ans et demi	LALB	NON	Non	08/04/2019	Non
06	M	3 ans et demi	LALBII	NON	Non	08/04/2019	Non
07	M	7ans	LALB	NON	Non	14/04/2019	Non
08	M	8ans	LALB	NON	Oui	14/04/2019	Non
09	F	60ans	LALB ph+	NON	Oui	21/04/2019	Oui
10	M	9ans	LALB	NON	Non	21/04/2019	Non

Il est à signaler que tous ces patients caryotypés étaient en chimiothérapie d'induction ou de consolidations. Neuf d'entre eux étaient pris en charge en pédiatrie, alors qu'un seul cas a été recruté au niveau du service d'hématologie. Ces patients ont tous une LAL du type B confirmée au diagnostic clinique et biologique.

Le sous-type de LAL n'a été mentionné que pour deux cas : il s'agit d'un enfant de 3 ans et demi qui présentait une LAL-BII, et un autre cas correspondant à une femme de 60 ans, en rechute, présentant une LAL ph+.

Après la réalisation du caryotype à l'unité de cytogénétique du CRBt et la lecture d'un nombre suffisant de mitoses pour chaque patient sur plusieurs lames, tous les caryotypes étaient euploïdes et ne présentaient aucune anomalie chromosomique de nombre. L'échec de la technique du R-banding ne nous permet pas de confirmer la présence ou non d'anomalies chromosomiques de structure. Les caryotypes des patients 06, 08 et 09 sont exposés dans les figures ci-dessous.

- **Patient N° 06 :**

Il s'agit d'un enfant âgé de 3 ans et demi demeurant à Constantine diagnostiqué pour une LAL-B stade B commune (dite LAL-BII selon la classification EGIL). La réalisation du caryotype pour ce patient a donné le résultat suivant (**figures 26 et 27**).



Figure 26 : Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé.
(Grossissement x100).

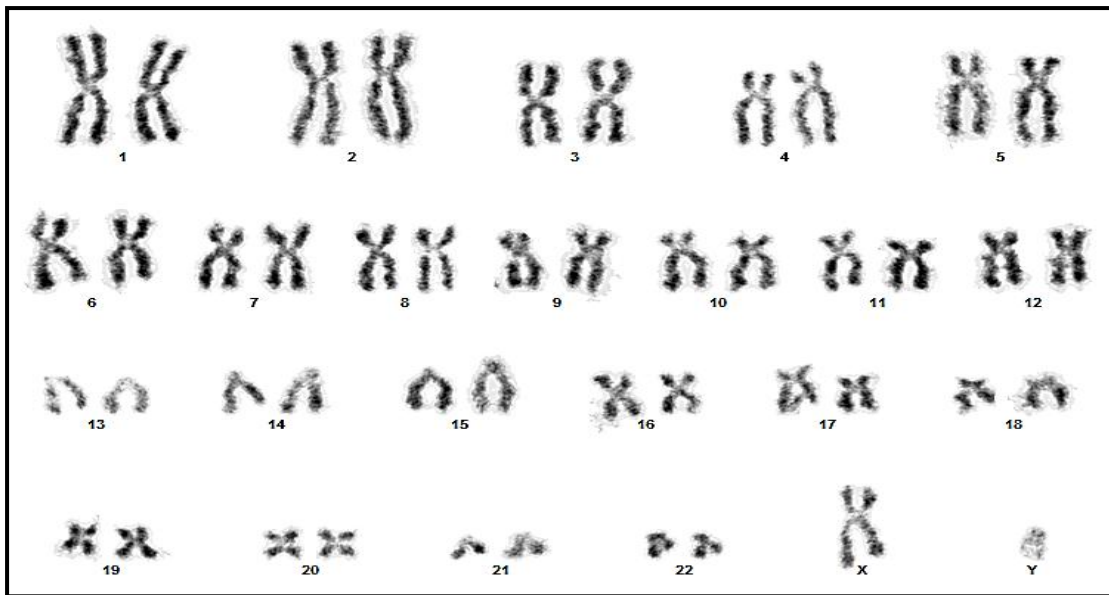


Figure 27 : Caryotype du patient N°06.

L'analyse cytogénétique montre que le caryotype est euploïde ne présentant, *à priori*, aucune anomalie chromosomique de nombre. Les chromosomes obtenus sont de qualité moyenne, mais bien individualisés, sous réserve que la technique du banding n'a pas réussi donc il n'est pas à notre portée de vérifier la présence ou l'absence d'anomalie de structure. Le patient en question présente une LAL-B communes (BII selon EGIL), cette dernière est due à deux types de translocation : la première est la translocation $t(12;21)$ qui est présente dans environ 25% des LAL-B de l'enfant, tandis que les cas rapportés chez l'adulte sont plutôt rares (2%), la deuxième translocation est la $t(9;22)$, elle est fréquente dans les LAL de l'adulte puisqu'elle est retrouvée dans environ 30% des LAL-B, tandis qu'elle reste rare chez l'enfant (3% des LAL-B).

Selon les données de la littérature mentionnées ci-dessus, on peut orienter notre recherche sur la translocation $t(12;21)$ et qu'il y a de grandes chances que ça soit l'anomalie en cause pour ce patient. Cette dernière est indécélable par cytogénétique conventionnelle, mais accessible aux techniques de banding, de FISH ou de biologie moléculaire. Les LAL-B avec $t(12;21)$ sont globalement associées à un pronostic favorable avec des taux de rémission complète supérieurs à 90% et des probabilités de survie sans maladie à 5 ans supérieures à 85%, bien que des rechutes tardives soient parfois observées (Duployez et Preudhomme, 2015).

On estime que des anomalies chromosomiques sont présentes dans plus de 90 % des cas au sein du clone tumoral, l'analyse caryotypique ne met en évidence des anomalies que chez moins de 30 % des patients. Les raisons de ce taux d'échec élevé sont essentiellement le faible index prolifératif des plasmocytes (Amorim *et al.*, 2015).

- **Patient N°08 :**

Il s'agit d'un enfant âgé de 8 ans et demeurant à la ville d'Oum El-Bouaghi. Il a été diagnostiqué pour une LAL-B. La réalisation du caryotype pour ce patient a donné le résultat suivant (figures 28 et 29).

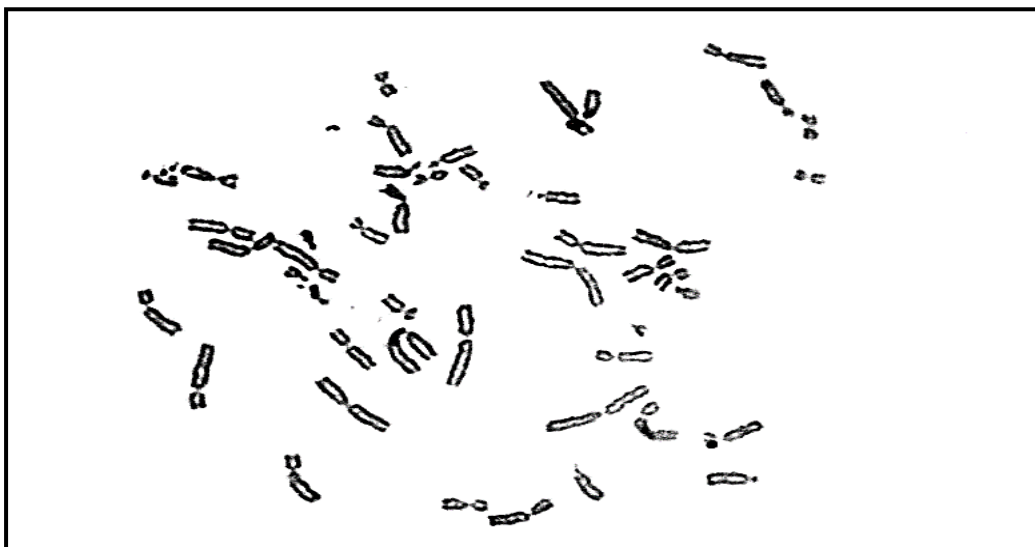


Figure 28 : Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé. (Grossissement x100).

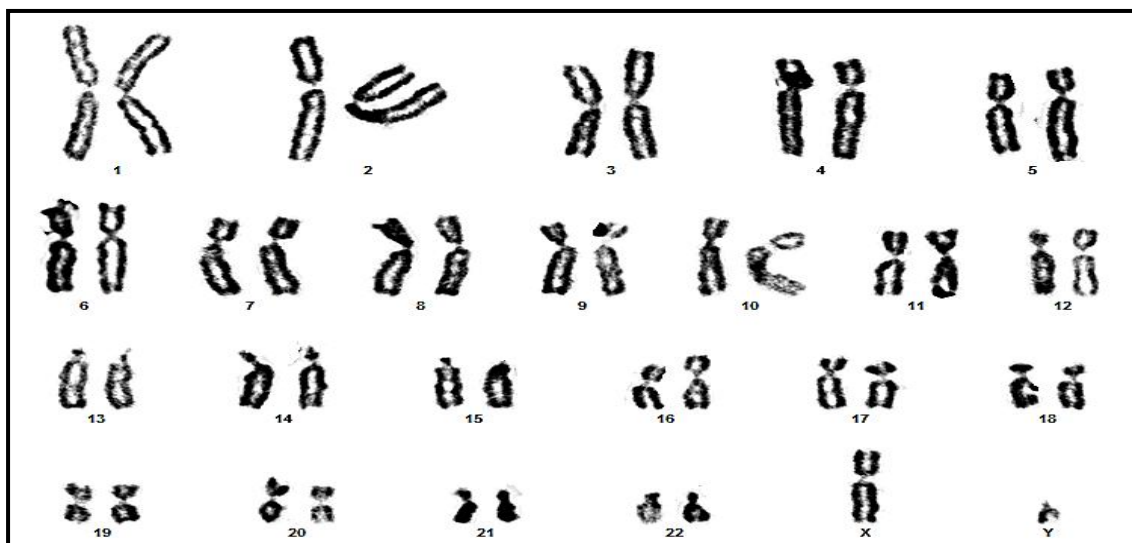


Figure 29 : Caryotype du patient N°08.

L'analyse cytogénétique réalisée sur ce patient indique un caryotype euploïde ne comportant aucune anomalie chromosomique de nombre ni de structure. Là aussi, la technique du banding n'a pas réussi. Cependant, les chromosomes obtenus sont de bonne qualité et bien individualisés.

- **Patient N°09 :**

Il s'agit d'une femme âgée de 60 ans demeurant à Chalgoum, diagnostiquée pour une LAL-B à chromosome Philadelphie.



Figure 30 : Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé. (Grossissement x100).

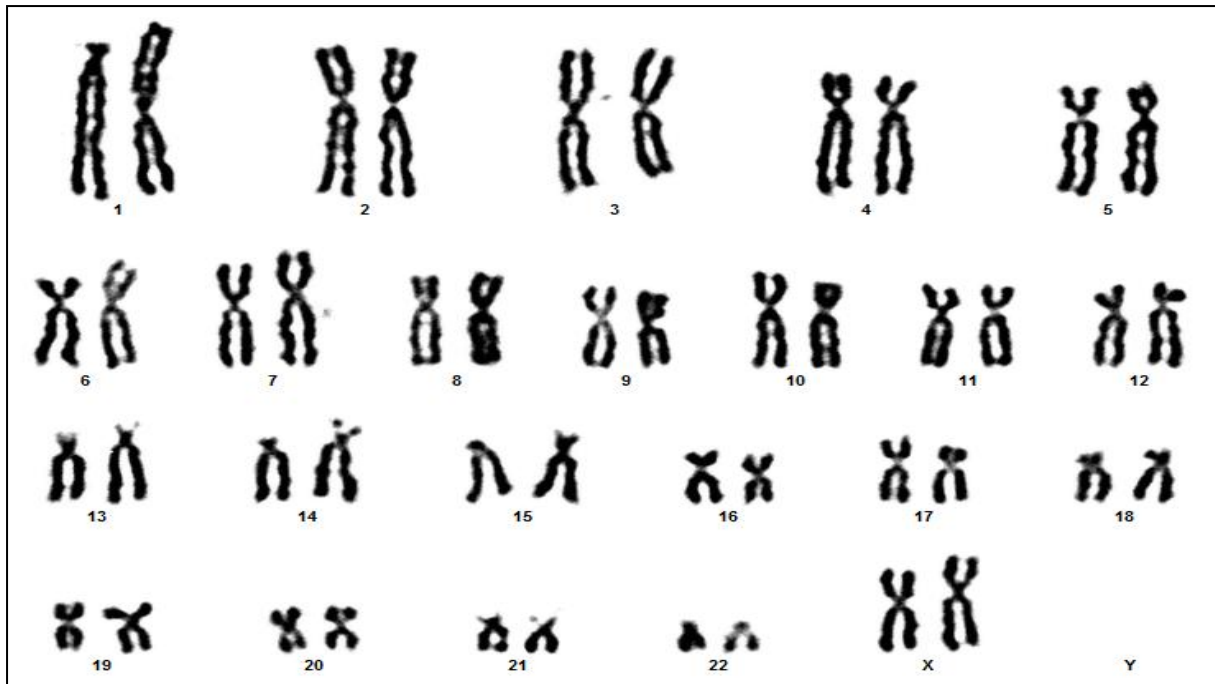


Figure 31 : Caryotype du patient N°09.

Le caryotype réalisé à partir du prélèvement sanguin de cette patiente est normal, ne présentant aucune anomalie de nombre, les chromosomes sont de très bonne qualité et bien individualisés. Malheureusement, le profil de bande R obtenu n'était pas exploitable pour ce cas de figure.

Cette patiente présente une LAL-B avec la translocation (9;22)(q34;q11) ou LAL-B ph⁺. C'est l'anomalie chromosomique la plus fréquente dans les LAL de l'adulte, les techniques de détection moléculaire de cette dernière sont très complémentaires du caryotype et permettent de « rattraper » les échecs et les caryotypes considérés comme normaux en raison d'une prolifération préférentielle de cellules normales (**Lafage-Pochitaloff et Charrin, 2003**).

Il est important de signaler que cette patiente diagnostiquée initialement avec une LAL-B ph⁺ est en rechute. Les chromosomes 9 et 22 sont d'apparence normale, mais l'absence de l'anomalie ne pourra pas être confirmée qu'en présence d'un profil de bandes R ou G. Une autre explication éventuelle est que l'anomalie responsable de la LAL chez cette patiente soit cryptique, invisible sur caryotype standard. Une autre possibilité est que le traitement d'induction que suit cette patiente a pu éradiquer la grande majorité des clones leucémiques porteurs de cette translocation. Malheureusement, nous ne pouvons pas donner une réponse définitive à ces questions qu'en ayant recours à la biologie moléculaire pour la détection et la quantification du transcrit de fusion Bcr-Abl.

Les LAL forment un groupe très hétérogène de leucémies dont les incidences, la répartition des immuno-phénotypes, des anomalies caryotypiques et le pronostic sont différentes chez l'enfant et l'adulte. Les données recueillies en Algérie suggèrent que l'incidence de cette pathologie est en augmentation constante ces dernières années, et plus particulièrement chez l'enfant.

Plusieurs études énoncent que l'étiologie des LAL reste inconnue avec environ 90% de cas idiopathiques. Néanmoins, des facteurs favorisants sont perçus dans 10% des cas ; certains liés à l'individu et d'autres liés à l'environnement. Il existe des disparités d'incidence des hémopathies lymphoïdes entre pays. Dans le cas spécifique des leucémies de l'enfant, en majorité lymphoblastiques, l'incidence se montre plus élevée dans les pays les plus industrialisés. Cette observation tend à suggérer accroissement du nombre de LAL enregistrés dans le pays dans les années à venir.

Malheureusement, des données classiques de l'épidémiologie descriptive des LAL tels que l'incidence et la survie relatives à la population algérienne ne sont pas disponibles. Les données mises à notre disposition, et qui découlent d'abondantes études régionales réalisées dans le cadre de travaux de recherche, ne reflètent pas la réalité épidémiologique de cette hémopathie en Algérie. Le profil des LAL dans notre pays ne pourra pas être défini sans le recueil strict de très nombreux critères (âge, sexe, lieu d'habitation, niveau socio-économique, expositions, type de traitement, etc..) pour donner des éléments de gestion de santé publique, mais aussi pour proposer des pistes étiologiques de prospection sur les LAL. Notre étude statistique nous a permis de dévoiler quelques lacunes lors de l'enregistrement des renseignements des patients. En effet, les dossiers médicaux sont souvent incomplets, et ne comportent que les données minimales nécessaires pour la prise en charge clinique des malades. Ces limitations rendent les résultats obtenus, les nôtres ainsi que toutes celles menées avec la même approche (étude sur dossier avec fiche d'exploitation), non représentatives de la réalité épidémiologique des LAL dans la région.

La triste réalité est que les LAL représentent le cancer pédiatrique le plus fréquent en Algérie. Elles sont responsables d'une mortalité non négligeable sans médication, et peuvent entraîner des séquelles graves à long terme. La détermination des facteurs pronostiques propres à chaque patient est essentielle afin d'ajuster le traitement, par l'emploi de thérapies ciblées, l'adaptation du protocole de chimiothérapie et la décision de réaliser ou non une allogreffe de moelle osseuse. Les caractéristiques génétiques des cellules tumorales sont un facteur pronostique fort.

La valeur pronostique de la cytogénétique des LAL persiste à l'heure actuelle même si les progrès en médecine ont permis d'améliorer le pronostic de certaines entités et si de nouveaux marqueurs moléculaires à forte valeur pronostique ont été mis en évidence. En Algérie, le recours à la cytogénétique en onco-hématologie est quasi inexistant. Les rares patients ayant accès à cet examen le font à l'étranger et à des coûts exorbitants. De par le mode, les protocoles thérapeutiques actuels combinent les marqueurs cytogénétiques et moléculaires établis sur les prélèvements au diagnostic, mais tiennent compte également du suivi de la maladie résiduelle quantifiée par des techniques moléculaires ou immuno-phénotypiques, afin de garantir une prise en charge optimale du patient. Malencontreusement, dans nos structures de santé, l'aspect moléculaire des hémopathies malignes en général et des LAL en particulier n'est pas apprécié à sa juste valeur.

En tenant compte de la valeur pronostique des anomalies chromosomiques clonales retrouvées dans la majorité des cas de LAL, le caryotype est devenu indispensable avant la mise en route du traitement car il conditionne la thérapeutique. La cytogénétique moléculaire FISH est utilisée souvent en complément du caryotype, là où l'interprétation de celui-ci peut être difficile dans cette pathologie. Dans certains cas, d'autres techniques que la FISH (RT-PCR, index ADN, SNP-array, MLPA, etc.) peuvent compléter la cytogénétique, soit parce qu'elles sont aussi informatives que la FISH, soit parce qu'elles découvrent des anomalies indétectables par FISH.

Même si nos résultats n'ont pas pu mettre en évidence la présence d'anomalies chromosomiques chez les patients LAL et ce pour plusieurs raisons (patients sous chimiothérapie, caryotype réalisé sur prélèvement sanguin, la non réussite du banding), la valeur de la cytogénétique dans la prise en charge des LAL demeure incontestable.

Arrivé à terme de cette expérience enrichissante, plusieurs perspectives d'avenir peuvent être proposées :

- L'enregistrement des hémopathies malignes au niveau des structures de soin doit encore être amélioré. Il faut s'assurer d'une exhaustivité de l'enregistrement de tous les cas et de veiller à une homogénéité dans leurs classifications. Ces données doivent être rassemblées au niveau de registres spécialisés en onco-hématologie. La connaissance des populations exposées à des facteurs de risque suspects reste insuffisante. Des bases de données nationales bien construites font vraiment défaut.
- La mise en place et l'utilisation en routine de la cytogénétique pour le diagnostic, le pronostic et le suivi thérapeutique des patients LAL.
- L'introduction de la cytogénétique moléculaire représentée par la technique de FISH en complément de la cytogénétique classique pour aller au-delà des limites imposées par la résolution du banding et de révéler des anomalies cryptiques. Cette technique s'est avérée aussi d'une grande aide devant l'échec du caryotype pour cause de cultures stériles souvent rencontrées dans les LAL.
- L'introduction de la biologie moléculaire en complément des techniques de cytogénétique classiques et moléculaires, pour mieux dresser le profil génétique du patient LAL. En plus de nous permettre de mieux comprendre cette pathologie cancéreuse complexe, ces techniques de pointes se sont avérés d'une grande utilité pour définir des groupes de pronostic visant à individualiser au mieux le traitement, ainsi que dans l'évaluation du succès thérapeutique par le suivi de la maladie résiduelle.
- Enfin, la dernière de nos perspectives concerne un constat qui a été fait au niveau du CHUC. Nous avons découvert des patients qui provenait de zones très éloignées de la ville de Constantine pour accéder à la prise en charge au niveau des services d'hématologie et particulièrement au niveau du service de pédiatrie. Les familles de ces enfants, souvent démunies, vivent une détresse inimaginable et se voit contraints des fois d'abandonner le traitement de leurs enfants. Plus que tous ce qui a été dit précédemment, la première nécessité aujourd'hui réside dans la création de centres régionaux de traitement des cancers hématologiques en pédiatrie pour être plus proche des patients et de leurs familles.

Le caryotype des LAL est un examen génétique qui permet l'observation des chromosomes des cellules leucémiques et la recherche d'anomalies. C'est une analyse peu résolutive mais permettant l'observation du génome complet des lymphoblastes et la détection d'éventuels sous-clones ayant génétiquement évolué à partir du clone primaire. Il est optimalement réalisé sur un prélèvement de moelle osseuse, mais peut également être fait sur un prélèvement de sang si la blastose sanguine est en quantité suffisante (**Lafage-Pochitaloff et Charrin, 2003**). Néanmoins, l'examen de la moelle osseuse est toujours préférable à celui du sang périphérique pour établir le caryotype en bandes. Si le caryotype est informatif et repère les anomalies significantes pour le choix du traitement, le recours à la FISH n'est pas indispensable, compte tenu des autres examens pratiqués sauf s'il existe des discordances (par exemple RT-PCR négative pour *BCR/ABL* alors qu'il y'a un chromosome Ph dans le caryotype conventionnel) (**Dastugue, 2003; Baranger et al., 2016**).

La culture cellulaire des LAL est une culture difficile. Les lymphoblastes sont fragiles et nécessitent un acheminement rapide du prélèvement pour une mise en culture sans délai. Malgré ces précautions, le nombre de mitoses obtenues est souvent faible en comparaison d'autres hémopathies malignes. Le prélèvement est dans l'idéal réalisé avant le début de la chimiothérapie inhibant la poussée des lymphoblastes. Si elle a été débutée, le caryotype sera souvent un échec, et une recherche des anomalies récurrentes par FISH sera nécessaire (**Baranger et al., 2016**). De plus, plusieurs observations indiquent un faible index mitotique des blastes de LAL qui peut conduire à des échecs du caryotype ou à des caryotypes faussement normaux dus à un avantage prolifératif des cellules normales présentes dans le prélèvement (**Eclache, V et Baran-Marszak, 2013**).

Le caryotype est une analyse génétique non ciblée qui permet de visualiser l'intégralité du génome d'une cellule maligne. Sa résolution est néanmoins faible et limitée. De plus, elle dépend beaucoup de la morphologie des chromosomes après culture. Or, dans le cas de cellules malignes, la morphologie est parfois altérée. Ceci est particulièrement vrai pour les lymphoblastes dont les chromosomes peuvent être difficilement reconnaissables, et les anomalies chromosomiques d'autant plus difficiles à identifier. La FISH a une meilleure résolution, mais l'analyse est nécessairement ciblée et ne permet pas d'avoir une vision globale des anomalies. Il en est de même pour le séquençage classique et la RT-PCR. La CGH array a une place dans le diagnostic du fait de sa couverture globale et de sa bonne résolution (**Keren et al., 2010**).

Dans tous les cas, l'étude du caryotype conventionnel est l'examen essentiel car il explore le génome entier. L'hybridation *in situ* fluorescente sur métaphases doit être considérée comme un complément et le recours à l'hybridation *in situ* sur noyaux interphasiques est à déconseiller comme seul examen cytogénétique à cause des difficultés d'interprétation des résultats (**Baranger et al., 2016**).

L'existence de translocations cryptiques fréquentes, comme les t(12;21)(p13;q22) dans la lignée B et t(5;14) (q35;q32) dans la lignée T, oblige à recourir aux techniques de FISH au stade du diagnostic. Cependant, ses indications doivent être modulées en fonction de l'âge pour la première, rare chez l'adulte (1 à 3%), fréquente chez l'enfant (de 20 à 30%) et tenir compte pour la seconde du fait qu'il n'existe pas à ce jour de sonde moléculaire commerciale disponible (**Baranger et al., 2016**).

Aussi, selon les dernières recommandations du GFCH, pour optimiser le rendement du caryotype standard des LAL une culture cellulaire courte de 16 à 24h (J1) sans mitogènes ou facteurs de croissance est recommandée. Également, selon ce même groupe, dans la mesure du possible, il est souhaitable de procéder à deux techniques de culture cellulaire : avec et sans synchronisation. Selon des recherches récentes, certains produits utilisés pour la synchronisation, entre autre la thymidine qu'on a employé dans notre protocole, peut gêner la prolifération des blastes (**Schwab et Harrison, 2011 ; Baranger et al., 2016**). Malheureusement, la durée limitée de notre étude ne nous a pas permis de vérifier cette hypothèse.

Conclusion
et
Perspectives

Les LAL forment un groupe très hétérogène de leucémies dont les incidences, la répartition des immuno-phénotypes, des anomalies caryotypiques et le pronostic sont différentes chez l'enfant et l'adulte. Les données recueillies en Algérie suggèrent que l'incidence de cette pathologie est en augmentation constante ces dernières années, et plus particulièrement chez l'enfant.

Plusieurs études énoncent que l'étiologie des LAL reste inconnue avec environ 90% de cas idiopathiques. Néanmoins, des facteurs favorisants sont perçus dans 10% des cas ; certains liés à l'individu et d'autres liés à l'environnement. Il existe des disparités d'incidence des hémopathies lymphoïdes entre pays. Dans le cas spécifique des leucémies de l'enfant, en majorité lymphoblastiques, l'incidence se montre plus élevée dans les pays les plus industrialisés. Cette observation tend à suggérer un accroissement du nombre de LAL enregistrés dans le pays dans les années à venir.

Malheureusement, des données classiques de l'épidémiologie descriptive des LAL tels que l'incidence et la survie relatives à la population algérienne ne sont pas disponibles. Les données mises à notre disposition, et qui découlent d'abondantes études régionales réalisées dans le cadre de travaux de recherche, ne reflètent pas la réalité épidémiologique de cette hémopathie en Algérie. Le profil des LAL dans notre pays ne pourra pas être défini sans le recueil strict de très nombreux critères (âge, sexe, lieu d'habitation, niveau socio-économique, expositions, type de traitement, etc..) pour donner des éléments de gestion de santé publique, mais aussi pour proposer des pistes étiologiques de prospection sur les LAL. Notre étude statistique nous a permis de dévoiler quelques lacunes lors de l'enregistrement des renseignements des patients. En effet, les dossiers médicaux sont souvent incomplets, et ne comportent que les données minimales nécessaires pour la prise en charge clinique des malades. Ces limitations rendent les résultats obtenus, les nôtres ainsi que toutes celles menées avec la même approche (étude sur dossier avec fiche d'exploitation), non représentatives de la réalité épidémiologique des LAL dans la région.

La triste réalité est que les LAL représentent le cancer pédiatrique le plus fréquent en Algérie. Elles sont responsables d'une mortalité non négligeable sans médication, et peuvent entraîner des séquelles graves à long terme. La détermination des facteurs pronostiques propres à chaque patient est essentielle afin d'ajuster le traitement, par l'emploi de thérapies ciblées, l'adaptation du protocole de chimiothérapie et la décision de réaliser ou non une allogreffe de moelle osseuse. Les caractéristiques génétiques des cellules tumorales sont un facteur pronostique fort.

La valeur pronostique de la cytogénétique des LAL persiste à l'heure actuelle même si les progrès en médecine ont permis d'améliorer le pronostic de certaines entités et si de nouveaux marqueurs moléculaires à forte valeur pronostique ont été mis en évidence. En Algérie, le recours à la cytogénétique en onco-hématologie est quasi inexistant. Les rares patients ayant accès à cet examen le font à l'étranger et à des coûts exorbitants. De par le mode, les protocoles thérapeutiques actuels combinent les marqueurs cytogénétiques et moléculaires établis sur les prélèvements au diagnostic, mais tiennent compte également du suivi de la maladie résiduelle quantifiée par des techniques moléculaires ou immunophénotypiques, afin de garantir une prise en charge optimale du patient. Malencontreusement, dans nos structures de santé, l'aspect moléculaire des hémopathies malignes en général et des LAL en particulier n'est pas apprécié à sa juste valeur.

En tenant compte de la valeur pronostique des anomalies chromosomiques clonales retrouvées dans la majorité des cas de LAL, le caryotype est devenu indispensable avant la mise en route du traitement car il conditionne la thérapeutique. La cytogénétique moléculaire FISH est utilisée souvent en complément du caryotype, là où l'interprétation de celui-ci peut être difficile dans cette pathologie. Dans certains cas, d'autres techniques que la FISH (RT-PCR, index ADN, SNP-array, MLPA, etc.) peuvent compléter la cytogénétique, soit parce qu'elles sont aussi informatives que la FISH, soit parce qu'elles découvrent des anomalies indétectables par FISH.

Même si nos résultats n'ont pas pu mettre en évidence la présence d'anomalies chromosomiques chez les patients LAL et ce pour plusieurs raisons (patients sous chimiothérapie, caryotype réalisé sur prélèvement sanguin, la non réussite du banding), la valeur de la cytogénétique dans la prise en charge des LAL demeure incontestable.

Arrivé à terme de cette expérience enrichissante, plusieurs perspectives d'avenir peuvent être proposées :

- L'enregistrement des hémopathies malignes au niveau des structures de soin doit encore être amélioré. Il faut s'assurer d'une exhaustivité de l'enregistrement de tous les cas et de veiller à une homogénéité dans leurs classifications. Ces données doivent être rassemblées au niveau de registres spécialisés en onco-hématologie. La connaissance des populations exposées à des facteurs de risque suspects reste insuffisante. Des bases de données nationales bien construites font vraiment défaut.
- La mise en place et l'utilisation en routine de la cytogénétique pour le diagnostic, le pronostic et le suivi thérapeutique des patients LAL.
- L'introduction de la cytogénétique moléculaire représentée par la technique de FISH en complément de la cytogénétique classique pour aller au-delà des limites imposées par la résolution du banding et de révéler des anomalies cryptiques. Cette technique s'est avérée aussi d'une grande aide devant l'échec du caryotype pour cause de cultures stériles souvent rencontrées dans les LAL.
- L'introduction de la biologie moléculaire en complément des techniques de cytogénétique classiques et moléculaires, pour mieux dresser le profil génétique du patient LAL. En plus de nous permettre de mieux comprendre cette pathologie cancéreuse complexe, ces techniques de pointes se sont avérées d'une grande utilité pour définir des groupes de pronostic visant à individualiser au mieux le traitement, ainsi que dans l'évaluation du succès thérapeutique par le suivi de la maladie résiduelle.
- Enfin, la dernière de nos perspectives concerne un constat qui a été fait au niveau du CHUC. Nous avons découvert des patients qui provenait de zones très éloignées de la ville de Constantine pour accéder à la prise en charge au niveau des services d'hématologie et particulièrement au niveau du service de pédiatrie. Les familles de ces enfants, souvent démunies, vivent une détresse inimaginable et se voit contraints des fois d'abandonner le traitement de leurs enfants. Plus que tous ce qui a été dit précédemment, la première nécessité aujourd'hui réside dans la création de centres régionaux de traitement des cancers hématologiques en pédiatrie pour être plus proche des patients et de leurs familles.

Références bibliographiques

1. **AMORIN S, HOULGATTE R, THIEBLEMONT C et al.** 2015. Apport de la cytogénétique au pronostic et aux décisions thérapeutiques dans les hémopathies malignes lymphoïdes. *EMC-Hématologie*. 10:1-14.
2. **ATUL B, MEHTA A et HOFFBRAND V.** 2003. Hématologie. Traduction de la première édition anglaise par MICHEL ROCOUR. *Edition de Boeck*. ISBN : 2-445-0141-7. Pagination multiple.
3. **BALDI I, BARD D, BAROUKI R et al.** 2008. *Cancer et environnement: expertise collective* (Doctoral dissertation, Institut national de la santé et de la recherche médicale (INSERM)).
4. **BARANGER L, CUCCUINI W, LEFEBVRE C et al.** 2016. Place de la cytogénétique dans la prise en charge des leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL) de l'enfant et de l'adulte: actualisation par le Groupe francophone de cytogénétique hématologique (GFCH). *In Annales de Biologie Clinique*. 74(5):547-560.
5. **BASSAN R, GATTA G, TONDINI C et al.** 2004. Adult acute lymphoblastic leukemia. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 50:223-261.
6. **BECKERICH F.** 2017. Stratégies préventives et thérapeutiques de la rechute après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques : recommandations de la Société francophone de greffe de moelle et de thérapie cellulaire (SFGM-TC). *Bull Cancer*. 104S: S84-S98.
7. **BENAKLI M.** 2009. Leucémies aiguës myéloïdes. *Revue algérienne d'hématologie*. 42 pages
8. **BÉNÉ MC et LACOMBE F.** 2015. Place de la cytométrie en flux dans le diagnostic et le suivi des leucémies aiguës. *Revue francophone des laboratoires*. 471:35-41.
9. **BENE MC, CASTOLDI G, KNAPP W et al.** 1995. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European group for the immunological characterization of leukemias (EGIL). *Leukemia*. 9:1783-6.
10. **BENOSMAN C.** 2010. Contrôle de la dynamique de la leucémie myéloïde chronique par Imatinib. Mathématiques appliquées et calcul scientifique. *Thèse en ligne*. Université Bordeaux 1 École doctorale de mathématiques et informatique. Pagination multiple.
11. **BINET C, DOMENECH J et HERAULT O.** 2004. Cellules souches hématopoïétiques : Régulation (rôle du microenvironnement, facteurs de croissance). *Thèse en ligne*. Université de Tours. Pagination multiple.
12. **BINET C.** 2003. Le sang. *Cours en ligne*. Faculté de Médecine de tours. Consulté le 22 mai 2019.
13. **BORIES D.** 2007. Mécanismes de la leucémogénèse. *Cours en ligne*. Université Paris V. Consulté le 19 avril 2019.

14. **BOUSQUET M.** 2008. Identification et caractérisation de nouvelles translocations chromosomiques observées dans les hémopathies malignes. *Thèse en ligne.* Ecole doctorale Biologie-Santé-Biotechnologie. Université Toulouse III - Paul Sabatier. Pagination multiple.
15. **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.
16. **BROOKER C.** 2001. Corps humain étude, structure et fonction. *De Boeck Paris.* 562 pages. ISBN : 9-7828-0413-4709. Paginations multiples.
17. **BRUGÈRE J, FÉVOTTE J, LUCE D et al.** 2006. Leucémies. Cancers d'origine professionnelle. *Brochure ligue contre le cancer.* Consulté le 17 avril 2019.
18. **BRUNNER et SUDDAR.** 2006. Soins infirmiers en médecine et en chirurgie. *De Boeck Canada.* 550p. ISBN : 9-7828-0416-5598. Paginations multiples.
19. **CHAIBI P.** 2011. Hématopoïèse et vieillissement. Université d'Ivry sur Seine. *Cours en ligne.* Consulté le 14 mars 2019. Paginations multiples.
20. **CHALANDON Y, PASSWEG JR, MATTHES T et al.** 2008. Les leucémies Aigues. *Rev. Med. Suisse.* 4:1272-8.
21. **CHANTAL K.** 2011. Les cellules sanguines. *Cours en ligne.* Université médicale virtuelle francophone CHEC. Consulté le 21 mai 2019. Paginations multiples.
22. **CHRISTIAN B, DOMENCH J et OLIVIER H.** 2008. Le système hématopoïétique. *Cours en ligne.* Université de tours faculté de médecine. 105p.
23. **COOLS J.** 2010. Identification and characterization of novel oncogenes in chronic eosinophilic leukemia and T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Verh K Acad Geneesk Belg.* 72(1-2):55-70.
24. **COSTER L.** 2018. Utilisation de la CGH/SNP array dans les leucémies aiguës lymphoblastiques pédiatriques: perspectives et limites. *Thèse en ligne.* Université Toulouse III - Paul Sabatier Facultés De Médecine. Pagination multiple.
25. **CUMANO A et GODIN I.** 2007. Ontogeny of the hematopoietic system. *Annu. Rev. Immunol.* 25:745-785.
26. **DASTUGUE N.** 2003. Place de la cytogénétique conventionnelle et moléculaire dans l'étude des leucémies aiguës. *Pathologie Biologie.* 51(6):337-345.
27. **DE BOTTON S, FENAUX P, QUESNEL B et al.** 2002. Facteurs pronostiques des leucémies aiguës et des lymphomes. *Réanimation.* 11(5):306-316.

28. **DECOOL MG.** 2016. Apport de la cytogénétique moléculaire dans la prise en charge des Leucémies Aiguës Lymphoblastiques de l'enfant et de l'adulte jeune. *Mémoire de DEMS en ligne.* Université Lille 2 Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille. Pagination multiple.
29. **DELPHINE C, CHRISTINE C, JACQUELINE C et al.** 2001. Analyse de la survenue de deux cas de leucémie à Vauhallaan (Essonne). *Rapport d'investigation.* Mise en ligne Mai 2003. Résumé du rapport 30- International Agency for Research on Cancer.
30. **DICK JE.** 2008. Stem cell concepts renew cancer research. *Blood.* 112(13):4793-807.
31. **DIDIER M, ASPAR J, MONIQUE A et al.** 2001. Transfusion. *Estem. Paris.* 159p. ISBN : 2-4524-2236-3725.
32. **DILLER L.** 2011. Adult primary care after childhood acute lymphoblastic leukemia. *New England Journal of Medicine.* 365(15):1417-1424.
33. **DOMINIK D, PAMELA M, MANDEL J et al.** 2006. A meta-analysis of occupational trichloroethylene exposure and multiple myeloma or leukaemia. *Occupational Medicine.* 56:485-493.
34. **DOVAL C.** 2015. La leucémie aiguë lymphoblastique chez l'enfant: Physiopathologie, états actuels des traitements et perspectives d'avenir. *Thèse en ligne.* Université de Picardie Jules Verne Faculté de Pharmacie d'Amiens. Pagination multiple.
35. **DROUET F et LAGRANGE JL.** 2010. Dose de tolérance à l'irradiation des tissus sains : La moelle osseuse. *Cancer /Radiothérapie.* 14:392-404.
36. **DUCASSOU S.** 2018. Traitement des leucémies aiguës de l'enfant: aujourd'hui et demain. *Perfectionnement en Pédiatrie.*
37. **DUPLOYEZ N et PREUDHOMME C.** 2015. Place de la biologie moléculaire pour le diagnostic et le suivi des leucémies aiguës. *Revue Francophone des Laboratoires.* 2015(471):51-64.
38. **DURINCK K GOOSSENS S, PEIRS S et al.** 2015. Novel biological insights in T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Exp Hematol.* 43:625-639.
39. **DURRIEU L.** 2013. Immunothérapie cellulaire de la leucémie aiguë lymphoblastique de l'enfant à partir de sang de cordon dans un modèle murin xénogénique. *Thèse en ligne.* Université de Montréal Faculté de médecine. Pagination multiple.
40. **ECLACHE V et BARAN-MARSZAK F.** 2013. Intérêt de la cytogénétique et de la biologie moléculaire pour le diagnostic des syndromes lymphoprolifératifs B. *Revue Francophone des Laboratoires.* 2013(452):49-59.

41. **ELAINE NM.** 2008. Biologie humain principes d'anatomie et de physiologie. *Nouveaux Horizons Canada*. 708p. ISBN : 9-7827-6132-7275. Pagination multiple.
42. **EL-YACHKOURI H.** 2014. Évaluation du protocole national de la prise en charge des leucémies aiguës lymphoblastiques : expérience du service d'hématologie oncologie pédiatrique. *Thèse en ligne*. Université Cadi Ayyad faculté de médecine et de pharmacie, Marrakech - Maroc. Pagination multiple.
43. **EVARD A, HÉMON D, BILLON S et al.** 2005. Ecological association between indoor radon concentration and childhood leukaemia incidence in France, 1990-1998. *European journal of cancer prevention*. 14(2):147-157.
44. **FIEDNER TM, GRAESSLE D, PAULSEN C et al.** 2002. Structure and function of bone marrow hematopoiesis: mechanisms of response to ionizing radiation exposure. *Cancer Biother Radiopharm*.17:405-26.
45. **GIEBEL B et BECKMANN, J.** 2007. Asymmetric cell divisions of human hematopoietic stem and progenitor cells meet endosomes. *Cell Cycle*. 6(18):2201-2204
46. **GISSELBRECHT S.** 2003. Oncogènes et leucémies: historique et perspectives. *Medecine/Sciences*. 19:201-10.
47. **GRAUX C, COOLS J, MICHAUX L et al.** 2006. Cytogenetics and molecular genetics of T-cell acute lymphoblastic leukemia: from thymocyte to lymphoblast. *Leukemia*. 20:1496-1510.
48. **HAMLADJI R M, BEKADJA M A, BELHANI M et al.** 2011. A population-based study of the epidemiology and clinical features of adults with acute myeloid leukemia in Algeria: report on behalf of the Algerian Acute Leukemia Study Group. *Hematology/oncology and stem cell therapy*. 4(4):161-166.
49. **HARALD T.** 2000. Atlas de poche hématologie. *Médecine science Flammarion*. 313p. ISBN : 2-2571-0132-4.
50. **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.
51. **HOFFBRAND V.** 2018. L'essentiel en hématologie. *Les éditions MALKO*. ISBN : 9782224035181. Pagination multiple.
52. **HOURIGAN M et GOLDSTONE A.** 2011. Acute Lymphoblastic Leukemia: Epidemiology. *New York: Springer*. 7-87.
53. **HOURIGAN MJ et GOLDSTONE AH.** 2011. Acute lymphoblastic leukemia: epidemiology. In *Adult Acute Lymphocytic Leukemia* (pp. 77-87). Humana Press.
54. **HUGUET F et RÉCHER C.** 2011. Leucémies aiguës de l'adulte. *Hématologie*. 17(3):203-224.

55. **HUH Y et IBRAHIM S.** 2000. Immunophenotypes in adult acute lymphocytic leukemia: Role of flow cytometry in diagnosis and monitoring of disease. *Hematology/oncology clinics of North America.* 14(6):1251-1265.
56. **HUNGER SP et MULLIGHAN CG.** 2015. Redefining ALL classification: toward detecting high-risk ALL and implementing precision medicine. *Blood.* 125:3977-87.
57. **INFANTE-RIVARD C, LABUDA D, KRAJINOVIC M et al.** 2003. Risk of childhood leukemia associated with exposure to pesticides and with gene polymorphisms. *Epidemiology.* 10:481-487.
58. **JABBOUR E, FADERL S et KANTARJIAN H.** 2005. Adult Acute Lymphoblastic Leukemia. *Mayo Clinic Proceedings.* 80(11):1517-1527.
59. **JASO J, THOMAS DA, CUNNINGHAM K et al.** 2011. Prognostic significance of immunophenotypic and karyotypic features of Philadelphia positive B-lymphoblastic leukemia in the era of tyrosine kinase inhibitors. *Cancer.* 117:4009-17.
60. **JOUAULT H.** 2002. Place de la cytométrie en flux pour le diagnostic et le suivi des leucémies aiguës. *Revue Française des Laboratoires.* 344:25-30.
61. **JOYEUX A.** 2014. Nouvelle démarche d'identification des sous-populations cellulaires de la moelle osseuse en cytométrie en flux, en un tube huit couleurs.
62. **KAID KS.** 2011. Leucémie aigue lymphoblastique de l'adulte avec envahissement du système nerveux central. *Thèse en ligne.* Université Mohammed V faculté de médecine et de pharmacie, Rabat. Pagination multiple.
63. **KEREN B, SCHLUTH-BOLARD C, EGEA G et al.** 2010. Nouvelles méthodes d'analyse globale du génome humain. *Archives de pédiatrie.* 17(11):1605-1608.
64. **KHATTAR M.** 2014. Profil epidemiologique et cytologique des leucemies aiguës chez l'enfant etude retrospective (juin 2012- mai 2014) effectuée au laboratoire central d'hematologie de l'hopital Ibn Sina Rabat. *Thèse en ligne : faculte de medecine et de pharmacie.* Universite Mohammed V Rabat - Maroc. Pgination multiple
65. **KOHLER CH.** 2011. Collège universitaire et hospitalier des histologistes, embryologistes, cytologistes et cytogénéticiens (CHEC). *Thèse en ligne.* Université médicale virtuelle francophone. Paginations multiples.
66. **KURZROCK R, KANTARJIAN HM, DRUKER BJ et al.** 2003. Philadelphia chromosome-positive leukemias: from basic mechanisms to molecular therapeutics. *Ann Intern Med.* 138:819-830.
67. **LACOMBE C.** 2006. Les cellules souches hématopoïétiques humaines normales: régulation et méthodes d'exploitation. *Cours en ligne.* Consulté le 25 mars 2019.
68. **LAFAGE-POCHITALOFF et CHARRIN C.** 2003. Anomalies cytogénétiques dans les LAL. *Pathologie/Biologie.* 51:329-336.







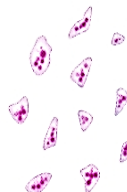
69. **LAFAGE-POCHITALOFF M, BARANGER L, HUNAUT M et al.** 2014. Value of cytogenetic abnormalities in adult patients with Philadelphia chromosome (Ph)-negative acute lymphoblastic leukemia (ALL) treated in the pediatric-inspired GRAALL trials. *Annual meeting of the American Society of Hematology, San Francisco December.*
70. **LEFEBVRE C, CALLET-BAUCHU E, CHAPIRO E et al.** 2016. Place de la cytogénétique dans la prise en charge des lymphomes et des syndromes lymphoprolifératifs (SLP) de l'adulte et de l'enfant: actualisation par le Groupe francophone de cytogénétique hématologique (GFCH). In *Annales de Biologie Clinique* (Vol. 74, No. 5, pp. 568-587).
71. **LOPIS L.** 2009. Molecular biology and prognostic value in acute myloid leukemia. *Hématologie.* 15(6): 426-43.
72. **MANDEL A, DELANEY C, BERNSTEIN I et al.** 2019. *Ex vivo* expansion of human hematopoietic stem and progenitor cells. *Blood.* 117(23):6083-6090.
73. **MARC MAYNADIÉA XT.** 2015. Epidémiologie des leucémies aiguës. *Revue Francophone des Laboratoires.* 2015(471):29R33.
74. **MARMIER-SAVET C.** 2008. Etude de l'impact de la mobilisation des cellules souches périphériques (CSP) mobilisées par le facteur de croissance des granulocytes (G-CSF) sur les donneurs sains et les receveurs après allogreffe de CSP à conditionnement non myéloablatif. *Thèse en ligne.* Université Nancy Henri Poincaré. Pagination multiple.
75. **MAUZON M.** 2011. Les cellules souches hématopoïétiques : définition, origines et principales utilisations thérapeutiques. *Thèse en ligne.* Université Nancy Henri Poincaré. Pagination multiple.
76. **MAYNADIÉ M et TROUSSARD X.** 2015. Épidémiologie des leucémies aiguës. *Revue Francophone des Laboratoires.* 2015(471):29-33.
77. **MICHELI J.** 2006. Leucémie aiguës lymphoblastiques de l'enfant et accidents thrombotiques. *Thèse en ligne.* Université Henri Poincaré - Nancy I. Pagination multiple.
78. **MULLIGHAN CG, HORVAT A, STRÖMBECK B et al.** 2015. Mutations of *FLT3*, *NRAS*, *KRAS*, and *PTPN11* are frequent and possibly mutually exclusive in high hyperdiploid childhood acute lymphoblastic leukemia. *Genes, Chromosomes and Cancer.* 47(1):26-33.
79. **MOUEDEN MA.** 2018. Stratégie diagnostique de la mutation P53 dans les leucémies aiguës et chronique lymphoïdes : du phénotype cytologique et immuno-détection indirecte au génotype moléculaire. *Thèse en ligne.* Université d'Oran Ahmed Ben Bella. Pagination multiple.

80. **MULLER M.** 2009. Reconstitution des sous-populations lymphocytaires chez le patient en suite d'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques. Etude rétrospective de 60 patients. *Thèse en ligne*. Université Henri Poincaré - Nancy I. Pagination multiple.
81. **MULLIGHAN CG.** 2012. The molecular genetic makeup of acute lymphoblastic leukemia. *Hematology*. 389-396.
82. **MULLIGHAN CG.** 2017. Genetic basis of acute lymphoblastic leukemia. *J. Clin. Oncol.* 35:975-983.
83. **NACHMAN JB, HEEREMA NA, SATHER H et al.** 2007. Outcome of treatment in children with hypodiploid acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 110:1112-5.
84. **NARDI N et ALFONSO Z.** 1999. The hematopoietic stroma. *Brazilian Journal Medicine Biology Research*. 32:601-609.
85. **ORKIN SH et ZON LI.** 2008. Hematopoiesis: an evolving paradigm for stem cell biology. *Cell*. 132(4):631-44.
86. **PAILLASSA J.** Hématologie Onco-hématologie. 2017. *Les éditions Vernazobres Grego*. 466p. ISBN 13 : 9782-8183-1501-9. Pagination multiple.
87. **PASSEGUE E, JAMIESON CH, AILLES LE et al.** 2003. Normal and leukemic hematopoiesis: are leukemias a stem cell disorder or a reacquisition of stem cell characteristics. *Proc Natl Acad Sci USA* .100 Suppl 1:11842-11849.
88. **PAUBEL P, SAUVAGEON M, WALLET P et al.** 1999. Sang, les médicaments dérivés du sang. *Arnette*. Paris. 395p.
89. **PAULSSON K, LILLJEBJÖRN H, BILOGLAV A et al.** 2015. The genomic landscape of high hyperdiploid childhood acute lymphoblastic leukemia. *Nature genetics*. 47(6):672.
90. **PERRILLAT F, CLAVEL, J, AUCLERC M et al.** 2001. Day-care, early common infections and childhood acute leukaemia: a multicentre French case-control study. *British journal of cancer*. 86(7):1064.
91. **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.
92. **PUI CH et EVANS WE.** 1998. Acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med*. 339(9):605-615.
93. **REMONTET L, BUEMI A, VELTEN et al.** 2002. Évolution de l'incidence et de la mortalité par cancer en France de 1978 à 2000 [Rapport]. *Francim/Hôpitaux de Lyon/Inserm/Institut de veille sanitaire*.
94. **ROBERTS KG, MORIN RD, ZHANG J et al.** 2012. Genetic alterations activating kinase and cytokine receptor signaling in high-risk acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Cell*. 22:153-66.

95. **ROSENBAUER F et TENEN D.** 2007. Transcription factors in myeloid development: balancing differentiation with transformation. *National Review of Immunology*. 7:105-117.
96. **SCHMIDT AT.** 2015. Les leucémies aiguës lymphoblastiques en 2015 : contribution des facteurs de risque cytogénétiques et moléculaires à une thérapeutique adaptée. *Thèse en ligne*. Université d'Angers, Français. Pagination multiple.
97. **SCHWAB C et HARRISON CJ.** 2011. Acute lymphoblastic leukaemia. *Methods Mol Biol*. 730:99-117.
98. **SÉBAHOUN G.** 2006. Hématologie clinique et biologique. *Les éditions Arnette*. 578p. ISBN: 9782-7184-10531.
99. **SOMMELET D, LACOUR B, CLAVEL J et al.** 2003. Épidémiologie des cancers de l'enfant. *Bulletin de l'Académie nationale de médecine*. 187(4):711-742.
100. **SUTCLIFFE MJ et SHUSTER JJ.** 2005. High concordance from independent studies by the Children's Cancer Group (CCG) and Pediatric Oncology Group (POG) associating favorable prognosis with combined trisomies 4, 10, and 17 in children with NCI Standard-Risk B-precursor Acute Lymphoblastic Leukemia: a Children's Oncology Group (COG) initiative. *Leukemia*. 19(5):734-740.
101. **SWERDLOW SH, CAMPO E, HARRIS NL et al.** 2008. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Fourth edition. *Lyon: IARC press*.
102. **THOMAS X.** 2003. Stratégies thérapeutiques actuelles dans les leucémies aiguës lymphoblastiques de l'adulte. *Bulletin du cancer*. 90(10):833-850.
103. **THOMAS X et TAVERNIER E.** 2004. Leucémie aiguë lymphoblastique du sujet âgé : pronostic et traitement Acute lymphoblastic leukemia in elderly: prognosis and treatment. *Bull Cancer*. 91(9):713-20.
104. **THOMAS X.** 2007. Leucémie aigue lymphoblastique de l'adulte. *Encyclopédie Médico-Chirurgicale Hématologie (Elsevier SAS, Paris)*. 17-023-H-06-11.
105. **TILLY H, LEPAGE E, COIFFIER B et al.** 2003. Intensive conventional chemotherapy (ACVBP regimen) compared with standard CHOP for poor-prognosis aggressive non-Hodgkin lymphoma. *Blood*. 102(13):4284-4289.
106. **VALENSI F.** 2003. Classification des leucémies aiguës. Apport des propositions de l'Organisation mondiale de la santé. *Encyclopédie Médico-Chirurgicale Hématologie (Elsevier SAS, Paris)*. 13-018-G-05-07.
107. **VAN VLIERBERGHE P et FERRANDO A.** 2012. The molecular basis of T cell acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Invest*. 122:3398-406.
108. **ZUNIC P.** 2016. Hématologie oncologie. *Cours en ligne*. Consulté le 23 mars 2019. Paginations multiples.

Annexes

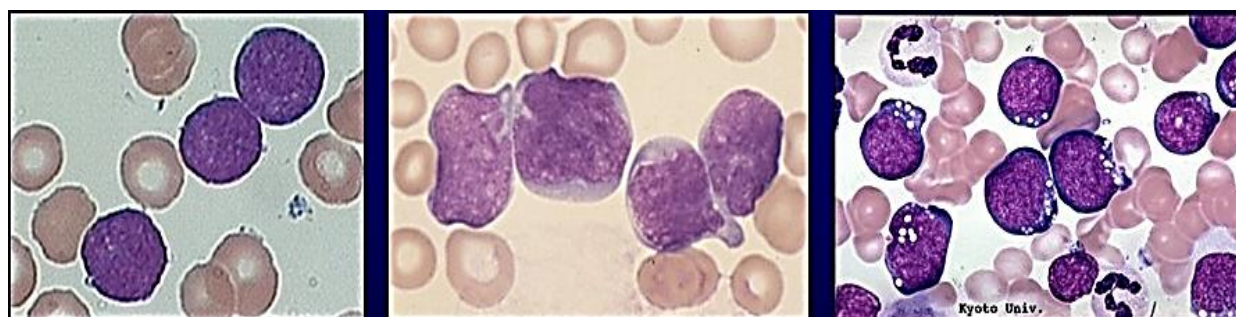
Annexes I : Caractéristiques des éléments figurés du sang (Hoffbrand, 2018).

Cellule	Illustration	Description*	Nombre de cellules par litre de sang	Durée du développement (D) et de la vie (V)	Fonction
Érythrocytes (globules rouges)		Disques biconcaves, anucléés; couleur saumon; de 7 à 8 μm de diamètre	De $4 \text{ à } 6 \times 10^{12}$	D: de 5 à 7 jours V: de 100 à 120 jours	Transport de l'oxygène et du gaz carbonique
Leucocytes (globules blancs)		Cellules sphériques nucléées	De $4,8 \text{ à } 10,8 \times 10^9$		
<i>Granulocytes</i>					
▪ Granulocytes neutrophiles		Noyau plurilobé; granulations cytoplasmiques difficilement visibles; de 10 à 12 μm de diamètre	De $3 \text{ à } 7 \times 10^9$	D: de 6 à 9 jours V: de 6 h à quelques jours	Phagocytose des bactéries
▪ Granulocytes éosinophiles		Noyau bilobé; granulations cytoplasmiques rouges difficilement visibles; de 10 à 14 μm de diamètre	De $0,1 \text{ à } 0,4 \times 10^9$	D: de 6 à 9 jours V: de 8 à 12 jours	Destruction des vers parasites et des complexes antigène-anticorps; inactivation de certaines substances chimiques allergènes associées à la réaction inflammatoire
▪ Granulocytes basophiles		Noyau lobé; grosses granulations cytoplasmiques bleu violet; de 8 à 10 μm de diamètre	De $0,02 \text{ à } 0,05 \times 10^9$	D: de 3 à 7 jours V: ? (de quelques heures à quelques jours)	Libération de l'histamine et d'autres médiateurs chimiques associés à la réaction inflammatoire; contient de l'héparine, un anticoagulant
<i>Agranulocytes</i>					
▪ Lymphocytes		Noyau sphérique ou échancré; cytoplasme violacé; de 5 à 17 μm de diamètre	De $1,5 \text{ à } 3,0 \times 10^9$	D: de quelques jours à quelques semaines V: de quelques heures à quelques années	Défense de l'organisme par l'attaque directe de cellules ou par l'entremise d'anticorps
▪ Monocytes		Noyau en forme de U ou de haricot; cytoplasme gris bleu; de 14 à 24 μm de diamètre	De $0,1 \text{ à } 0,7 \times 10^9$	D: de 2 à 3 jours V: plusieurs mois	Phagocytose; transformation en macrophages dans les tissus
Plaquettes		Fragments cytoplasmiques discoïdes contenant des granulations violettes; de 2 à 4 μm de diamètre	De $150 \text{ à } 400 \times 10^9$	D: de 4 à 5 jours V: de 5 à 10 jours	Réparation des petites déchirures des vaisseaux sanguins; coagulation

Annexe II : Classification FAB des LAL.

Tableau : Caractéristiques cyto-morphologiques des LAL selon la classification FAB (Thomas, 2007).

Type FAB	Caractéristiques
LAL 1 (30 %)	<ul style="list-style-type: none"> - Prolifération cellulaire homogène - Blastes de 15 à 25 µm de diamètre - Rapport nucléocytoplasmique augmenté (> 80 %) - Noyau arrondi avec 1 ou 2 petites encoches - Chromatine fine - Petit nucléole - Cytoplasme basophile réduit à une fine couronne périnucléaire - Pas de corrélation entre morphologie et immunologie
LAL 2 (60 %)	<ul style="list-style-type: none"> - Prolifération cellulaire hétérogène - Blastes de 20 à 30 µm de diamètre - Rapport nucléocytoplasmique variable (< 80 %) - Noyau à contour régulier - Chromatine fine parfois réticulée 1 à 2 nucléoles bien visibles - Cytoplasme basophile avec parfois de fines granulations peroxydase négative - Pas de corrélation entre morphologie et immunologie
LAL 3 (10 %)	<ul style="list-style-type: none"> - Prolifération cellulaire hétérogène - Blastes de 20 à 30 µm de diamètre - Noyau arrondi - Chromatine fine parfois perlée 1 à 2 nucléoles bien visibles - Cytoplasme abondant très basophile souvent criblé de vacuoles - Marqueurs immunologiques des proliférations B



LAL1

LAL2

LAL3

Figure : Aspects cytologique des LAL selon la classification FAB (MGG, x40). (Paillassa, 2017)

Annexe III : Classification EGIL des LAL.

Tableau I : Caractéristiques immuno-phénotypiques des LAL-B selon la classification EGIL (Kaid, 2011).

BI	LAL Pro B	CD19 + CD79a +/- CD22+ (au moins 2 des 3) TdT + HLA DR+ CD10 –
BII	LAL commune	CD19 + CD79a +/- CD22+ (au moins 2 des 3) TdT + HLA DR+ CD10 +
BIII	LAL Pré-B	CD19 + CD79a +/- CD22+ (au moins 2 des 3) TdT+/- HLA DR+ CD10 + μ Cyto +
BIV	LAL B mature	CD19 + CD79a +/- CD22+ (au moins 2 des 3) TdT – HLA DR+ CD10 +/- μ Cyto + Igs +

Tableau II : Caractéristiques immuno-phénotypiques des LAL-T selon la classification EGIL (Kaid, 2011).

TI	Pro T	CD3c + CD7 +
TII	pré T	CD3c + CD7 + CD2 + CD5 +/- CD8 +/-
TIII	T Cortical	CD3c + CD7 + CD2 + CD1a + CD4+ ou CD8 +
TIV	T Mature	CD3c + CD7 + CD2 + CD1a – TCR α/β ou γ/δ

Annexe IV : Principaux réarrangements chromosomiques, syndromes de prédispositions héréditaires et gènes impliqués dans les leucémies aigues lymphoblastiques humaines décrits dans la littérature (Gisselbrecht, 2003).

Surexpression de protéines oncogéniques

Type de gène	Fonction	Gène	Translocation	Régions régulatrices	Type de leucémie
Facteurs de transcription et régulateurs transcriptionnels	Protéine de type bHLH	<i>MYC</i> (8q34)	t(8;14)(q24;q11)	TCR α	LAL T
		<i>TALI</i> (1p32)	t(1;14)(p32;q11)	TCR α	
		<i>LYLI</i> (19p13)	t(7;19)(q35;p13)	TCR β	
	Protéine à homéodomaine	<i>HOX11</i> (10q24)	t(10;14)(q24;q11) t(7;10)(q35;q24)	TCR α , TCR β	
		<i>HOX11L2</i> (5q35)	t(5;14)(q35;q32)	<i>CTIP2</i>	
	Protéine à domaine LIM	<i>LMO1</i> (11p15)	t(11;14)(p15;q11)	TCR δ	
<i>LMO2</i> (11p13)		t(11;14)(p13;q11) t(7;11)(q35;p13)	TCR δ , TCR α , TCR β		
Autres	Tyrosine kinase	<i>LCK</i> (1p34)	t(1;7)(p34;q34)	TCR β	LAL pré-B
	Récepteur de la famille Notch	<i>TANI</i> (9q34)	t(7;9)(q34;q34)	TCR β	
	Interleukine-3	<i>IL-3</i> (5q31)	t(5;14)(q31;q32)	IgH	

Production de protéines de fusion

Type de gène	Translocation	Gènes affectés	Fonction	Type de leucémie
Facteurs de transcription et régulateurs transcriptionnels	t(12;21)(p13;q22)	<i>TEL</i> (12p13)	Facteur ETS	LAL pro-B
		<i>AML1</i> (21q22)	Sous-unité du CBF ou CBF α fixant l'ADN	
	t(1;19)(q23;p13)	<i>E2A</i> (19p13)	Facteur de transcription de type bHLH	LAL pré-B
		<i>PBX1</i> (1q23)	Facteur de transcription à homéodomaine	
	t(17;19)(q22;p13)	<i>E2A</i> (19p13)	Facteur de transcription de type bHLH	LAL pro-B
		<i>HLF</i> (17q22)	Facteur de transcription à leucine zipper	
	t(15;17)(q21;q12)	<i>PML</i> (15q21)	Protéine à doigts de zinc de type ring (corps nucléaires)	LAL B et Leucémies bi-phénotypiques
t(4;11)(q21;q23)	<i>MLL</i> (11q23)	Orthologue gène Trithorax		
	<i>AF4</i> (4q21)	Activateur transcriptionnel		
t(11;19)(q23;p13)	<i>MLL</i> (11q23)	Orthologue gène Trithorax		
Tyrosine kinases	t(9;22)(q34;q11)	<i>BCR</i> (22q11)	Ser/Thr kinase, facteur d'échange de Rho, GAP de Rac	LAL pro-B
	t(9;12)(p24;p13)	<i>TEL</i> (12p13)	Facteur ETS	LAL B, LAL T
<i>JAK2</i> (9p24)		Tyrosine kinase intracellulaire		

Syndromes de prédispositions héréditaires aux LAL

Maladie / Syndrome	Gène	Mode de transmission	Type de Leucémie
Monosomie 7	-	AD	LAL, SMD/LAM
Anémie de Blackfan Diamond	<i>RPS19, RPL5, RPL11</i>	AD, AR	LAL, SMD/LAM
Syndrome de Shwachman- Diamond	<i>SBDS</i>	AR	LAL, SMD/LAM
Thrombocytopénie/ absence de radius	<i>RBM8A</i>	AR,	LAM, LAL
Syndrome de Li-Fraumeni	<i>TP53</i>	AD	LAL
Syndrome de déficit du système MMR	<i>PMS2, MSH6, MLH1</i>	AR	LAL
Anémie de Fanconi	<i>FANCA-E, BRCA</i>	AR	LAL, LAM
Ataxie télangiectasie	<i>ATM</i>	AR	LAL
Syndrome des cassures de Nijmegen	<i>NBS1</i>	AR	LAL
Syndrome de Bloom	<i>BLM</i>	AR	LAL
Syndrome de Wiskott-Aldrich	<i>WASP</i>	LX	LAL
Agammaglobulinémie de Bruton	<i>BTK</i>	LX	LAL
Trisomie 21	-	-	LAL, LAM

AD : Autosomique Dominant, **AR** : Autosomique Récessif, **LX** : Lié à l'X
LAL : Leucémie Aigue Lymphoblastique, **LAM** : Leucémie Aigue Myéloblastique,
SMD : Syndrome Myélo-Dysplasique.

Annexe V : Anomalies cytogénétiques des LAL associées à une valeur pronostique.

Tableau I : LAL-B, anomalies cytogénétiques associées à une valeur pronostique (Baranger *et al.*, 2016).

Anomalies cytogénétiques	Gènes ou nombre modal de chromosomes	Groupe d'âge (fréquence dans les LAL-B)	Caractéristiques cliniques et biologiques
Pronostic favorable			
Hyperdiploïdie élevée t(12;21)(p13;q22)*	51 à 65 chromosomes <i>ETV6(TEL)-RUNX1(AML1)</i>	Enfant (25 %)/adulte (7 %) Enfant (25 %)/AJA (5 %)/adulte (1 %)	BII (CD10 pos) BII (CD10 pos), exceptionnel après 25 ans
Pronostic intermédiaire			
t(1;19)(q23;p13) Translocations <i>IGH</i> (14q32) en particulier celles dérégulant <i>CRLF2</i> t(X;14)(p22;q32)*/ t(Y;14)(p11;q32)* del(X)(p22p22)*/del(Y)(p11p11)*	<i>TCF3(E2A)-PBX1</i> <i>IGH</i> (14q32) et <i>CRLF2</i> (Xp22 et Yp11) <i>P2RY8</i> et <i>CRLF2</i> (Xp22 et Yp11)	Enfant (5 %)/adulte (5 %) Enfant (10 %)/AJA (20 %)/adulte (8 %)	BIII (µ. intracytoplasmique) 22 % des t <i>IGH</i> impliquent <i>CRLF2</i> ; profil Ph-like fréquent (indication ITK); délétion <i>IKZF1</i> ** ; syndrome de Down ou non
Pronostic défavorable			
t(9;22)(q34;q11) ou Ph	<i>BCR-ABL1</i>	Enfant (3 %)/adulte (30 %)	BII (CD10 pos), indication d'ITK, délétion <i>IKZF1</i> **
t(4;11)(q21;q23) et autres t(v;11q23) *	<i>KMT2A-AFF1 (MLL-AF4)</i> et autres transcrits <i>KMT2A (MLL)</i>	Nourrisson (80 %)/enfant (10 %)/adulte (10 %)	BI (CD10 neg)
t(17;19)(q22;p13)	<i>TCF3-HLF</i>	Enfant (2 %)	CIVD, hypercalcémie
Quasi-haploïdie	24 à 29 chromosomes	Enfant (1 %)	Anomalies <i>NF1</i> et <i>RAS</i>
Hypodiploïdie sévère/quasi-triploïdie	30 à 39/60 à 78 chromosomes	Adulte (5 %)/ Enfant (1%)	Mutation <i>TP53</i> somatique ou germinale
Amplification intrachromosomique du 21 ou iAMP21*	Au moins 4 copies <i>AML1</i> sur un chromosome 21 anormal	Enfant (4 %)	Pronostic intermédiaire si traitement intensif

*Anomalie cryptique ou difficile à identifier par le caryotype : à déceler par FISH et/ou PCR ; **délétion *IKZF1* : taille variable, diagnostic moléculaire, 15% des LAL-B de l'enfant et 30 à 50% de celles de l'adulte, pronostic défavorable sauf si associée à cytogénétique favorable. Abréviations : AJA : Adolescent et Jeune Adulte ; CIVD : Coagulation Intra-Vasculaire Disséminée ; ITK : Inhibiteur de Tyrosine Kinase ; neg : négatif ; pos : positif.

Tableau II : LAL-T principales anomalies cytogénétiques, fréquence et valeur pronostique (Baranger et al., 2016).

Pronostic relatif actuel	Gènes, transcrits (ancien nom, localisation)	Groupe d'âge (fréquence)	Caractéristiques cliniques et biologiques
Favorable t(10;14)(q24;q11) et t(7;10)(q34;q24)	<i>TCR A/D</i> (14q11) ou <i>TCRB</i> (7q34) et <i>TLX1</i> (<i>HOX11</i> , 10q24)	Enfant (7 %)/adulte (20 %)	LAL-T matures, association amp <i>ABL1</i>
Intermédiaire t(v;14q11) et t(7q34:v) en dehors de 10q24 (<i>TLX1</i>) et 8q24 (<i>MYC</i>) t(5;14)(q35;q32)** del(1)(p32p32) Amplification (amp) <i>ABL1</i> ** t(11;19)(q23;p13.3) et t(6;11)(q27;q23)	<i>TCR A/D</i> (14q11) ou <i>TCRB</i> (7q34) avec un autre gène <i>TLX3</i> (<i>HOX11L2</i> ,5q35) et <i>BCL11B</i> (14q32) <i>STIL</i> (<i>SIL</i>)- <i>TAL1</i> (1p32) <i>NUP214</i> (<i>CAN</i>)- <i>ABL1</i> (9q34) <i>KMT2A</i> (<i>MLL</i> ,11q23)- <i>MLLT1</i> (<i>ENL</i> ,19p13) <i>KMT2A</i> (<i>MLL</i> ,11q23)- <i>MLLT4</i> (<i>AF6</i> ,6q27)	Enfant (13 %)/adulte (15 %) Enfant (24 %)/adulte (13 %) Enfant (30 %)/adulte (10 %) Enfant (8 %)/adulte (8 %) Enfant (10 %)/adulte (3 %)	Association amp <i>ABL1</i> Fréquence diminuée avec l'âge Anomalie secondaire à <i>TLX1</i> ou <i>TLX3</i> ; sensibilité aux ITK
Défavorable Caryotype complexe t(10;11)(p12;q14) t(5;14)(q35;q32)** avec amp <i>ABL1</i> ** Délétion 17p t(v;8q24)	Au moins 5 anomalies chromosomiques non caractérisées <i>PICALM</i> (<i>CALM</i> ,11q14)- <i>MLLT10</i> (<i>AF10</i> , 10p12) <i>TLX3</i> (<i>HOX11L2</i> ,5q35) et <i>BCL11B</i> (14q32) avec <i>NUP214</i> (<i>CAN</i>)- <i>ABL1</i> (9q34) <i>TP53</i> (17p13) Réarrangement <i>MYC</i> (8q24)	Adulte (7 %) Enfant (6 %)/adulte (10 %) Enfant (5 %)/adulte (3 %) Adulte (3 %) Enfant (6 %)/adulte (6 %)	LAL-T immatures Anomalie secondaire Anomalie primaire ou secondaire ; trisomies 6 ou 7; mutations <i>PTEN</i>

* Les nouvelles stratifications thérapeutiques prennent en compte les mutations *NOTCH1* ou *FBXW7*, présentes dans 50 % des LAL-T (adulte ou enfant) et associées à un pronostic favorable ; ce pronostic peut être modulé par la recherche de mutations *RAS* ou *PTEN* (pronostic défavorable) ; ** Anomalie cryptique détectée par FISH ou PCR.

Annexe VI : Questionnaire LAL.

Patient N° :

FICHE DE RENSEGNEMENT

Nom :

Prénom :

Sexe :

Age :

Poids et taille :

Adresse :

Profession :

Type de leucémie :

Date du diagnostic et motif d'hospitalisation :

Traitement :

Durée du traitement :

État du patient :

Rémission complète :

Poursuite évolutive :

Rechute, date de rechute :

Si autre cancer :

Diagnostiqué le :

Siège:

Si patient décédé :

Date :

Cause du décès (en clair) :

Présence de cancers dans la famille:

Leucémie :

Autre cancer :

Type de cancer :

Présence de maladie génétique dans la famille :

Impliquant des anomalies cytogénétiques :

Ne présentant pas d'anomalie cytogénétiques :

Type de maladie génétique :

Symptomatologie clinique					
Signes d'insuffisance médullaire	Signes anémiques	Pâleur			
		Asthénie			
		Tachycardie			
		Dyspnée d'effort			
	Signes infectieux	Fièvres (en rapport avec la neutropénie)			
		Foyers infectieux	Bucco pharyngées		
			Génitaux		
			Aeux		
			Autres		
	Fièvre leucémique				
	Signes hémorragiques	Purpura ecchymotiques			
		Purpura pétéchial			
		Hémorragie des muqueuses			
Hémorragie viscérales					
Signes tumoraux	Adénopathie	Adénopathies superficielles			
		Adénopathies médiastinales			
		Adénopathies retro-péritonéales			
	Douleurs	Douleurs osseuses			
		Douleurs ostéo-articulaires			
	Splénomégalie	Splénomégalie modérée			
		Splénomégalie importante			
	Hépatomégalie	hépatomégalie modérée (stade 1, 2,3)			
		hépatomégalie importante (stade 4,5)			
	Hypertrophie ganglionnaire diffuse				
	Hypertrophie amygdalienne				
	Hypertrophie des glandes salivaires				
	Méningites				
Atteinte des testicules					

Autres remarques :

Analyses biologiques			
Examen	Type cellulaire	Valeurs normales	observation
Hémogramme	Polynucléaires neutrophiles	2 à 7,5 x 10 ⁹ /l (45-70%)	
	Polynucléaires éosinophiles	0,04 à 0,5 x 10 ⁹ /l (1-3%)	
	Polynucléaires basophiles	0,01 à 0,1 x 10 ⁹ /l (0-0,8%)	
	Lymphocyte	1,5 à 4 x 10 ⁹ /l (20-40%)	
	Monocyte	0,2 à 1 x 10 ⁹ /l (2-10%)	
	Plaquettes	200000 à 500000 /ml	
	MYELEMIE		
	BLASTOSE		
	Type de myélémie		
	Type de blastose		
Myélogramme	Myéloblastes	0,1 à 3,5%	
	Promyélocytes	0,5 à 5%	
	Myélocytes Neutrophiles	5 à 20%	
	Myélocytes éosinophiles	0,1 à 3%	
	Myélocytes basophiles	0 à 0,05%	
	Métamyélocytes	10 à 30%	
	Polynucléaires neutrophiles	7 à 25%	
	Polynucléaires éosinophiles	0,2 à 3%	
	Polynucléaires basophiles	0 à 0,5%	
	Proérythroblastes	0,5 à 3%	
	Érythroblastes basophiles	10 à 30%	
	Érythroblastes poly-chromatophiles	10 à 30%	
	Érythroblastes acidophiles	10 à 30%	
	Lymphocytes	5 à 30%	
	Plasmocytes	0,1 à 3,5%	
	Monocytes	0 à 3%	
	Mégacaryocytes	++	
	Conclusion		
Cytologie	Lignée proliférative		
	Rapport nucléo-cytoplasmique		
	Chromatine	Fine	
		Condensé (en motte)	
	Nucléole	Nombre	
		Aspect	
	Contour nucléaire	Régulier	
		Irrégulier	
	Basophilie cytoplasmique	Modérée	
		Importante	
	Vacuole cytoplasmique	Présente	
		Absentes	
		Nombre	
	Granulations lymphocytaires		
	Granulations azurophile		
	Coloration PAS		
	Bâtonnet d'AUER		
	Peroxydase		
	Noir de soudan		
	Ombre de Gumprecht		
Analyses biochimiques	Uricémie	0,2-0,4 g/l	
	Hémoglobine	13-17 g/l	
	Phosphatase alcaline leucocytaire	40-150 UI/ml	

Analyses biochimiques (suite)	Vitamine B 12	160-900 mg/l	
	gammaglobuline		
	LDH	240 UI/l	
	Glycémie	0,6-0,9 g/l	
	Bilirubine	<10 mg/l	
	Créatinine	5-10 mg/l	
	Albumine	36-45 g/l	
	Protéine sérique	61-76 g/l	
	CPK	< 70 UI/l	
	Na ⁺ / K ⁺	3,15-3,47 mg/l / 0,15-0,21 mg/l	
	Acide urique	40-60 mg/l	
	TGO/TGP	< 40UI /ml /< 45UI /ml.	
Analyse hématologique	Vitesse de sédimentation	5-15 mm/h	
	Hématocrite	0,38 – 0,50 (38 à 50%)	
	WBC	4000-10000 mm ³	
	RBC	4-5,5 million /ml	
	MCV	85-95 μ ³	
	MCH	28-32 pg	
	MCHC	32-43%	
	Microcytose/macrocytose		
	Normochromie/hypochromie		
Bilans préthérapeutiques	Système ABO		
	Rhésus		
	Bilan cardiaque		
	Bilan hépatique		
	Uricémie		
	T. Quick (Tx Prothrombine)	> 65 ± 5%	
	T. Céphaline	/	

Compte rendu clinique et biologique :

Cytologie :

Cytogénétique :

Conclusion générale :

Annexe VII : Consentement pour utilisation de données biologiques

BENSALEM Yasmine et GAMOUH Assia

Étudiantes Master 2 - Spécialité : Génétique

Département de Biologie Animale - Faculté SNV

Université des frères Mentouri - Constantine I

Tel : 031 81 82 49 / **Courriel :** bnsln.gmh@gmail.com

Je soussigné : né(e) le / / à

Certifie avoir reçu de M^{elles} **BENSALEM Yasmine et GAMOUH Assia** une information exhaustive et compréhensible concernant les causes possibles de mon problème de santé. J'ai eu la possibilité de poser toutes les questions que je souhaitais.

J'ai compris qu'une analyse cytogénétique m'est proposée à partir d'un prélèvement sanguin. Cette analyse a pour but de déterminer si mon génome présente une anomalie chromosomique ou non en rapport avec mon problème de santé. J'ai bien compris les implications possibles de cette étude et je pourrai obtenir, si je le souhaitais, toute information complémentaire.

Les résultats de ces analyses me seront transmis si je le désire. Ils resteront confidentiels et ne pourront être communiqués qu'avec mon autorisation exclusive.

Je peux à tout moment décider de ne pas poursuivre cette démarche. Les données génétiques et le matériel biologique me concernant pourront être détruits à ma demande.

J'accepte que mes échantillons biologiques soient conservés et utilisés à des fins de recherche médicale et/ou biologique sans restriction sous couvert d'anonymat.

Fait à le / /

Signature de l'intéressé

Signature du chercheur

Consentement établi selon la déclaration d'Helsinki : Principes éthiques applicables aux recherches médicales sur des sujets humains. 1964.

En accord avec les recommandations du conseil national de l'éthique des sciences de la santé Algérien.

Résumés

Cytogenetic study of Acute Lymphoid Leukemia (ALL) in the region of Constantine.

Abstract:

Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL) is a malignant hemopathy characterized by the clonal expansion of immature lymphoid cells that have lost their terminal maturation capacity. These poorly differentiated blasts, belonging to line B in 80% of cases (ALL-B) and more rarely to line T (ALL-T), accumulate within the bone marrow, resulting in a repression of the normal hematopoiesis and therefore blood pancytopenia. They represent 80% of acute leukemia's of the child and 20% of those of the adult. The etiology of this hemopathy remains largely unknown. Symptoms are numerous resulting of bone marrow failure, anemic, hemorrhagic and tumor syndrome. The biological diagnosis is based on an abnormal blood count, the presence of blasts at the cytological examination of the blood smear and the presence of medullary blastosis ($\geq 20\%$) with typical morphological criteria in a myelogram. Other tools allow us the classification of ALLs are: cytological chemistry, immunological phenotyping, cytogenetics and molecular biology. These last two also have a prognostic interest. In fact, leukemic cells acquired and specific chromosomal abnormalities are found in the majority of cases: 80% in children and 70% in adults.

Number and structural abnormalities anomalies are distinguished, although both types of these aberrations are sometimes associated. They have an important prognostic value, which makes the karyotype essential before starting the treatment because it settings the therapy. We have undertaken in this research the study of ALL in the region of Constantine, firstly by the realization of a statistical survey at the pediatric and hematology departments of Benbadis University Hospital (Constantine). Subsequently, we performed a cytogenetic study of 10 cases of ALL recruited at the level of health structures mentioned above. Karyotyping was performed at the cytogenetic unit of CRBt.

Our retrospective study allowed us to identify, over a period of 3 years, 104 cases of ALL, of which 76% were children and 24% adults. The average age of our patients was 13.95 ± 17.12 with extremes ranging from 2 to 81 years old. There was a clear male predominance with a sex ratio of 2.55. LAL-B predominated with 81% of cases compared with LAL-T. Our cytogenetic analysis on 10 cases of ALL failed to reveal chromosomal abnormalities in numbers.

Despite these findings, the karyotype is an essential examination in the diagnosis of this hematological disorder because the detected chromosome abnormalities are the most powerful prognostic factors independently of others. Finally, optimal management of ALL cannot be adequate without the karyotype results, possibly completed by molecular cytogenetics (FISH), and sometimes even by molecular biology.

Keywords: leukemia, ALL, cytogenetic.

التحليل الخلوي الوراثي لسرطان الدم الليمفاوي الحاد (ALL) في منطقة قسنطينة.

الملخص:

سرطان الدم الليمفاوي الحاد (ALL) هو اعتلال دموي خبيث يتميز بالتوسع النسيلي للخلايا الليمفاوية الغير الناضجة التي فقدت قدرتها على النضج النهائي. هذه الخلايا الخبيثة قليلة التمايز، التي تنتمي إلى النوع B في 80% من الحالات (LAL-B) ونادراً ما تكون من النوع T (LAL-T)، تتراكم داخل نخاع العظمي مما يتسبب في كبت الإنتاج الطبيعي لخلايا الدم وبالتالي قلة الكريات البيضاء. سرطان الدم الليمفاوي الحاد يمثل 80% من اللوكيميا الحادة للطفل و20% من البالغين. لا تزال مسببات هذا السرطان غير معروفة إلى حد كبير. أعراض هذا المرض متعددة وتتجلى من خلال قصور نخاع، أعراض فقر الدم، أعراض نزيفيه وظهور أعراض ورميه. يعتمد التشخيص البيولوجي على مسحة دموية غير طبيعية، على وجود خلايا خبيثة في الفحص الخلوي للمسحة الدموية، وعلى وجود خلايا نخاعية خبيثة مع معايير مورفولوجية معينة في التصوير النخاعي ($\leq 20\%$). تسمح أدوات أخرى بتصنيف سرطان الدم الليمفاوي الحاد: الكيمياء الخلوية، التنميط المناعي، علم الوراثة الخلوية والبيولوجيا الجزيئية. هاتان الأخيرتان لهما أيضاً دور في التعرف على تطور المرض. في الواقع، توجد تشوهات صبغية مكتسبة ومحددة في معظم حالات سرطان الدم الليمفاوي الحاد: 80% عند الأطفال و70% عند البالغ مع وجود العديد من الحالات الشاذة من حيث العدد والبنية، على الرغم من أن كلا النوعين مرتبطان في بعض الأحيان. لهذه الحالات الشاذة أهمية كبيرة عند التنبؤ بتطور المرض التي تجعل من النمط النووي ضرورياً قبل بدء العلاج لأنه هو الذي يحدده.

في هذا البحث قمنا بدراسة سرطان الدم الليمفاوي الحاد في منطقة قسنطينة، أولاً من خلال إجراء مسح إحصائي في أقسام طب الأطفال وأمراض الدم في المستشفى الجامعي قسنطينة. في وقت لاحق، أجرينا دراسة الوراثة الخلوية لـ 10 حالات على مستوى الهياكل الصحية المذكورة أعلاه. تم تنفيذ النمط النووي في وحدة علم الوراثة الخلوية لمركز أبحاث التكنولوجيا الحيوية.

سمحت لنا دراستنا الرجعية بتحديد على مدى فترة 3 سنوات، 104 حالة سرطان الدم الليمفاوي، منها 76% من الأطفال و24% من البالغين. كان متوسط عمر مرضانا 17.12 ± 13.95 مع أقصى درجات تتراوح بين 2 إلى 81 سنة. كان هناك غلبة واضحة للذكور حيث بلغت نسبة ذكور / إناث 2.55، وكانت نسبة LAL-B هي الغالبة بنسبة 81% من الحالات مقارنة مع LAL-T.

على الرغم من فشل تحليلنا الخلوي لعشر حالات سرطان الدم الليمفاوي في الكشف عن التشوهات الكروموسومات العددية، فإن النمط النووي يعتبر فحص أساسي في تشخيص هذا الاضطراب الدموي لأن التشوهات الكروموسومية المكتشفة هي أقوى عوامل التكهن بشكل مستقل عن الآخرين. في النهاية، لا يمكن أن يكون تكفل فعال لسرطان الدم الليمفاوي الحاد بدون نتائج النمط النووي، مكملة بواسطة الوراثة الخلوية الجزيئية (FISH)، وأحياناً حتى بواسطة البيولوجيا الجزيئية.

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

Année universitaire : 2018 - 2019

Présenté par : BENSALÉM Yasmine
GAMOUEH Assia

Étude cytogénétique des Leucémies Aigues Lymphoblastiques (LAL) dans la région de Constantine

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Génétique

Les Leucémies Aigues Lymphoblastiques (LAL) sont des hémopathies malignes caractérisées par l'expansion clonale de cellules lymphoïdes immatures ayant perdu leur capacité de maturation terminale. Ces blastes, peu différenciés, appartenant à la lignée B dans 80% des cas (LAL-B) et plus rarement à la lignée T (LAL-T), s'accumulent au sein de la moelle osseuse, entraînant une répression de l'hématopoïèse normale et donc une pancytopenie sanguine. Elles représentent 80% des leucémies aigues de l'enfant et 20% de celles de l'adulte. L'étiologie de cette hémopathie demeure largement méconnue. Les symptômes sont multiples se traduisant par l'installation d'une insuffisance médullaire, un syndrome anémique, un syndrome hémorragique et l'apparition d'un syndrome tumoral. Le diagnostic biologique est basé sur un hémogramme anormal, la présence de blastes à l'examen cytologique du frottis sanguin et la présence d'une blastose médullaire ($\geq 20\%$) avec des critères morphologiques spécifiques dans un myélogramme. D'autres outils permettent la classification des LAL : la cytochimie, l'immuno-phénotypage, la cytogénétique et la biologie moléculaire. Ces deux derniers ont également un intérêt pronostique. En effet, des anomalies chromosomiques clonales, acquises et spécifiques sont retrouvées dans la majorité des cas : 80% chez l'enfant et 70% chez l'adulte. On distingue des anomalies de nombre et des anomalies de structure bien que ces deux types d'aberrations soient parfois associées. Elles ont une valeur pronostique importante qui rend le caryotype indispensable avant la mise en route du traitement car il conditionne la thérapeutique.

Nous avons entrepris dans ce travail de recherche l'étude des LAL dans la région de Constantine, tout d'abord par la réalisation d'une prospection statistique au niveau des services de pédiatrie et d'hématologie du CHU Benbadis. Par la suite, nous avons réalisé une étude cytogénétique de 10 cas de LAL recrutés au niveau des structures de santé citées précédemment. La réalisation des caryotypes s'est faite au niveau de l'unité de cytogénétique du CRBt.

Notre étude rétrospective nous a permis de recenser, sur une période de 3 ans, 104 cas de LAL dont 76% enfants et 24% adultes. L'âge moyen de nos patients était $13,95 \pm 17,12$ avec des extrêmes allant de 2 à 81 ans. Il y'a avait une nette prédominance masculine avec un sex-ratio de 2,55. La LAL-B prédominait avec 81% des cas par rapport avec la LAL-T.

Notre analyse cytogénétique faite sur 10 cas de LAL ne nous a pas permis la mise en évidence d'anomalies chromosomiques de nombre. En dépit de ces résultats, le caryotype constitue un examen indispensable lors du diagnostic de cette hémopathie car les anomalies chromosomiques détectées constituent le plus puissant des facteurs pronostiques et ce indépendamment des autres.

In fine, une prise en charge optimale d'une LAL ne peut donc pas être adéquate sans les résultats du caryotype, éventuellement complétés par de la cytogénétique moléculaire (FISH), et parfois même par la biologie moléculaire.

Mots-clés : leucémies, LAL, cytogénétique.

Laboratoires de recherche :

Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire (Université des Frères Mentouri, Constantine 1),
Unité de cytogénétique - Centre de Recherches en Biotechnologies (CRBt).

Président du jury : Pr SATTA Dalila (Professeur - UFM Constantine 1).

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

Examineur : Dr CHELLAT Djalila (MC.A - UFM Constantine 1).