

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 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 :

**Etude rétrospective et cytogénétique des Leucémies
Aigues Myéloïdes et Chroniques dans la région de Constantine**

Présenté et soutenu par : BOUMALIT Nermine

Le 14/07/2021

GHARBI Hanane

MAHCENE Boutheina

Jury d'évaluation :

Président : REZGOUNE Mohamed Larbi (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Encadreur : BECHKRI Sakina..... (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Co- encadreur : NINI AnissaChercheur. Centre de Recherche en Biotechnologies

Examineurs : GHARZOULI Razika(MCB -Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Année universitaire 2020 – 2021

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

**À toutes les personnes souffrant de
Cancer, que la flamme de l'espoir brille toujours dans vos cœurs.
Le navire de voiles de la science dans les profondeurs, et un jour il
permettra d'éliminer tous vos souffrances.**

**Nous remercions à Tous ceux qui utilisent la science pour le bonheur et la
prospérité de l'humanité.**

Remerciements

*Au professeur **Rezgoun ML.** Pour avoir aimablement accepté de présider le jury de soutenance.*

*Au Professeur **Bechkri Sakina**, merci de m'avoir confié ce travail et de l'avoir encadré, pour vos conseils dans les moments critiques et pour m'avoir poussée à faire plus que je ne m'en serais crüe capable en un temps si court. Soyez assuré de mon profond respect.*

*Au médecin Chef **Pr. Ouchnane**, au service d'hématologie au niveau du CHU Benbadis - Constantine. Merci de nous avoir ouvert les portes de votre service et de nous avoir aidé et permis de travailler en toute aisance.*

*Au **Mme NINI A**, la responsable du laboratoire de la cytogénétique du centre de la recherche en biotechnologie (CRBT). Merci de m'avoir transmis votre goût pour la cytogénétique, J'ai un profond respect pour vos compétences et votre rigueur professionnelles.*

*Nous tenons également à remercier docteur **KEBALI. S** pour leurs accompagnements et leur sollicitude tout au long de notre travail de recherche au service d'hématologie.*

*Au Docteur **Gharzouli Razika**, merci d'avoir accepté de juger mon travail, de me faire l'honneur de faire partie de ce jury comme examinatrice.*

Merci à tous

Dédicaces

Tout d'abord à Allah Le très Haut, le très Grand, le Clément, L'Omniscient, l'Omnipotent. Le Tout Puissant et miséricordieux, Merci Seigneur pour ce souffle de vie et la santé que tu m'as accordée, la force et la patience que tu m'as donnée pour accomplir ce travail.

A ma très chère mère Habati Yasmina, Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect et mon amour et ma considération pour les sacrifices que tu as consenti pour mon instruction et mon bien être.

Pour toi ma chère maman, pour tous les moments où tu n'as pas épargné le moindre effort pour m'aider et m'encourager. Tu as usé ta santé par tant de sacrifices et j'en suis reconnaissante. Tes prières et tes encouragements ont été pour moi d'un grand soutien moral tout au long de mes études.

A mon très cher père Boumalit abd nacer, Aucune expression ne saurait montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi.

Tu n'as pas cessé de me soutenir durant tout mon parcours. Ta patience sans fin, ta compréhension et ton encouragement sont pour moi le soutien indispensable que tu as toujours su m'apporté. Je te pris de me pardonner si à un moment j'ai trahi ton espoir et ton éducation.

J'espère réaliser ce jour un de tes rêves et être digne de ton nom, ta confiance et des hautes valeurs que tu m'as inculqué. Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain. J'aimerais pouvoir te rendre tout l'amour et la dévotion que tu m'as offerts, mais une vie entière n'y suffirait pas. J'espère être ta fierté comme tu l'es à mes yeux, et que Dieu tout puissant te garde en vie pour nous.

A mes frères Borhane et Chiheb, merci pour la joie et les beaux moments, pour votre amour qui me protégé toujours. Je vous aime tous les deux mes bras.

A ma sœur unique Bouterra Nour, j'ai dit ma sœur parce que tu été toujours plus qu'une cousine pour moi. Je t'aime ma belle et merci pour ton soutienne et ton amour qui sont illimités.

A mes amies Amina, Boutheina, Hanane, Lamya, merci pour tous les moments de joie, d'amour, et beaux souvenirs qui vont rester dans le cœur. Merci d'être là pour moi et que dieu vous protège.

Nermine

Dédicace

Je dédie ce mémoire :

À Mes parents RABEH et MOUNIRA

Mes très chères parents qui ont comblé ma vie de tendresse, d'affection et de compréhension, à ceux qui se sont sacrifiés pour mon bonheur et ma réussite, qui m'ont épaulée et encouragée durant ces dernières années. Rien au monde ne pourrait compenser les efforts et les sacrifices qu'ils ont consentis à mon égard afin que je puisse poursuivre mes études dans les meilleures conditions qui soient. Que Dieu leur procure santé, bonheur et longue vie.

À mon unique chère frère HAMOUDI et ma sœur MERIEME

Que Dieu vous bénisse dans vos études et votre travail et vous accorde santé et bonheur.

Je tiens à remercier mes merveilleux oncles YACINE et KAIS qui ont toujours été à mes côtés, m'ont soutenu et m'ont considéré comme leur fille.

À ma deuxième mère, ma grand-mère RASHIDA, qui me considérait comme sa fille et prenait soin de moi, que Dieu prolonge sa vie.

À mes amies ZNOUBE, MIMI, NIVE et ANOUSSA merci d'avoir toujours gardé notre amitié.

Enfin, à mes meilleures amies " mes Tri-noms " NERMINE et BOUTHEINA, qui ont partagé ce travail avec nous de bonne foi. Nous avons passé les moments les plus beaux et les plus difficiles avec un grand plaisir. Merci pour tous nos efforts.

Hanane

Dédicaces

Grace à Allah et avec sa faveur, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

A celui qui m'a ouvert les portes et m'a donnée la tendresse et le courage, au meilleur papa du monde, l'homme qui s'est sacrifié pour me rendre heureuse et me voir réussir dans ma vie

A mon paradis sur terre, la lumière de mes jours, ma femme unique, ma vie et la source de mon bonheur « ma mère », qui a tout fait pour me voir réaliser mes rêves.

A mes chers Frères

Je ne peux exprimer à travers ces lignes tous mes sentiments d'amour et de tendresse envers vous mes chers frères Akram, mouhamed heïtham et anis. Puisse l'amour et la fraternité nous unissent à jamais.

A mes grand-mères, que Dieu les préserve en bonne santé et leur accorde longue vies.

A mes compagnes Nermine et Hanane, nous avons vécu cette aventure ensemble. Nous sommes devenues plus patientes et avons appris que tout est possible quand nous avons de la bonne volonté.

Ces dédicaces ne seraient pas complètes sans une pensée à mes amis Sara, Amina, Cheïma, Amal , et pour tous les personnes qui m'ont apporté leur aide et qui ont ainsi contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.

Du fond de mon cœur je vous dédie ce travail.

Boutheïna

Liste des abréviations

Liste des abréviations

ABL : Abelson

AGM: Région Aortogonado-Mésonéphrotique

ASXL: Additional SeX Comb-Like

BCR: Break point Cluster Région

CBF: Core Binding Factor

CBL: Casitas B-cell Lymphoma

CD: Cluster of différentiation

CEBP α : CCAAT/Enhancer Binding Protein α

C-Kit: proto-oncogene receptor tyrosine kinase

CRBt : Centre de Recherche en Biotechnologies

CS : Cellules Souches

CSE : Cellules Souches Endothéliales

CSH : Cellules Souches Hématopoïétiques

CSM : Cellules Souches Méenchymateuses

CEBPA : CCAAT/ Enhancer Binding Protein Alpha

DNMT3A : DNA Methyltransferases-3A

EPO: Erythropoïétine

FAB : Franco-Américano-Britannique

FISH: Fluorescence In Situ Hybridization

EZH2: Enhancer of Zeste Homolog 2

FLT3: FMS-like tyrosine kinase 3

GB : Globules Blancs

G-CSF : Granulocyte

GM-CSF: Granulocyte macrophage -colony stimulating factor

GR: Globules Rouges

HB: Hemoglobin

HLA: Human Leukocyte Antigen

HSCT: Hematopoietic Stem Cell Transplantation

IDH1/IDH2: Isocitrate DesHydrogenase

Liste des abréviations

IL: InterLeukine

INK: Interféron

ITK: Inhibiteurs de Tyrosine Kinase

JAK2: Janus Kinase 2

K-RAS: Kirsten- Rat Sarcoma Viral Oncogene

LA: Leucémie Aiguë

LAM: Leucémie Aiguë Myéloïde

LIF: Leukemia Inhibiting Factor

LMC: Leucémie Myéloïde Chronique

M-BCR: Main Breakpoint Cluster Region

MLL: Mixed Lineage Leukemia

Mono: Monocytes

mTOR: mammalian target of rapamycin

N-RAS: neuroblastoma- Rat Sarcoma Viral Oncogene

NPM1: Nucleophosmine 1

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

Ph: Philadelphie

PHD: Plant Homeodomain

PML: ProMyelocytic Leukemia

PNB: Polynucléaires Basophiles

PNEo : Polynucléaires Eosinophiles

PNN: Polynucléaires Neutrophiles

RAS: Rat Sarcoma Viral Oncogene

RUNX1: Runt-related transcription factor 1

SCF: Stem Cell Factor

SMP: Syndromes Myélo-Prolifération

SMD: Syndrome Myélo-Dysplasique

TET2: TET oncogene family member 2

TPO: Thrombopoïétine

WT1: Wilm's Tumor 1

Liste des figures

Liste des figures

Figure 1 : Actions des facteurs de croissance dans l'hématopoïèse.....	07
Figure 2 : Evolution de la maladie en 3 phases.....	17
Figure 3 : Translocation du chromosome 9 et du chromosome 22 t(9 ;22)....	27
Figure 4 : BCR-ABL réarrangement structure.....	28
Figure 5 : Choc hypotonique par le Kcl.....	33
Figure 6 : Station cytogénétique.....	34
Figure 7 : Répartitions selon le sexe (LAM).....	38
Figure 8 : Répartitions des patients atteints la LAM en fonction de l'âge.....	38
Figure 9 : Répartitions des patients atteints de LMC en fonction de l'âge.....	39
Figure 10 : Répartition des patients selon leur origine géographique.....	39
Figure 11 : Répartition des patients selon leur taux de globules rouges.....	40
Figure 12 : Répartitions des patients selon leurs concentrations d'HB.....	41
Figure 13 : Répartition des patients LAM et LMC selon leur taux plaquettaire.....	42
Figure 14 : Répartition des antécédents des cas LAM et LMC.....	43
Figure 15 : Répartition des patients selon leurs habitudes toxiques.....	44
Figure 16 : Répartition des syndromes dans les LAM.....	44
Figure 17 : Répartition des syndromes dans les LMC.....	45
Figure 18 : Caryotype instable présentant des monosomies 15, 22, X.....	46
Figure 19 : Caryotype présentant une trisomie 21 avec une monosomie 13.....	46
Figure 20 : Noyaux en métaphase présentant une hyperdiploïdie chez le patient 1..	47
Figure 21 : Caryotype stable 46,XX.....	48
Figure 22 : Noyaux métaphasique présentant une hyperdiploïdie chez le patient 2..	49
Figure 23 : Caryotype instable 45,X de patient n°3 présentant une monosomie X	49
Figure 24 : Noyaux métaphasique du patient 3.....	50
Figure 25 : Caryotype stable 46,XY.....	50
Figure 26 : Noyaux métaphasique du patient 4.....	51
Figure 27 : image d'une Fish interphasique avec une sonde ABL-BCR (émettent deux spots de rhodamine correspond au gène ABL).....	51
Figure 28 : image d'une FISH interphasique avec une sonde ABL-BCR (avec un filtre signifie le gène ABL).....	52

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste de tableaux

IntroductionI

Première partie : Revue de la littérature

Chapitre 1 : Sang, moelle osseuse et hématopoïèse

I- Le sang03

 I-1- composant03

 I-1-1- Plasma.....03

 I-1-2- Eléments figurés (cellules).....03

II- La moelle osseuse.....03

 II-1- La rôle de la moelle osseuse.....04

III- Hématopoïèse.....04

 III-1- Les cellules souches hématopoïétique CSH.....05

 III-2- La niche hématopoïétique.....06

 III-3- Ontogenèses.....06

IV- Régulation de l'hématopoïèse.....06

Chapitre 2 : Leucémie Aigüe Myéloïde (LAM) et Leucémie Myéloïde

I- Historique.....08

II- Leucémie Aigüe myéloïde (LAM).....09

 II-1-Défénition.....09

 II-2-Classification09

 II-2-1- Classification FAB09

 II-2-2- Classification OMS09

III- Leucémie Myéloïde Chronique (LMC).....10

 III-1- Définition.....10

Sommaire

Chapitre 3 : Aspects cliniques et biologique des LAM

I- Epidémiologie LAM	12
II. Aspect clinique LAM	12
II-1-Syndrome insuffisance sanguine.....	12
II-2-Syndrome tumoral.....	12
III-Aspect biologique.....	13
III-1 L'hémogramme.....	13
III-2 Myélogramme.....	13
IV- Pronostic.....	13
V- Traitement.....	14
V-1 Chimiothérapie.....	14
V-2 Allogreffe moelle osseuse.....	14
V-3 Thérapeutiques ciblées.....	15

Chapitre 4 : Aspects cliniques et biologiques des LMC

I- Epidémiologie	16
II- Aspect clinique	16
II-1- La phase chronique.....	16
II-2- La phase d'accélération.....	16
II-3- La phase blastique.....	17
III- Aspects biologiques.....	17
III-1- Hémogramm	17
III-2- Myélogramme	18
III-3- Biopsie Ostéo-Médullaire	18
IV- Traitement	18
IV-1- Chimiothérapie	18
IV-2- Allogreffe de cellules souches hématopoïétiques	18
IV-3- Interféron alpha	19
IV-4- Thérapeutique ciblée.....	19

Chapitre 5 : Aspects génétiques des LAM

I. Altérations géniques dans les LAM.....	20
I-1- Les mutations de type I.....	21
I-2- Les mutations de type II.....	21
I-3- Les mutations de type III.....	22
I-4- L'expression des miARNs (ou micro ARN).....	24

Sommaire

II- Cytogénétique des LAM.....	24
II-1- Les anomalies génétique récurrentes.....	25
II-2- Les anomalies chromosomiques de nombre.....	25
Chapitre 6 : Aspects génétiques des LMC	
I. Biologie moléculaire du chromosome Philadelphie	27
I-1- Gène ABL.....	27
I-2- Gène BCR.....	27
II. l'hybridation par fluorescence in situ (FISH).....	28
Deuxième partie : Partie pratique	
Matériel et méthodes.....	32
I-Lieu et durée de l'étude.....	32
II- Objectifs.....	32
III- Patients.....	32
IV-Matériel biologique.....	33
V-Méthodologie	33
V-1 Collecte des données à partir des dossiers.....	33
V-2- Matériel et réactifs.....	33
V-3- Caryotype.....	33
V-4- Hybridation In Situ par Fluorescence.....	34
Résultats et discussion	
I-Etude rétrospective	37
I-1- Etudes épidémiologie.....	37
I-1-1- Réparation selon le sexe	37
I-1-2- Réparation selon l'origine géographique	39
I-2- Etudes biologique.....	40
I-2-1.FNS.....	40
I-3- Etude clinique.....	42
I-3-1.Antécédents.....	42
I-3-2- Habitudes toxique s.....	43
I-3-3- syndromes	44
II- Etude cytogénétique	45
Conclusion et perspectives.....	53

Sommaire

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Introduction

Les leucémies sont des termes génériques donnés à un ensemble de maladies malignes complexes, aiguës ou chroniques, consistant en un envahissement de la moelle osseuse et d'autres organes, caractérisées par la prolifération des leucocytes des placettes (globules blancs) et constituent un véritable problème de santé publique, notamment en Algérie (**Arasteh *et al.*, 2009 ; Herold, 2012**).

Les Leucémies Aiguës Mésoblastiques (LAM) peuvent être définies comme un ensemble hétérogène de proliférations de précurseurs des cellules sanguines (blastes) de nature myéloïde avec blocage à un stade précoce de leur différenciation, aboutissant à leur accumulation dans la moelle, le sang et éventuellement d'autres organes, et inhibant l'hématopoïèse physiologique (**Howlader, 2011**).

Selon la classification de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) en 2008, la Leucémie Myéloïde Chronique (LMC) est une maladie hématologique maligne appartenant au syndrome myéloprolifératif ou tumeur myéloproliférative (Arber *et al.*, 2016 ; Vardiman *et al.*, 2008). L'anomalie cytogénétique acquise qui définit la LMC est appelée chromosome Philadelphie (Ph), translocation (22q; 9q), et se retrouve dans plus de 95 % des cas de LMC en cytogénétique traditionnelle (**Leguay et Mahon, 2005**).

Notre travail a porté sur une étude rétrospective et cytogénétique de la Leucémie Aigue Myéloïde et la Leucémie Myéloïde Chronique à travers :

- L'étude des données de leurs incidence et prévalence au CHU Benbadis - Constantine,
- La répartition de cette affection selon les différentes régions,
- La répartition selon les caractéristiques des patients (âge, sexe, lieu de résidence et profession)
- La recherche des différents facteurs de risque, liés au mode de vie des patients adultes et enfants atteints.
- L'application des technique de cytogénétique à l'analyse des LAM et LMC des patients atteints et non traités et ce pour la recherche d'anomalies chromosomiques récurrentes et spécifiques associées à ces hémopathies malignes.

Notre mémoire est structuré de la manière suivante :

- Une introduction
- Une revue bibliographique faisant ressortit les principaux mots clés du thème tout en actualisant les données de la littérature, spécialement les aspects génétiques
- Une partie pratique portant sur la méthodologie adoptée, les résultats et leurs discussions
- Une conclusion



Première partie

Revue de la littérature



Chapitre 1 : Sang, moelle osseuse et hématopoïèse**I. Le sang**

Le sang est un tissu conjonctif spécialisé visqueux et opaque qui représente 7 à 8% du volume corporel (nouveau-né 250ml, adulte 4 à 5 l), d'origine mésenchymateuse. Ce volume, contenu dans l'appareil cardio-vasculaire (appareil circulatoire), représente la partie circulante du milieu intérieur, à laquelle s'ajoutent la lymphe, drainée par le réseau lymphatique qui communique avec les vaisseaux sanguins, et le liquide (ou lymphe) interstitiel dans lequel « baignent » les cellules de l'organisme.

Le tissu sanguin se compose d'un liquide presque incolore (plasma) dans lequel baignent les cellules sanguines qui représentent 45% du volume total (**Kohler, 2011**). Ce tissu, très particulier, assure le transport des gaz respiratoires, la défense de l'organisme ainsi que la circulation (**Kohler, 2011**).

I.1. Composants**1.1.1 Plasma**

Le plasma est un composant liquide du sang. Équivalent à 55% volume sanguin, 90% eau et substances solubles : protéines (albumine, globulines), glucides, lipides, sels minéraux (**Kohler, 2011**).

1.1.2 Éléments figurés (cellules)

Il existe 3 types de cellules sanguines :

- **Globules rouges (érythrocytes) :** ce sont des cellules universelles transportant de l'oxygène dans toutes les cellules corporelles. Ces cellules ont une durée de vie de 120 jours chez une personne en bonne santé (**Kohler, 2011**).
- **Globules blancs (leucocytes) :** ce sont des cellules nucléaires ; il en existe différents types: Neutrophiles PolyNucléaires (NNP), PolyNucléaires PolyEosinophiles (PNEO), Basophiles Polynucléaires (PNL), Monocytes et Lymphocytes. Ces cellules participent au changement de défense spécifique de l'organisme, combattent les infections du corps contre les bactéries, les virus et autres germes (**Kohler, 2011**).
- **Plaquettes (thrombocytes) :** elles jouent un rôle fondamental dans le phénomène initial de coagulation. Elles ont une durée de vie de 8 à 12 jours (**Kohler, 2011**).

II. La moelle osseuse

La moelle osseuse est un organe hématopoïétique et lymphoïde d'origine mésenchymateuse à l'origine des cellules de la lignée sanguine. C'est un tissu spongieux riche en nutriments qu'on trouve dans les parties creuses des os longs et plats comme le sternum ou

les os des hanches. Elle est concernée par la formation, la croissance et le remodelage des os, des fonctions qu'elle conserve tout au long de sa vie (**Moldoff, 2014**).

Il existe trois types de moelle osseuse :

- **Moelle osseuse rouge** : d'origine sanguine, située au niveau des os spongieux (crâne, sternum, vertèbres)
- **Moelle osseuse jaune** : infiltrée par le tissu adipeux est localisée dans le reste du compartiment. Elle a une dégradation des graisses réversibles. Lorsque le sang est régénéré, la moelle osseuse jaune devient une moelle osseuse rouge hématopoïétique.
- **Moelle osseuse grise** : qui peut être observée chez les personnes âgées. Elle est fibreuse et constitue une dégénérescence fibreuse irréversible (**Moldoff, 2014**).

II.1. Le rôle de la moelle osseuse

La moelle osseuse est comme une "usine" qui peut fabriquer toutes les cellules de la moelle osseuse et du sang. Le fonctionnement de cette usine bénéficie de cellules souches pluripotentes. Ces cellules pluripotentes ont la capacité de se différencier en plusieurs types cellulaires (**Moldoff, 2014**).

La moelle osseuse contient deux types spécifiques de cellules souches, les cellules mésenchymateuses et les cellules hématopoïétiques. Le processus de formation de différentes cellules sanguines à partir de cellules souches pluripotentes est appelé hématopoïèse. Les cellules pluripotentes hématopoïétiques produisent tous les types de cellules dans le système sanguin. Sous l'influence de facteurs environnementaux et hormonaux, les cellules souches hématopoïétiques se différencient en différentes lignées cellulaires sanguines spécifiques. Après différenciation ou maturation, ces cellules sont les cellules présentes dans le sang (**Moldoff, 2014**).

III. Hématopoïèse

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

Le siège de l'hématopoïèse est durant la vie intra-utérine, le sac vitellin, ensuite le foie, la rate et enfin la moelle osseuse. L'hématopoïèse normale siège dans la moelle osseuse après la naissance (**Atul et al., 2003 ; Boyer, 2016 ; Hirsch, 2016**).

L'hématopoïèse utilise des cellules souches hématopoïétiques pour maintenir la régénération continue de cellules sanguines matures avec une capacité de prolifération nulle ou très faible

et une durée de vie limitée. Ils peuvent proliférer sans différenciation (auto-renouvellement) et se différencier en l'une ou l'autre prolifération spécialisée de cellules hématopoïétiques : globules rouges, neutrophiles pléomorphes, éosinophiles et basophiles, plaquettes, monocytes/macrophages, lymphocytes T et B (Nesrine, 2007). Le phénomène d'hématopoïèse a une hiérarchie cellulaire complexe, comprenant trois parties :

- Compartiment pour HSC de cellules souches hématopoïétiques : Capable de distinguer toutes les lignées hématopoïétiques, y compris les lignées lymphoïdes T et B (Nesrine, 2007), et maintenir l'hémostase hématopoïétique au cours de la vie de l'individu (Boyer, 2016). Les CSH sont très rares dans l'organisme, environ 0.001% des cellules médullaires (Hirsch, 2016).

- Un compartiment de progéniteurs clonogéniques : Les progéniteurs matures déterminés vers une seule lignée, qui répondent à un seul facteur de croissance, des progéniteurs plus primitifs pluripotents, qui répondent à des combinaisons de facteurs de croissance ou à 7 des molécules d'origine stromale. Parmi les éléments du compartiment des progéniteurs, on distingue les cellules souches lymphoïdes B et T, les érythrocytes, les Granulocyte/Monocyte, les éosinophiles), les basophiles et les mastocyte (Nesrine, 2007).

Ces deux compartiments cellulaires sont responsables de cellules morphologiquement méconnaissables et rares parmi les cellules hématopoïétiques. Cette rareté explique les efforts de purification, principalement : antigènes de différenciation, cellules souches hématopoïétiques et cellules progénitrices (Nesrine, 2007).

- Compartiment mature : précurseurs hématopoïétiques dans lesquels les cellules sont morphologiquement reconnaissables. À la fin du processus de maturation, les cellules hématopoïétiques entrent dans la circulation (Nesrine, 2007).

Toute l'étape concernant l'affiliation des différentes cellules hématopoïétiques est contrôlée par la mise à la surface des éléments de l'expression transitoire ou constante des divers antigènes membranaires ou « CD » (Cluster of Differentiation). Cette détection permet, en utilisant des anticorps spécifiques, de connaître très précisément les multiples étapes de maturation qui se produisent au cours de l'hématopoïèse et de séparer les cellules appartenant à chacune de ces étapes (Nesrine, 2007).

III-1 Les cellules souches hématopoïétiques CSH

Toutes les cellules du sang sont produites à partir d'une même cellule mère indifférenciée qui s'appelle cellule souche multipotente qui a la capacité de reconstituer à long terme toutes les lignées cellulaires de l'hématopoïèse. Elles s'auto-renouvellent et évoluent vers la

pluripotente, c'est-à-dire, une spécialisation des lignées. Elles sont localisées dans la moelle osseuse mais certaines peuvent passer dans le sang. Les cellules souches possèdent deux principales caractéristiques : l'auto-renouvellement et différenciation.

- L'auto-renouvellement est une croissance des cellules multipotentes sans différenciation. L'objectif est de permettre de stocker les cellules souches primitives et par conséquent, maintenir le potentiel de l'hématopoïèse.
- La différenciation sous l'influence de facteurs de croissance, la division des cellules multipotentes et l'engagement irréversible, vers une ou plusieurs lignées.

La cellule perd alors sa multipotence pour devenir un progéniteur ou une cellule souche engagée (**Nesrine, 2007**).

III-2 La niche hématopoïétique

Les Cellules Souches (CS) se localisent dans «la niches hématopoïétique». Ces niches favorise à ces cellules de se maintenir en quiescence et de s'autorenouveler sous le contrôle de signaux cellulaires intrinsèques ou extrinsèques, humoraux et neuroendocrines. (**Garrett et Emerson, 2009**).

Il existe deux types de niches hématopoïétiques :

- La niche endostéale, au contact de l'os, est composée d'ostéoblastes, de fibroblastes et d'adipocytes, l'origine de toutes les Cellules Souches Mésoenchymateuses (CSM). Elle comprend des ostéoclastes impliqués dans la différenciation des CSH
- La niche vasculaire, elle consiste en un réseau de vaisseaux fenêtrés formés par des cellules endothéliales provenant de Cellules Souches Endothéliales (CSE) (**Spiegel et al., 2008**).

III-3 Ontogénèses

L'ontogénie de l'hématopoïèse est définie comme une série d'étapes successives : la première étape est le sac vitellin de la différenciation des îlots sanguins. Les cellules de ces structures migrent ensuite et remplissent les organes hématopoïétiques transitoires tels que le foie et la rate. Enfin, une éventuelle migration permet la mise en place d'une hématopoïèse médullaire. Le précurseur de CSH provient du sac vitellin. Ils rejoignent la zone aortogonadomésonephrotique (AGM), puis colonisent les principaux sites hématopoïétiques par la circulation sanguine : placenta, foie fœtal, et enfin jusqu'au site du sang artériel, la moelle osseuse (**Anonyme, 2017**).

IV. Régulation de l'hématopoïèse

La régulation de l'auto-renouvellement, la survie, la prolifération et la différenciation des cellules souches hématopoïétiques se fait grâce à des facteurs internes et externes :

- **Les facteurs de croissance** : principalement produits par les cellules de la moelle osseuse. Ils agissent de manière autocrine, sécrétés par une même cellule pour elle-même, de manière paracrine, sécrétés par les cellules voisines ou de manière endocrine. Ces facteurs sont synthétisés par de nombreux types cellulaires et sont intégrés par l'intermédiaire de récepteurs spécifiques.

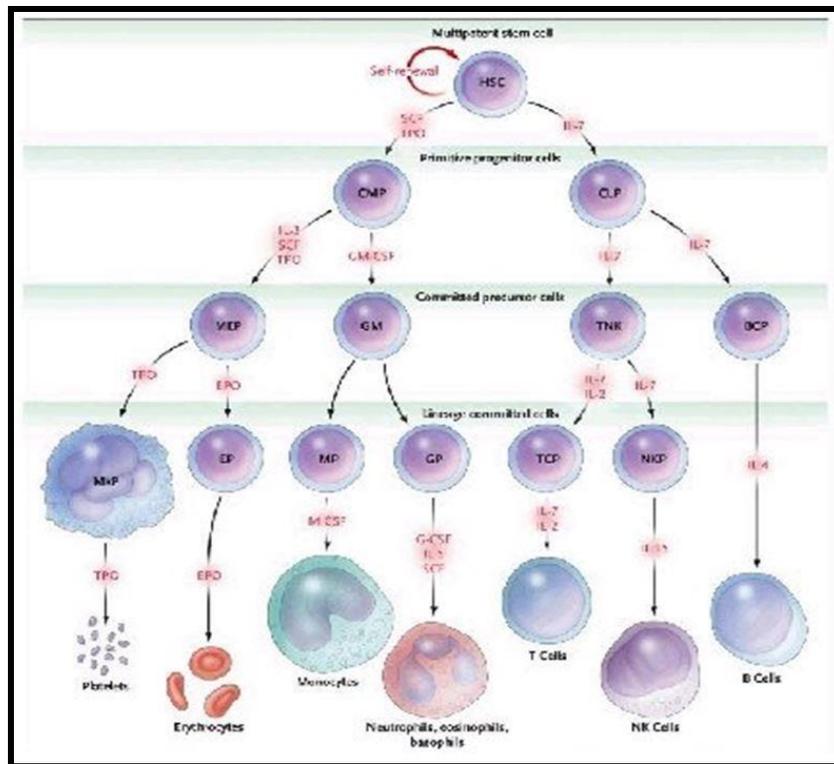


Figure 1 : Actions des facteurs de croissances dans l'hématopoïèse (Kaushansky, 2006).

- **Les facteurs de transcription** : se jouent à un stade de maturation particulier pour une lignée spécifique. Exemples : PU-1 participe dans la régulation des CSH primordiaux pour la différenciation myéloïde, CEBPA (CCAAT/ Enhancer Binding Protein Alpha), impliqué dans la différenciation granulocytaire (Boyer, 2016).

- **Vitamines et oligoéléments** : nécessaires à la production de protéines spécifiques de lignées. Exemples : le fer, élément indispensable pour la formation de l'hémoglobine, la cobalamine (B12) et l'acide folique (B9), éléments indispensables à la synthèse de l'ADN et donc à la division cellulaire (sperte M, 2016).

Chapitre 2 : Leucémie Aigüe Myéloïde (LAM) et Chronique (LMC)**I. Historique**

Le médecin et microscopiste Alfred Donne fut parmi les premiers qui décrivent les leucémies en France. Les leucémies rencontrées en 1845 par Bennett, ont eu le nom de leucocytémie. Virchow proposa le nom de leucémie qui la définit les leucémies comme des perturbations du développement des cellules sanguines, et distingua des formes splénique (avec atteinte de la rate) et lymphatique, et il marque la difficulté de définir les limites du concept de leucémie **(Debru et Triadou, 1996)**.

Ernst Neumann a découvert, en 1869, la fonction hématopoïétique de la moelle osseuse, cette nouvelle conduisit au concept de leucémie myélogène et il l'a classée en trois formes (myélogène pure, splénique ou lymphatique avec troubles de la moelle) **(Debru et Triadou, 1996)**.

Ehrlich proposa une théorie dualiste de l'origine des lignées leucocytaires myéloïde et lymphoïde. En 1889, Wilhelm Epstein la nomma leucémies aiguës et la distingua de la transformation aiguë des leucémies chroniques.

Otto Naegeli a identifié les leucémies lymphatiques aiguës avant les leucémies myéloïdes aiguës. William Dameshek conclut, en 1930, la particularité de la leucémie monocyttaire aiguë.

Jean Bernard, en 1934, donna une preuve importante du caractère néoplasique des leucémies et provoqua une érythro-leucémie expérimentale par l'injection intramédullaire de goudron chez le rat **(Debru et Triadou, 1996)**.

En 1974, des hématologues français, américains et britanniques ont confronté leurs opinions sur 200 cas de leucémies aiguës et d'affections pouvant poser des problèmes de diagnostic différentiels. Ces travaux ont conduit à la publication de la classification FAB en 1976 **(Debru et Triadou, 1996)**. La classification OMS a complété la classification FAB, apportant des données sur les anomalies cytogénétiques en 2001 puis en 2008 **(Chaquin, 2013)**.

Durant deux siècles, les recherches médicales ont permis de comprendre les mécanismes physiopathologiques de la Leucémie Myéloïde Chronique (LMC). Cette hémopathie maligne est un modèle essentiel dans la cancérogenèse dans laquelle une lésion moléculaire unique a été identifiée. Nowell et Hungerford ont mis en évidence l'anomalie chromosomique en 1960, puis la translocation réciproque t(9;22)(q34;q11) caractérisant le chromosome Philadelphie identifié par Rowley en 1973. À la fin du XXe siècle, la biologie moléculaire découvra

l'existence du gène hybride BCR-ABL1, responsable de la traduction d'une protéine aberrante à forte activité tyrosine kinase (**Gonon-Demoulian *et al.*, 2014**).

II-Leucémie Aigüe Myéloïde (LAM)

II-1-Définition

La leucémie est une prolifération monoclonale maligne de précurseurs hématopoïétiques bloqués dans leur différenciation. Cette prolifération atteint la lignée myéloïde donnant une Leucémie Aigüe Myéloïde (LAM) aussi appelée Leucémie Myéloblastique. Elles sont dites « Myéloïde » en référence à la moelle osseuse, et le terme « Aigüe » signifie une progression rapide faisant diffuser la maladie rapidement (quelques jours ou quelques semaines). La LMA est le type de leucémie le plus fréquent chez l'adulte, bien qu'elle soit observée à tout âge. Leur accumulation dans la moelle, le sang, et d'autres organes aboutit à une suffocation des lignées hématopoïétiques. Dans ces pathologies, l'ensemble d'hémopathies morphologique et génétique peuvent toucher les lignées myéloïdes, le clone cellulaire anormal prolifère et assume tous les caractères de malignité (**Lafon *et al.*, 2010 ; Tebbani *et al.*, 2020**).

II-2-Classifications

II-2-1-Classification FAB

La première classification franco-américaine-britannique (FAB), en 1976, se distinguait principalement par les caractéristiques morphologiques des cellules anormales de la leucémie aiguë myéloïde, observées par imagerie de la moelle osseuse, divisées en huit catégories (**Jimli *et al.*, 2004**) :

LAM 0 : Indifférenciée

LAM 1 : Myéloblastique sans différenciation

LAM2 : Myéloblastique avec différenciation

LAM 3 : Promyélocytaire

LAM 4 : Myélomonocytaire

LAM 4Eo : Myélomonocytaire avec éosinophilie

LAM 5 : Monoblastique

LAM 6 : Érythroblastique LAM

LAM 7 : Mégacaryoblastique (**Valensi, 2002**).

II-2-2-Classification OMS

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), en 2001, complète l'ancien système de classification FAB. Cette classification décrit les caractéristiques épidémiologiques, cliniques et cytogénétiques des leucémies aiguës myéloïdes et pour adapter les indications

thérapeutiques par l'utilisation d'une combinaison de l'ensemble des approches critères biologiques (morphologie, immunophénotype, cytogénétique, biologie moléculaire). Cette classification a été mise à jour pour la première fois en 2008 ; de nombreuses avancées ont été réalisées dans l'identification des leucémies aiguës et ont amélioré considérablement les critères thérapeutiques (**Leymarie *et al.*, 2004 ; Imbert, 2015**).

La classification OMS a été actualisée une deuxième fois, en 2016, en se basant sur les anomalies cytogénétiques et moléculaires :

- LAM avec anomalies génétiques
- Leucémie myéloïde aiguë avec modifications myélodysplasiques
- Leucémie myéloïde aiguë liée au traitement
- Leucémie myéloïde aiguë, non autrement spécifiée (LAM avec maturation, avec différenciation minimale et sans maturation)
- Sarcome myéloïde
- Proliférations myéloïdes liées au syndrome de Down
- Néoplasie des cellules blastiques dendritiques plasmocytoïdes (**Moatti, 2017**).

III- Leucémie Aigüe Myéloïde Chronique (LMC)

III-1-Définition

La Leucémie Myéloïde Chronique (LMC) est une pathologie au niveau des cellules souches hématopoïétiques, de caractère myéloproliférative évoluant par 3 phases , premièrement en phase chronique peu symptomatique à une phase aiguë plus agressive, en l'absence de traitement. La LMC représente 15 % des leucémies de l'adulte, bien que d'apparition survient dans tous les groupes d'âge (**Chomel *et al.*, 2014 ; Baccarani *et al.*, 2015**). Au niveau cytogénétique et moléculaire, la plupart des patients atteints de leucémie myéloïde chronique ont le gène de fusion BCR-ABL dans les cellules progénitrices hématopoïétiques. Le gène Abelson (ABL1) du chromosome 9q34 est impliqué dans la translocation mutuelle entre les chromosomes 9 et 22, et le gène de la région de fusion au point de rupture est situé sur le chromosome 22q11.2. Le résultat moléculaire de cette translocation est l'oncogène de fusion BCR-ABL1, qui à son tour est suffisant pour induire une LMC chronique. Plus de 90 % des cas ont des chromosomes de Philadelphie, ce qui est le résultat de la translocation (9 ; 22) (q34 ; q11) (**Tulliez, 2011 ; Jabbour *et al.*, 2018**).

Au cours de la dernière décennie, des thérapies ciblées pour la leucémie myéloïde chronique ont été développées. L'imatinib agit sur le produit de l'oncogène BCR-ABL en tant que traitement de première intention, car les chercheurs ont découvert d'autres inhibiteurs de la

tyrosine kinase (TKI) de deuxième génération plus efficaces chez les patients non traités. La proportion de patients atteints de leucémie cellulaire peut espérer vivre plus longtemps, sans souffrir de cette maladie (**Tulliez, 2011**).

Chapitre 3 : Aspects cliniques et biologique des LAM**I- Épidémiologie**

Les LAM sont les hémopathies myéloïdes les plus fréquentes, devant les SMD. Elles prédominent chez l'adulte et représentent 75-80 % des cas de LA contre 20 à 25 % d'origine lymphoïde. Le taux d'incidence moyen standardisé sur la population mondiale est d'environ 2,2 cas pour 100 000 personnes / années. L'incidence des LAM augmente avec l'âge, surtout après 50 ans pour les deux sexes, avec cependant une prédominance masculine. Le rapport homme/femme varie de 1 à 1,5. L'âge médian au diagnostic est de 65 ans.

Les LAM sont rares chez l'enfant et représentent 15 % des leucémies aiguës et 4,6 % des cancers chez l'enfant de moins de 15 ans. Il existe un pic d'incidence de faible intensité pour les LAM entre 1 à 4 ans (0,6 à 0,8 cas pour 100.000) (**Rocquain, 2010**).

L'incidence de la LAM est plus élevée en Australie, aux États-Unis et en Europe comparativement à la plupart des pays d'Afrique et d'Asie qui affichent des taux plus faibles (**Jemal et al., 2002**). En Allemagne, on observe un taux de 5,2 cas/100 000 par an, et en Grande-Bretagne 4,5 cas de LAM par an (**Fiegl, 2016**).

II- Aspect clinique**II-1- Syndrome d'insuffisance sanguine**

- Syndrome anémique : caractérisé par une pâleur, asthénie, scotomes, acouphènes, vertiges, dyspnée d'effort, palpitations
- Syndrome infectieux (angine ulcéronécrotique), caractérisée par des pneumopathies, abcès anaux-rectaux, septicémies, recherche d'une porte d'entrée infectieuse systématique
- Syndrome hémorragique : caractérisé par purpura pétéchial, ecchymotique, hémorragies muqueuses : épistaxis, gingivorragies, hémorragies graves qui mettent en jeu le pronostic fonctionnel (oculaire) et le pronostic vital (hémorragies cérébrales) (**Boissel, 2006**).

II-2-Syndrome tumoral

- Douleurs osseuses : surtout chez l'enfant +++
- Splénomégalie : absente ou modérée +++ spléналgies
- Hépatomégalie rare
- Autres localisations : neuro-méningées, amygdaliennes, gonadiques, testiculaires+++/
ovariennes (**O'hana et al., 2015**).

III- Aspect biologique

III-1- L'hémogramme

L'hémogramme donne des résultats anormaux à des degrés divers :

- Des anomalies quantitatives :

- Anémie normo- ou macrocytaire non régénérative
- Thrombopénie
- Leucocytose variable, allant d'une leucopénie plus ou moins profonde avec neutropénie et une franche hyperleucocytose qui peut dépasser $100 \times 10^9/l$ globules blancs.
- Pancytopenie plus ou moins profonde.

- Des anomalies qualitatives : suspicion d'éléments inhabituels comme le myéline, cellules lymphoïdes anormales, blastes (**Imbert, 2002**).

III-2- Myélogramme

Le myélogramme est l'examen qui fait ou confirme le diagnostic. Dans les cas de l'existence d'anémie non régénérative ou thrombopénie, neutropénie, ou présence de leucoblastes circulants, un myélogramme s'impose. La moelle est dense et comporte :

- Une diminution des lignées cellulaires normales : diminution des érythroblastes et cellules granuleuses, absence de mégacaryocyte.
- Un infiltrat blastique, en général massif (90% et plus) (**Abdelraheem, Chakour, 2013**).

IV- Pronostic

Le pronostic joue un rôle dans l'influence de la façon dont le cancer répond à un certain traitement et dans le choix du plan de traitement et dans l'établissement du pronostic. Les principaux facteurs pronostiques sont :

- **Changements chromosomiques**

Plusieurs changements chromosomiques (anomalies) sont liés à la LAM et certains servent de facteurs pronostiques.

- **Âge**

Les adultes plus jeunes (moins de 60 ans), ont un meilleur pronostic que les adultes plus âgés. Peut-être parce que les anomalies chromosomiques risquent d'apparaître avec le vieillissement.

- Hyperleucocytose

Si le nombre de globules blancs dépasse 100 000 au moment du diagnostic, le pronostic est sombre (Duployez *et al.*, 2018).

V- Traitement

V-1- Chimiothérapie

➤ Traitement symptomatique

- Contre l'anémie : transfusion de GR et maintenir l'Hb supérieure à 8/dl.
- Traiter l'hémorragie : par transfusion de culots plaquettaires (CPS ou CUP)
- Prévention des infections : isolement du malade dans une chambre stérile avec bilan infectieux.

➤ **Traitement de l'infection** : Par une antibiothérapie à fortes doses par l'association d'un bêta-lactamine + Aminoside, Parfois peut être une combinaison de l'ATB et l'antifongique et antiviral.

➤ **Traitement anti-leucémique** : ce traitement comporte deux phases :

- **Phase d'induction**: Pour obtenir une rémission complète
- **Phase de post-induction** : consolidation par une chimiothérapie séquentielle pour maintenir la rémission et la protection de la rechute.

➤ **Traitement d'attaque** : Comporte deux drogues : Anthracycline (Daunorubicine) et l'aracytine (Costello *et al.*, 2018 ; Duployez *et al.*, 2018 ; Hamouda *et al.*, 2019).

La leucémie aiguë myéloïde est très difficile à soigner car elle résiste à la chimiothérapie, puisque les cellules cancéreuses deviennent chimiorésistances. La concentration d'une protéine du nom de LAMP2 constituerait un indicateur précoce de la résistance à la chimiothérapie. Le moyen de contourner cette résistance est l'utilisation des médicaments qui existent déjà, dans le traitement d'autres maladies qui pourraient être associés au traitement d'origine à l'azacytidine lorsque la concentration de LAMP2 devient trop élevée. Par conséquence, les malades de leucémie aiguë myéloïde seraient mieux réceptifs à la chimiothérapie (Costello *et al.*, 2018).

V-2- Allogreffe moelle osseuse

L'allogreffe de CSH (Hematopoietic Stem Cell Transplantation (HSCT) est une thérapeutique complexe dont l'objectif principal est d'utiliser les CSH d'un donneur sain sélectionné afin de restaurer chez le patient une hématopoïèse normale d'une part et une lutte

anti-tumorale efficace et durable d'autre part. Ce processus suit un traitement spécial de préparation du receveur (**Barnes *et al.*, 1956 ; Thomas *et al.*, 1957**).

Il s'agit de l'infusion des CSH par voie intraveineuse et leur installation dans la moelle osseuse du patient (homing), la prise de greffe est définie par la restauration de l'hématopoïèse avec apparition de cellules matures circulantes. Le donneur est sélectionné selon sa compatibilité de groupe tissulaire « HLA » (Human Leukocyte Antigen).

Le patient va récupérer un système immunitaire efficace secondairement. Grâce à cette reconstitution immunitaire, les lymphocytes T générés vont pouvoir jouer leur rôle central dans le maintien de la réponse anti-tumorale, action appelée GvL « Graft versus Leukemia » (**Bayraktar *et al.*, 2016 ; Bogunia-Kubik *et al.*, 2017**).

Bien que la greffe allogénique de CSH ait une toxicité importante, elle reste le traitement de choix pour le traitement de l'hématopathie myéloïde (**Döhner *et al.*, 2017**).

V-3- Thérapeutiques ciblées

La voie PI3K/Akt/mTOR est une nouvelle cible thérapeutique pour le traitement de la leucémie myéloïde aiguë. Il s'agit d'une nouvelle cible thérapeutique pour le traitement de la leucémie myéloïde aiguë (Dos Santos *et al.*, 2006). Cette voie est principalement activée dans les cellules leucémiques de 60% des patients atteints de LAM. *In vitro*, la rapamycine est un inhibiteur spécifique de la kinase mTOR, qui empêche la phosphorylation des cibles mTOR classiques et inhibe la prolifération des cellules progénitrices de la leucémie sans affecter la croissance des cellules progénitrices myéloïdes normales (**Dos Santos *et al.*, 2006**).

Chapitre 4 : Aspects cliniques et biologiques des LMC**I - Épidémiologie**

La Leucémie Myéloïde Chronique (LMC) représente 15 % de tous les cas de leucémie. Son incidence annuelle est estimée entre 0,6 et 2/100 000 habitants. Elle peut toucher tous les âges, y compris les enfants. Les hommes sont plus touchés que les femmes, avec un ratio hommes/femmes estimé entre 1,3 et 1,8. La gravité de cette maladie du sang est corrélée à son évolution inexorable vers une leucémie aiguë mortelle, en l'absence de traitement adéquat. L'âge moyen au diagnostic est d'environ 65 ans (**Hehlmann et al., 2007**).

La leucémie myéloïde chronique représente approximativement 7 à 15% des leucémies de l'adulte. Son incidence dans le monde varie en fonction des pays, la plus haute est de 1.7 retrouvée en Suisse et aux Etats Unis et la plus basse incidence est de 0.7 retrouvée en Suède et en Chine (**Augustin, 2017**).

II- Aspect clinique**II-1- La phase chronique**

Il s'agit du premier stade de stabilisation progressive et maligne, stable pendant 4 à 5 ans. Au cours de ce stade, de nombreux patients ne présentent pas de symptômes sévères au moment du diagnostic. Cependant, 3 symptômes majeurs peuvent être retrouvés :

- Un changement de l'état général, associé à un hypermétabolisme, une perte de poids, de la fièvre, des sueurs, une pâleur et une faiblesse pouvant atteindre la léthargie.
- Le syndrome tumoral, qui se caractérise en grande partie par une hypertrophie de la rate (50 % des cas).
- Des signes de leucostase, avec en particulier un priapisme, sont aujourd'hui assez exceptionnels (**Zekkari, 2014**).

II-2- La phase d'accélération

Sa durée est de 12 à 18 mois en moyenne et se caractérise par une résistance progressive au traitement. Elle correspond à la transition entre la phase chronique et la phase blastique (**Leleu et al., 2010**). Les personnes atteintes d'une LMC en phase accélérée peuvent avoir :

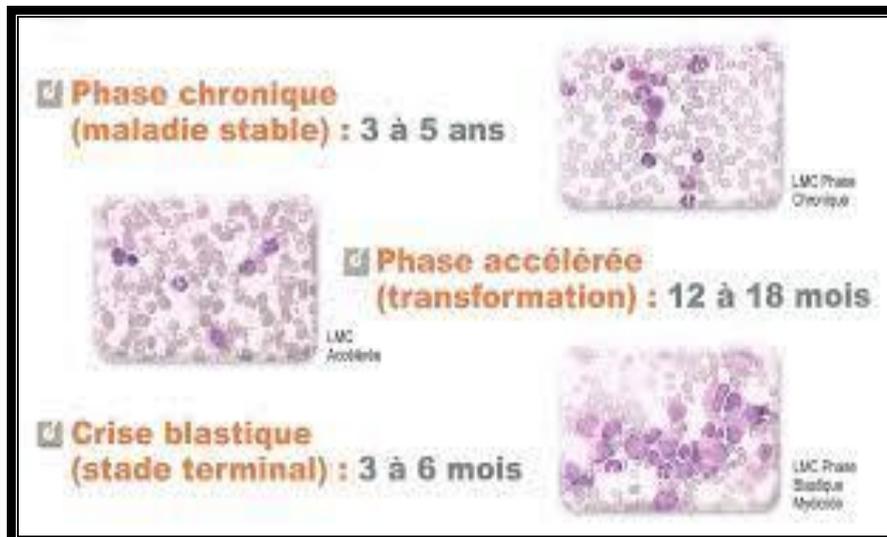
- Un taux sanguin de basophiles (type de globules blancs) de plus de 20 %
- Un nombre de plaquettes très élevé ou très faible
- Une augmentation de la taille de la rate
- Un nombre élevé de globules blancs
- Des anomalies chromosomiques supplémentaires
- Une anémie
- De nouvelles altérations chromosomiques (mutations) dans les cellules LMC (**Herlet, 2010**).

II-3- La phase blastique

La phase blastique, ou phase de transformation en leucémie aiguë secondaire. C'est le mode de terminaison de la maladie après 3 à 4 ans d'évolution en absence de traitement, dans ce cas l'installation de la phase blastique est souvent plus lente après une phase d'accélération bien marquée, dont l'espérance moyenne de vie est de 3 à 6 mois (Leleu *et al.*, 2010).

Les personnes souffrant d'une LMC en phase blastique peuvent présenter :

- Une anémie
- Un nombre très élevé de globules blancs
- Un nombre de plaquettes très élevé ou très faible
- Des blastes qui ont quitté le sang ou la moelle osseuse pour se propager à d'autres tissus et organes
- Des cellules LMC porteuses de nouvelles anomalies chromosomiques
- Des symptômes tels que fièvre, fatigue, essoufflement, douleurs abdominales, douleurs osseuses, augmentation de la taille de la rate, perte d'appétit et de poids, saignements, infections (Benosman, 2010).



III- Aspects biologiques

III-1 Hémogramme

- **Anémie modérée** : centrale par insuffisance de production et périphérique par hypersplénisme. Nombre d'érythroblastes circulants < 2%
- **Hyperleucocytose franche** : le nombre des leucocytes est supérieur à 100 G/L dans 50% des cas.

- **Polynucléose neutrophile avec myélémie importante :** les Polynucléaires neutrophiles sont de 40 à 60 %. Myélémie est de 30 à 60 %.
- **Plaquettaire :** augmentée dans 50 % des cas (**Anonyme, 2017**).

III-2- Myélogramme

Une moelle osseuse très riche, avec des séries de « granules » augmentent et les médulloblastes (cellules immatures) au stade chronique de la maladie sont inférieurs à 10 %. Une augmentation des basophiles et une augmentation des éosinophiles peuvent être observées dans le sang périphérique. Les précurseurs plaquettaires ou mégacaryocytes augmentent généralement et sont de plus petite taille. Le but de cette analyse est de confirmer le stade de la maladie et d'effectuer une première analyse caryotypique (**Anonyme, 2017**).

III-3- Biopsie Ostéo-Médullaire

La biopsie médullaire n'est pas nécessaire pour le diagnostic de LMC, mais elle peut confirmer le diagnostic et permettre un caryotypage en cas de myélémie insuffisante (**Sebahoun, 2005**). Le syndrome est confirmé par une hyperplasie du tissu hématopoïétique de la lignée myéloïde spécialement. Les cellules complètent la totalité des espaces médullaires. Les cellules granuleuses sont responsables à cette hyperplasie, les mégacaryocytes sont nombreux et de petite taille et les îlots d'érythroblastes sont très rares. Une fibrose réticulinique discrète dans certains cas (**Leguay, Mahon F, 2005 ; Dine et al., 2013**).

IV- Traitement

IV-1- Chimiothérapie

- Hydroxyurée

L'hydroxyurée est un inhibiteur de la ribonucléotide réductase, il diminue la synthèse d'ADN. Elle permet l'obtention de rémissions hématologiques complètes dans 39 à 53 % des cas (**Doroz, 2002**).

- Cytarabine

La cytarabine est un anti métabolite pyrimidique, inhibe la synthèse de l'ADN, elle inhibe aussi directement l'ADN polymérase. Il est indiquée en cas de transformation aigue de la LMC en association avec l'IFN (**Doroz, 2002**).

IV-2- Allogreffe de cellules souches hématopoïétiques

L'allogreffe, conventionnelle ou à conditionnement atténué, reste toujours le seul traitement curatif démontré de la LMC (**Benakli et al., 2013**). Malgré les progrès qui ont permis de réduire la toxicité et la mortalité reliée à la greffe, elle s'accompagne toujours avec un taux de mortalité non négligeable qui limite ses utilisations. En phase avancée, l'allogreffe conserve

toute sa place en cas de non-réponse ou d'échappement aux inhibiteurs de la tyrosine kinase ou en cas de mutation BCR-ABL T315I notamment (**Labussière *et al.*, 2007**).

IV-3- Interféron alpha

L'INF- α est une cytokine qui possède une action antiproliférative sur les cellules normales et cancéreuses. L'INF « interfère » dans le système immunitaire mais son mécanisme d'action dans la LMC est complètement inconnu. Elle permet d'obtenir des réponses hématologiques dans 50 à 80 % des cas (**Guilhot *et al.*, 2014**).

IV-4- Thérapie ciblée

- Les inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK)

Les inhibiteurs de tyrosine-kinase sont indiqués dans la prise en charge de la LMC. Ils agissent sur la protéine BCR-ABL par inhibition compétitive de son activité tyrosine kinase directement sans intermédiaire (**Bardina *et al.*, 2004**). Ils reposent sur la neutralisation de l'activité tyrosine kinase de la protéine BCR-ABL par inhibition compétitive de l'ATP au niveau de son site catalytique. Ce processus aboutit à l'inhibition de l'autophosphorylation, de la prolifération et induction de l'apoptose (**Leguay, Mahon, 2005**).

Chapitre 5 : Aspects génétiques des LAM**I- Altérations géniques dans les LAM****I-1- Les mutations de type 1**

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

- N-RAS (1p13.2)

Ce gène tire son nom des cellules de neuroblastome. L'emplacement cytogénétique du gène RAS est sur le chromosome 1 à la position 13.2. Les mutations des gènes N-RAS sont somatiques. Les mutations touchent préférentiellement les codons G12, G13 et Q61, entraînent une perte de l'activité GTPasique et provoquent ainsi une activation constitutive de la protéine et des voies de signalisation en aval (RAF, MAPK, ERK). Les protéines RAS appartiennent à une famille de petites protéines membranaires qui régulent les signaux de transduction de nombreux récepteurs dont FLT3 et c-KIT (**Fournier, 2017**).

- k-RAS

Le gène K-RAS (du nom de Kristen) est situé sur le bras p du chromosome 12 à la position 12.1. Ce gène se compose de 6 exons et a 2 splice alternatif variantes à savoir K-ras 4A et K-ras4B. Le K-ras 4A isoforme comprend toutes les régions codantes dans l'ARNm transcrit, tandis que K-ras 4B exclut l'exon 6 (**Fournier, 2017**).

- FLT3 (13q12.2)

Le gène de FLT3 (Fms tyrosine kinase 3) est présent sur le chromosome 13. Il code pour un récepteur membranaire Flt3, exprimé dans les cellules leucémiques et l'ARNm est retrouvé dans la plupart des cellules de LAM (M0 à M7) (**Bories, 2001**). Deux types de mutations entraînant une activation constitutive de la protéine sont recensés :

- Une duplication en tandem de taille très variable dans le domaine juxta membranaire (exons 14-15).
- Une mutation ponctuelle (FLT3-TKD) dans le domaine tyrosine kinase (exon 20) affectant l'acide aminé D835 et I836 (**Fournier, 2017**).

- CBL (11q23.3)

La position du gène est 11q23.3, il code pour le E3 ubiquitine ligase, régulateur négatif des voies de signalisation des récepteurs à activité tyrosine kinase. Les mutations sont responsables d'un effet gain de fonction au niveau des domaines catalytiques (RING) et un domaine de liaison aux récepteurs à activité tyrosine kinase, entraînant une prolifération

cellulaire et une survie accrues, ainsi qu'une augmentation du métabolisme du glucose des cellules cancéreuses (**Fournier, 2017**).

- **JAK2 et JAK3 (Janus Kinase 2)**

Les gènes sont situés sur le chromosome 9 en position 9p24.1. Une dérégulation de la voie JAK/STAT joue un rôle dans la pathogénicité des hémopathies myéloïdes telles que les SMP et les LAM. Ils présentent deux grands types de mutations :

- Une mutation ponctuelle dans le domaine pseudo kinase JH2 à activité auto-inhibiteur au niveau d'exons 13 et 14.
- Une mutation ponctuelle ou une délétion « in frame » au niveau de l'exon 12 (**Fournier, 2017**).

I-2- Les mutations de type II

- **Aberrations chromosomiques**

Il existe de nombreuses translocations chromosomiques dans la LMA ; elles conduisent à la formation de protéines chimériques impliquées en pathologie du fait de leurs propriétés cliniques et biologiques spécifiques (**Piedfer, 2012**). Les plus fréquentes sont les suivantes :

- **Translocation CBF**

Le gène CEBPA (CCAAT / enhancer binding protein A), positionné sur le chromosome 19 (19p23), est composé d'un seul exon. Il code pour un facteur de transcription ayant un rôle dans l'arrêt du cycle cellulaire, la perte de l'auto-renouvellement, et la différenciation myéloïde dans l'hématopoïèse normale. Il existe deux types de mutations :

- Une insertion ou une délétion de 3,6 (ou plus) Pb.
- Une mutation non-sens au niveau du domaine N terminal entraînant la formation d'une protéine tronquée.

Ces deux types de mutations sont retrouvés dans 6-15% des LAM. Il existe des mutations germinales de CEBPA à l'origine d'une prédisposition de ces familles aux hémopathies (**Fournier, 2017**).

- **RUNX1(AML1)**

Le gène RUNX1 est localisé sur le chromosome 21 (21q22). Trois types d'altérations génétiques de RUNX1 sont fréquemment décrits :

- Les mutations intra géniques
- Les amplifications
- Les translocations.

Les mutations sont dites inactivatrices au niveau des exons 3 à 8 : mutation non-sens, faux sens, insertion ou délétion et par conséquent un décalage dans le cadre de lecture et un codon stop. Les délétions partielles ou complètes du gène sont rarement décrites (**Fournier, 2017**).

- **PML/RAR α**

Cette anomalie donne une protéine chimérique entre RAR α (Retinoic Acid Receptor alpha), un récepteur nucléaire aux hormones et PML (ProMyelocytic Leukemia), une protéine nucléaire avec doigt de zinc par une translocation t(15;17) caractéristique des leucémies aiguës promyélocyaires (LAM3) (**Piedfer, 2012**).

- **MLL (Mixed Lineage Leukemia)**

Le gène MLL code pour un facteur de transcription qui s'exprime dans toutes les cellules hématopoïétiques notamment dans les CSH et impliqué dans l'activation de plusieurs promoteurs notamment ceux régulant l'expression des gènes HOX. Parmi les translocations les plus fréquentes :

- t(4;11)(q21;q23) : MLL-AF4
- t(9;11)(p22;q23) : MLL-AF9
- t(11;19)(q23;p13.3) : MLL-ENL
- t(10;11)(p12;q23) : MLL-AF10
- t(6;11)(q27;q23) : MLL-AF6

- **CEBP α (CCAAT/Enhancer Binding Protein α) (19q13.11)**

Le gène CEBP α code pour un facteur de transcription qui participe pendant la différenciation de plusieurs types cellulaires comme les cellules hématopoïétiques. Il participe dans régulation négative de la différenciation, la régulation positive de la lignée granulocytaire. Enfin, il agit en synergie avec d'autres gènes impliqués dans le développement myéloïde (**Piedfer, 2012**), s'il y a des mutations dans l'un des trois domaines actifs de CEBP α (domaine leucine zipper), conduisant à la perte de fonction du facteur de transcription (**Hirsch, 2016**).

I.3. Les mutations de type III

- **ASXL1 (Additional SeX Comb-Like)**

Le gène ASXL1 localisé dans le chromosome 20 en position q11, code pour le complexe polycomb et MLL/trithorax qui est impliqué dans la modification de la chromatine. La mutation la plus fréquemment retrouvée dans l'exon 12, par conséquent formation d'une protéine tronquée de son domaine PHD (plant homeodomain). Cette mutation est retrouvée chez 5% à 25% des LAM (**Gay-Guerinet, 2012**).

- **DNMT3A (DNA Methyltransferases-3A) (2p23.3)**

Le gène DNMT3A (DNA-méthyltransferase 3A), localisé sur le chromosome 2 en position p23, code pour une enzyme de méthylation de l'ADN en catalysant le transfert d'un groupement méthyl en position 5' d'une cytosine d'un dinucléotide CpG. Les mutations DNMT3A représentent 14 à 20% des LAM de novo, et principalement dans les LAM de cytogénétique intermédiaire (**Gay-Guerinet, 2012**).

- **TET2 (Tet oncogene family member 2) (4q24)**

Le gène TET2, localisé sur le chromosome 4 en position q24, code pour une enzyme catalysant, par l' α -cétoglutarate, l'hydroxy-méthylation d'une cytosine en position 5', qui est l'étape nécessaire à la déméthylation de l'ADN. Les mutations correspondent sont très hétérogènes : non-sens et faux sens qui sont soit décalant ou d'épissage. Chez 20% des LAM secondaires et 12% des LAM de novo (**Gay-Guerinet, 2012**).

- **IDH1/IDH2 (Isocitrate Déshydrogénase) (2q34)**

➤ **IDH1**

IDH1 (isocitrate déshydrogénase 1), localisé sur le chromosome 2 en position q34, code pour une protéine cytosolique catalysant la décarboxylation oxydative de l'isocitrate en α -cétoglutarate. Ces mutations sont hétérozygotes touchant l'arginine 132 chez 5 à 10% des LAM avec une fréquence plus importante chez les LAM de cytogénétique intermédiaire et les LAM à caryotype normal. Les mutations IDH1 sont liées aux mutations NPM1 (**Gay-Guerinet, 2012**).

➤ **IDH2**

IDH2 (isocitrate déshydrogénase 2), localisé sur le chromosome 15 en position q26, code pour une protéine mitochondriale homologue d'IDH1. La mutation hétérozygote la plus fréquente est sur l'arginine 172 chez 3% des LAM de novo mais la plus fréquente est sur l'arginine 140 (**Gay-Guerinet, 2012**).

- **NPM1 (Nucléophosmine) (5q35.1)**

Le gène NPM1 (nucleophosmine 1), se localise dans le chromosome 5 en position q35, code pour une protéine chaperonne nucléolaire qui joue principalement un rôle dans le maintien du centrosome au cours des mitoses et faire stabiliser les gènes suppresseur de tumeurs. La mutation et une insertion de 4 paires de bases, responsable d'une localisation cytoplasmique aberrante de cette protéine nucléaire par création d'un motif d'export nucléaire et perte de résidus tryptophanes. Chez 30% des LAM de l'adulte et 50% des LAM à caryotype normal (**Gay-Guerinet, 2012**).

- **TP53**

Le gène TP53 est un gène suppresseur de tumeurs localisé en 17p13 et code pour la protéine P53 qui est un facteur de transcription régulant le cycle cellulaire, l'apoptose et les systèmes de réparation de l'ADN. La fréquence des mutations dans les LAM est d'environ 10%.

Les anomalies de ce gène causant les LAM peuvent être :

- Des mutations ponctuelles.
- Des délétions impliquant l'exon 4-8 (**Gay-Guerinet, 2012**).

- **Mutations d'EZH2 et des complexes polycombs (7q36.1)**

Au niveau du gène *EZH2* (enhancer of zeste homolog 2), localisé dans le chromosome 7 en position q35-q36, code pour la sous-unité catalytique du complexe polycomb répresseur 2, qui fait la triméthylation de l'histone H3 sur la lysine 27 (H3K27) impliquée dans la régulation épigénétique des gènes du cycle cellulaire (**Gay-Guerinet, 2012**).

I-4- L'expression des miARNs (ou micro ARN)

Les miARN (ou microARN) jouent un rôle majeur dans les processus biologiques, car ils sont impliqués dans l'hématopoïèse. Les microARN reflètent en partie les mécanismes de transformation propres à chaque type de leucémie notamment la LAM. **Mi et al.** (2007), ont réussi à distinguer une leucémie aiguë lymphoblastique d'une leucémie aiguë myéloblastique uniquement sur le profil d'expression des miARN, par comparaison aux LAL. Parmi les micro-ARNs différenciellement exprimés, mir-128b était surexprimé dans les LAL, alors que mir-223 l'était dans les LAM. En effet, l'expression des miARN est corrélée à la présence de plusieurs anomalies récurrentes dans les LAM. La mutation FLT3-ITD a été associée avec l'augmentation de miR-155, des micro-ARNs ont été identifiés comme mir-15a (ayant pour cible BCL2), mir-29 et mir-196 (ayant pour cible HOXA7, HOXA8, HOXB8, HOXD8), les mutations dans NPM1 sont associées à l'augmentation de miR-10a, miR-10b et miR196a et tous résident dans la même partie du génome que les gènes HOX, eux aussi surexprimés dans les LAM avec NPM1 muté (**Piedfer, 2012 ; Pedrono, 2014**).

II- Cytogénétique des LAM

Le caryotypage est un test essentiel lors du diagnostic des patients atteints de LAM, car les anomalies cytogénétiques détectées sont l'un des facteurs pronostiques indépendants les plus puissants de cette maladie. Il fait partie de la sélection du traitement dans les essais cliniques. Tous les chromosomes peuvent être réarrangés et certaines anomalies chromosomiques (translocation, délétion, inversion, hyperplasie) se répètent (**Luquet, 2015**).

L'hyperplasie (> 50 chromosomes) est une anomalie cytogénétique rare dans le myélome, et c'est une anomalie rare dans la LAM et le SMD. L'hyperdiploïdie définit une population subcellulaire défavorable dans la LAM de novo (**Iyer et al., 2004**).

II-1- Les anomalies génétique récurrentes

- **La translocation t(15;17)** est une maladie AML3 classée FAB, localisée en 15q24 et le gène RARA (17q21), représente environ 10 % des AML, et induit la fusion des gènes PML/RAR. D'un point de vue cytologique, 92 % des LAM3 présentent une transition classique t(15;17) (q24;q21), qui peut être de novo ou secondaire à des tumeurs, en particulier un cancer du sein traité aux anthracyclines.
- **La translocation de t(8;21)(q22;q22)** représente 5 % des LAM et 10 % des LAM2 chez l'adulte et 6 à 19 % chez l'enfant. Cette translocation conduit à la formation d'un gène de fusion entre les gènes RUNX1 (AML1, CBFA) situés en 21q22 et les gènes RUNX1T1 (ETO) situés en 8q22.
- **LAM avec t(16;16)(p13;q22) ou inv(16)(p13q22)** représentent 5 à 10 % des LAM, spécifique des LAM4 à éosinophiles. Le résultat est la juxtaposition des deux gènes CBFβ/MYH11.
- **LAM t(9;11)(p22;q23)** est une anomalie du gène de la MML que l'on trouve à tout âge, mais qui est plus fréquente dans la LAM pédiatrique (9 à 12 % contre 2 % chez l'adulte), spécifiques aux sous-types M4 et M5 (**Luquet et al., 2016**).

II-2- Les anomalies chromosomiques de nombre

- Les délétions

• Monosomie 7 ou délétion 7q

La monosomie totale du chromosome 7 est la deuxième anomalie quantitative la plus fréquente dans la LAM. On la retrouve dans le syndrome myélodysplasique, le syndrome myélodysplasique et la leucémie aiguë secondaire. La perte du chromosome entier peut précéder une partie du monomère (délétion 7q) (**El hadri, 2018**).

• Monosomie 5 ou délétion au 5 q

La monosomie partielle du chromosome 5 (del 5q) implique des points de cassure variables de q13 à q34. Cette monosomie partielle du chromosome 5 est fréquente dans les LAM. En revanche, la monosomie totale du chromosome 5 n'est pas si fréquente et est généralement associée à des caryotypes complexes, ce qui lui confère un mauvais pronostic (**El Hadri, 2018**).

- Les trisomies

- **La trisomie 8**

C'est l'anomalie de nombre la plus fréquente de la lignée myéloïde. Les LA avec trisomie 8 sont souvent précédées d'un syndrome myélodysplasique et ne sont pas spécifiques d'un type FAB donné (**El Hadri, 2018**).

- **Autres trisomies**

La trisomie 21 est la deuxième trisomie la plus courante et a été observée dans 2,5 % des anomalies chromosomiques de la leucémie aiguë myéloïde (LAM). Les autres trisomies telles que les trisomies 4, 9, 11, 13, 19, 22 et autres sont très rares (**El Hadri, 2018**).

Chapitre 6 : Aspects génétiques des LMC

I- Biologie moléculaire du chromosome Philadelphie

La leucémie myéloïde chronique est une transformation maligne des cellules souches hématopoïétiques, caractérisée biologiquement par la présence de l'oncogène de fusion BCR-ABL dans toutes les cellules leucémiques. À la suite de cette fusion, le chromosome 22 ainsi obtenu sera plus court et appelé Chromosome de Philadelphie (PhD). Le chromosome de Ph a été identifié pour la première fois en 1960 chez un patient atteint de la LMC (**Rousseau, 2018**).

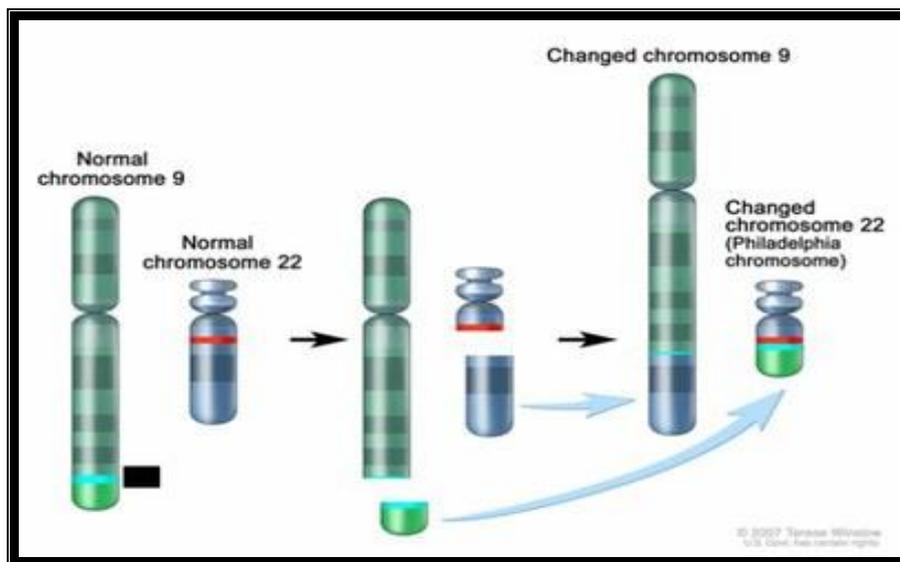


Figure 3 : Translocation du chromosome 9 et du chromosome 22 t(9;22) : formation du chromosome Philadelphie (**Rousseau, 2018**).

I-1- Gène ABL

Le gène ABL humain est un oncogène, qui est homologue au gène v-Abl identifié dans le virus de la leucémie d'Abelson. Il se compose de 11 exons et comprend un site alternatif de démarrage de la transcription entre les exons 1a et 1b (**Mohammedi, 2015**).

I-2- Gène BCR

Il a été découvert en clonant la région appelée M-BCR (Main Breakpoint Cluster Region) où se trouvent la majorité des points d'arrêt. Il s'étend sur 135 kb et comprend 23 exons, est transcrit en ARNm. Il y a trois régions qui se cassent dans le gène Bcr : major (M-bcr), minor (m-bcr) et micro (μ -bcr) (**Mohammedi, 2015**).

- **Réarrangement BCR/ABL**

La translocation t(9,22) entraîne un réarrangement génique, dans lequel le 50e segment du gène Bcr, situé sur le chromosome 22 avec le 30e segment de l'oncogène c-abl initial positionné sur le chromosome 9. La fusion se produit entre l'exon 13 (b2) ou exon 14 (b3) de BCR et exon 2 (a2) d'ABL respectivement, conduisant à la jonction b2a2 ou b3a2.

Ce gène hybride bcr-abl est transcrit à 85 kb codant pour la protéine chimère 210 kDa p210 (appelée aussi protéine onco p210 ou p210BCR-ABL) (Touaoussa, 2016).

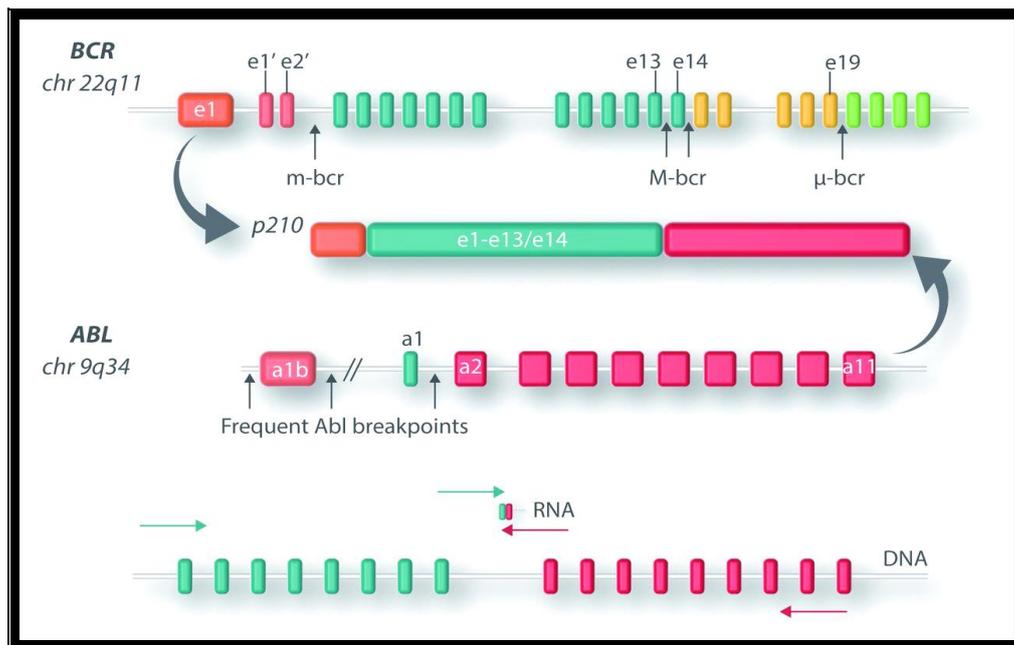


Figure 4 : BCR-ABL rearrangement structure (Radich, 2018)

II- L'hybridation par fluorescence *in situ* (FISH)

Il existe de nombreux changements chromosomiques subtils qui ne peuvent pas être détectés par des techniques cytogénétiques. Cependant, la technique FISH est spécifique et sensible pour déterminer la translocation bcr/abl dans les échantillons sanguins de patients atteints de LMC et a le potentiel d'analyser rapidement un grand nombre de cellules, même dans des échantillons avec un nombre insuffisant de métaphases (Bonnet-Dupeyron *et al.*, 2004).

La technique FISH est efficace pour détecter les fusions BCR-ABL qui n'apparaissent pas sur le caryotype ou en cas d'échec du caryotype. La FISH est étroitement liée à la

cytogénétique dans la plupart des cas, tant pour le diagnostic que pour le suivi des patients traités (**Touaoussa *et al.*, 2016**).



Deuxième Partie

Matériels et méthodes





Matériel et méthodes



Matériel et méthodes

I- Lieu et durée de l'étude

Notre stage pratique s'est déroulé sur une période d'un mois et demi (du 02/05/2021 jusqu'au 08/06/2021), entre deux établissements :

- CHU Constantine (services d'hématologie et de pédiatrie) pour les prélèvements sanguins et l'étude rétrospective
- Le laboratoire de cytogénétique du Centre de Recherche en Biotechnologies (CRBt), pour la réalisation du caryotype standard des nouveaux malades (2021).

II- Objectifs

Notre travail a pour principaux objectifs :

- La réalisation d'un caryotype en appliquant les techniques du R-banding à l'analyse des LAM et des LMC, en réalisant des cultures cellulaires à partir du sang de patients leucémiques.
- Etude des dossiers des malades admis entre 20017 à 2020 diagnostiqués par Leucémie Myéloïde Chronique (LMC), et des malades admis en 2020 diagnostiqués par Leucémie Aigüe Myéloïde (LAM).

III- Patients

Les personnes incluses dans notre étude sont quatre patients atteints de LAM et LMC, deux adultes admis à l'hôpital CHUC au niveau du service d'hématologie et deux enfants au niveau du service de pédiatrie. Notre choix a porté sur les malades non traités.

Patient 1 : admis le 22 /02/2021. Une petite fille de 2 ans d'Ain M' Lila. Issue d'un mariage non consanguin. Diagnostiquée pour la trisomie 21 et leucémie LAM. Avec des syndromes hémorragiques, ecchymose et pétéchies diffus sur tous le corps, et syndrome tumoral, hépatomégalie avec splénomégalie.

Patient 2 : admis le 01/04/2021. Une petite fille de 13 ans de Constantine. Issue d'un mariage non consanguin. Diagnostiquée pour la leucémie LAM. Sans syndromes tumoral ou hémorragique.

Patient 3 : admis le 16/01/2021. Une fille âgée de 23 ans de Mila. Issue d'un mariage non consanguin. La dernière d'une fratrie de 10 personnes UBP, célibataire, étudiante en biologie. Diagnostiquée pour une leucémie LAM. Avec des syndromes hémorragiques, pétéchies au niveau des MS et MI et bulles endos-buccales.

Patient 4 : admis le 25/05/2021. Un homme de 76 ans de Jijel. Issu d'un mariage non consanguin. Diagnostiqué pour une leucémie LMC. Avec syndrome anémique : PCM et asthénie, syndrome infectieux : toux sèche et douleur osseuse.

Matériel et méthodes

IV- Matériel biologique

Nous avons réalisé des prélèvements sanguins recueillis dans des conditions stériles par ponction veineuse, dans un tube hépariné contenant du lithium de 4 ml. Les prélèvements ont été acheminés le jour même au CRBt pour la culture cellulaire.

V- Méthodologie

V-1- Collecte des données à partir des dossiers

Nous avons collectés des données cliniques de 30 patients admis l'année 2020, atteints de Leucémie Aigüe Myéloïde (LAM) au niveau du service d'hématologie au CHUC. En plus de 22 patients admis entre 2018 et 2020, atteints de la Leucémie Myéloïde Chronique (LMC) dans le même service. Cette étude avait pour objectif de connaître l'incidence de cette pathologie dans la région de Constantine ainsi que les wilayas limitrophes à travers les données épidémiologiques, biologiques et cliniques. Les différents paramètres collectés figurent sur la fiche de collecte de données (Annexe 3).

V-2- Matériel et réactifs

Le matériel et les réactifs utilisés sont mentionnés dans la liste de l'annexe 4.

V-3- Caryotype

- **Mise en culture**

- Étiqueter les tubes du milieu de culture avec le nom et le numéro d'organisation.
- Déposer 13 gouttes de sang dans le tube contenant le milieu de culture Pb max
- Bien fermer les tubes et les déposer horizontalement sur un plateau et incubé dans une étuve à 37°C pour 48h ou 72h

- **Blocage en métaphase**

- Ajouter 100µl de colchicine à la culture (104g\m) (**annexe 4**), et incubé pendant 2h.

- **Choc hypotonique**

- Après 2h d'incubation, centrifuger, verser le surnageant et ajouter 1ml de KCl, vortexer puis compléter à 8ml, homogénéiser.
- Incuber pendant 35min.

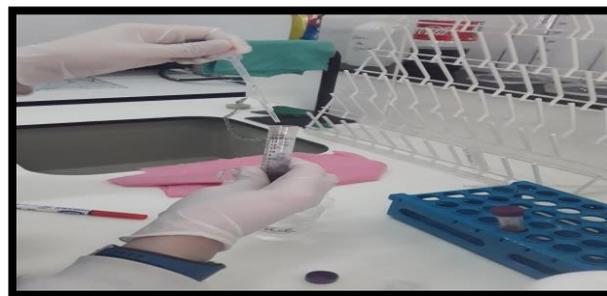


Figure 5 : Choc hypotonique par le KCl

Matériel et méthodes

- **Préfixation et fixation**

- Après incubation, rajouter directement 2ml de carnoy
- Centrifuger, verser le surnageant et ajouter le carnoy jusqu'à 8ml
- Laisser à température ambiante durant 20min.
- Centrifuger, verser le surnageant, et rajouter le carnoy.
- Répéter la fixation plusieurs fois.

- **Étalement**

- Après centrifugation et changement du carnoy, étaler à 10cm le culot mélangé au surnageant sur des lames humides.

- **Dénaturation et coloration (R-banding)**

Après un vieillissement de 24h dans l'étuve :

- Réhydrater les lames dans de l'eau distillée pendant 5min.
- Mettre les lames dans la solution EARLE pendant 52 minutes.
- Rincer après sortie des lames.

- **Coloration**

- Plonger les lames dans la solution de Giemsa pendant 20 minutes.

- **Observation des lames**

L'observation s'est faite sur une station cytogénétique de marque Leica DM 6000B

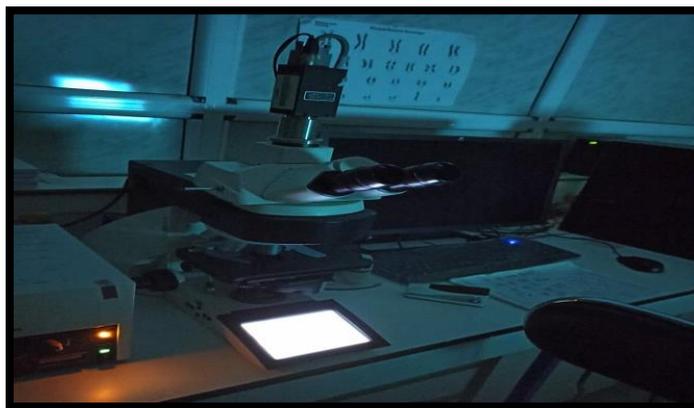


Figure 6: station cytogénétique

V-4- Hybridation *In Situ* par Fluorescence

- Après étalement, faire vieillir la lame dans l'étuve pendant 24h.
- Prétraitement de la lame :
 - Plonger la lame dans le ssc 2X pendant 2 minutes
 - Plonger la lame dans trois bains d'alcool : 70%, 80% et 100%
- Laisser la lame sécher à l'aire libre.

Matériel et méthodes

- Déposer 5µl de sonde et recouvrir avec une lamelle.
- Dénaturer à 75°C pendant 2 minutes.
- Incuber toute une nuit à 37°C.
- Enlever la lamelle et plonger la lame pendant 2 minutes dans le SSC 0,4X préalablement chauffé à 72°C
- Plonger la lame une autre fois dans le SSC 2X pendant 5 minutes.
- Déposer 20µl de DAPI
- Laisser au réfrigérateur pendant 1 heure.
- Observer.



Résultats et discussion



Résultats et discussion

I- Etude rétrospective

Il s'agit d'une étude au laboratoire d'hématologie du CHU Benbadis Constantine. Cette étude concerne tous les patients atteints de leucémie aigue myéloïde pour l'année 2020 (janvier 2020 à décembre 2020) avec les patients atteints de leucémie myéloïde chronique pour les quatre dernières années (janvier 2017 à décembre 2020), en prenant en considération les données épidémiologiques, biologiques et cliniques (**Annexes 1**).

La prospection épidémiologique a permis le recrutement de 30 cas pour les LAM et 24 cas pour les LMC. Il est à signaler que cette période de Covid-19, la durée limitée de ce travail de recherche et le manque d'informations dans les dossiers des patients ont grandement limité nos investigations pour procéder à une enquête épidémiologique.

I-1- Etudes épidémiologie

I-1-1- Réparation selon le sexe

Les leucémies myéloïdes aigues et chroniques sont plus fréquentes chez le sexe masculin :

- 77% de sexe masculin avec 23% de sexe féminin avec un sex-ratio (H/F) de 3.2 pour les patients leucémiques LAM. Cette prédominance masculine concorde avec plusieurs études multicentriques effectuées à l'échelle nationale par **Boudjellouli et al. (2018)** qui ont rapporté un sex-ratio de 3 en faveur des hommes avec 75% des cas de sexe masculin à l'échelle mondiale (Larry.2016).

- 63% de sexe masculin avec 37% de sexe féminin avec un sex-ratio (H/F) de 1.7 pour les cas leucémiques (LMC). Ces résultats sont similaires aux résultats de Messaoudi et Chemegni **Messaoudi (2015)** et **Chemegni (2018)** qui ont rapporté, dans une étude similaire menée sur leur population un sex-ratio de 1,6.

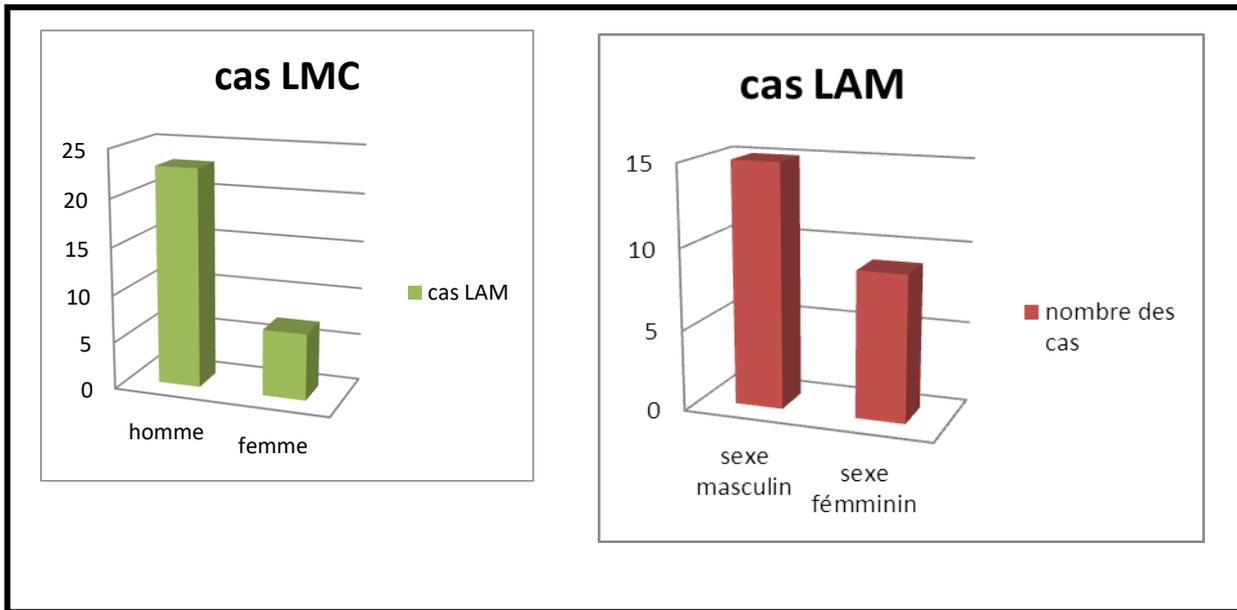


Figure 7 : Répartition selon le sexe (LAM et LMC)

- Dans la population LAM étudiée, l'âge varie entre 19 et 75 ans avec un âge moyen de 48.7 ans et le pic de fréquence est situé dans la tranche d'âge 61 à 70 ans. En revanche, cet âge moyen est très inférieur à celui retrouvé dans les séries de Schnegg-Kaufmann et Smith et ses équipes de recherche (Smith *et al.*, 2011 ; Schiegg-Kaufmann *et al.*, 2018). Selon l'OMS, l'incidence des LAM augmente avec un âge moyen de survenue autour de 60 ans (OMS, 2017), l'âge médian de notre population y est inférieur à cause d'une population Algérienne relativement jeune.

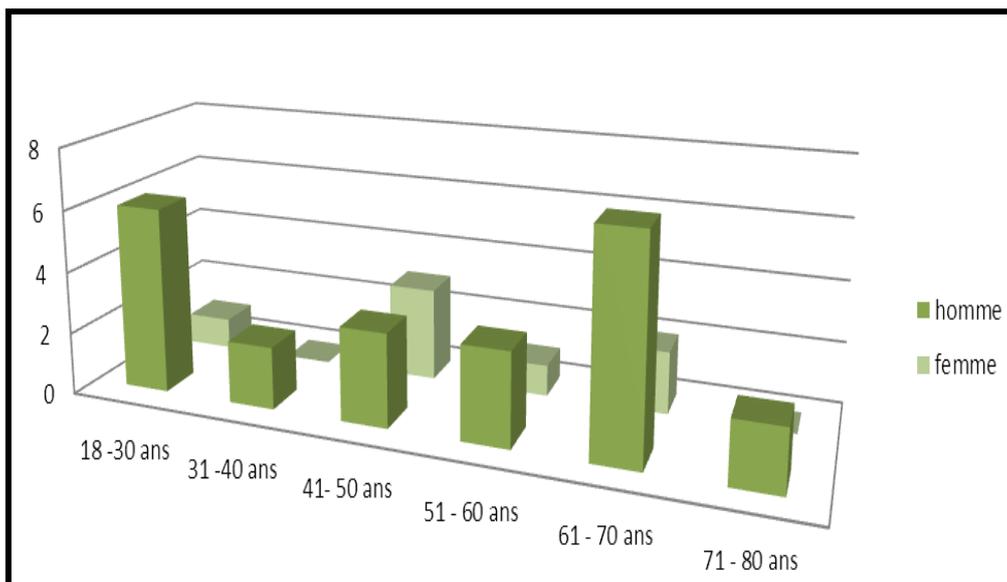


Figure 8 : Répartition des patients atteints de la LAM en fonction de l'âge

Résultats et discussion

- Dans la population LMC étudiée, l'âge se situe entre 18 à 70 ans avec un âge moyen de 42 ans et une prédominance des cas plus jeunes à l'âge de 41 à 50 ans. Nos résultats sont similaires à ceux de **Messaoudi (2015)** et proches des résultats de la série d'étude de Silué et Chemegni. (**Chemegni et al., 2018 ; Silué et al., 2019**).

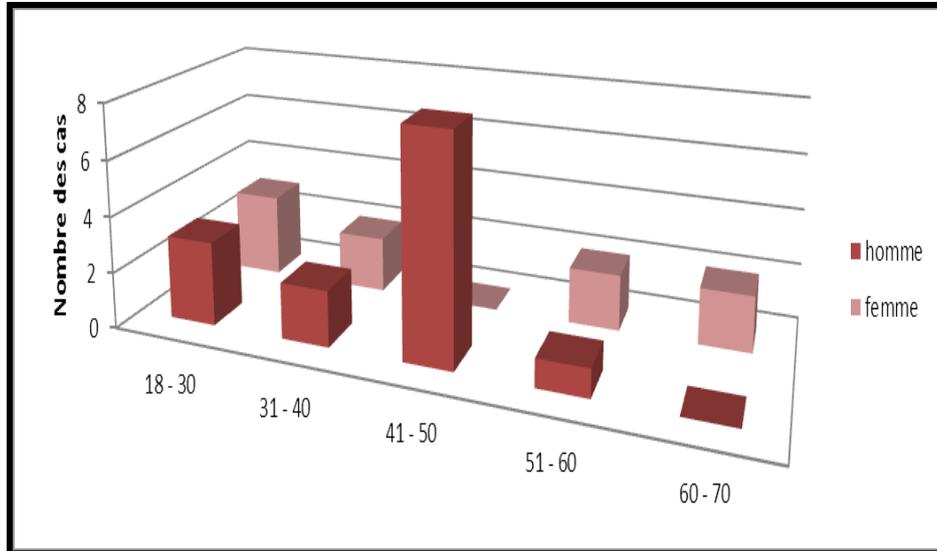


Figure 9 : Répartition des patients atteints de LMC en fonction de l'âge

I-1-2- Répartition selon l'origine géographique pour les LAM

Rappelons qu'au CHU Constantine, sont orientés les patients atteints des leucémies des wilayas de l'Est et du Sud-Est Algérien.

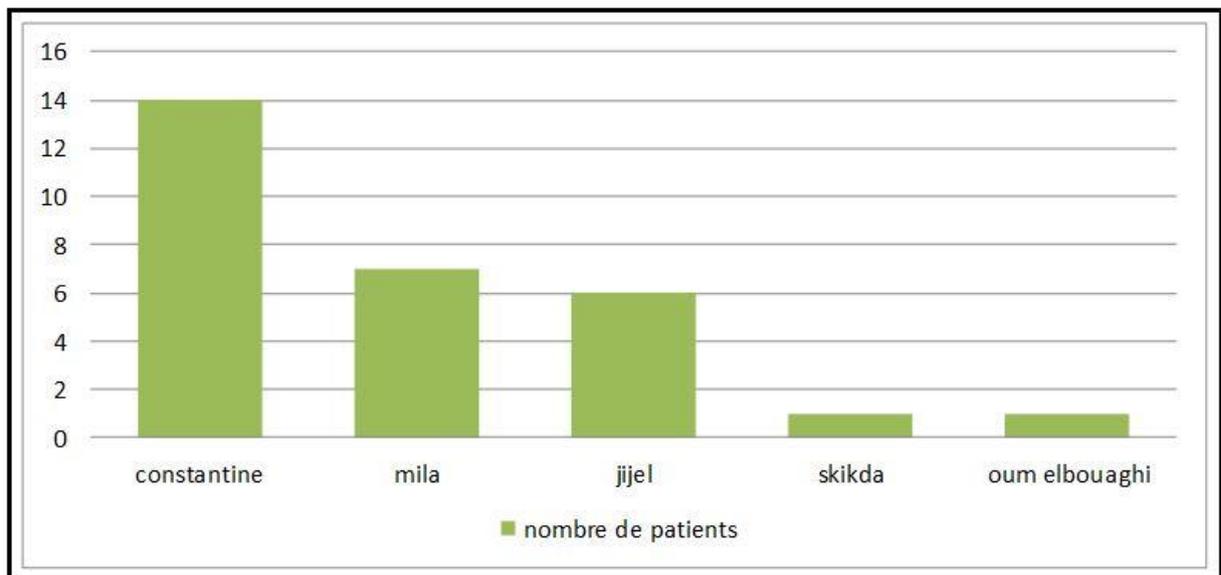


Figure 10 : Répartition des patients selon leur origine géographique pour les LAM

Résultats et discussion

La wilaya la plus touchée est Constantine avec 14 cas, suivie par la wilaya de Mila avec 7 cas puis Jijel avec 6 cas et un seul cas pour Skikda et Oum El Bouaghi.

Compte tenu que la majorité des patients résident dans l'Est algérien avec prédominance au centre de la wilaya de Constantine par rapport aux autres daïras. Ceci s'explique probablement par une grande densité de la population au centre de la wilaya.

Rappelons que nous avons été confrontés à un manque d'informations sur les régions géographiques des patients LMC sélectionnés.

I-2- Etude biologique

- **FNS** : dans les études biologiques, la portée de la recherche a été à travers les premières analyses FNS effectuées par les patients, en se concentrant sur les trois axes principaux suivants :

- **Taux des globules blancs (GB)**

On observe que les cas LAM analysés : 56 % cas présentent une hyperleucocytose, 20% une pancytopenie. Dans la série d'étude de Jmili et son équipe (**Jmili et al., 2004**), il y avait fréquemment une forme hyperleucocytaire (64,5 % des cas), et un pourcentage de pancytopenies minime. Nos résultats y sont similaires et aussi avec **Bosly (2000)** et **Sintha et Muthuraman (2016)**.

Pour les LMC étudiés : 87% ont une hyperleucocytose, 8.3% hypoleucocytose et 4.1% dans le taux normal. Cette augmentation hautement significative du taux de globules blancs chez les malades par rapport aux témoins est similaire à plusieurs études comme celle de **Benaouda (2010)**.

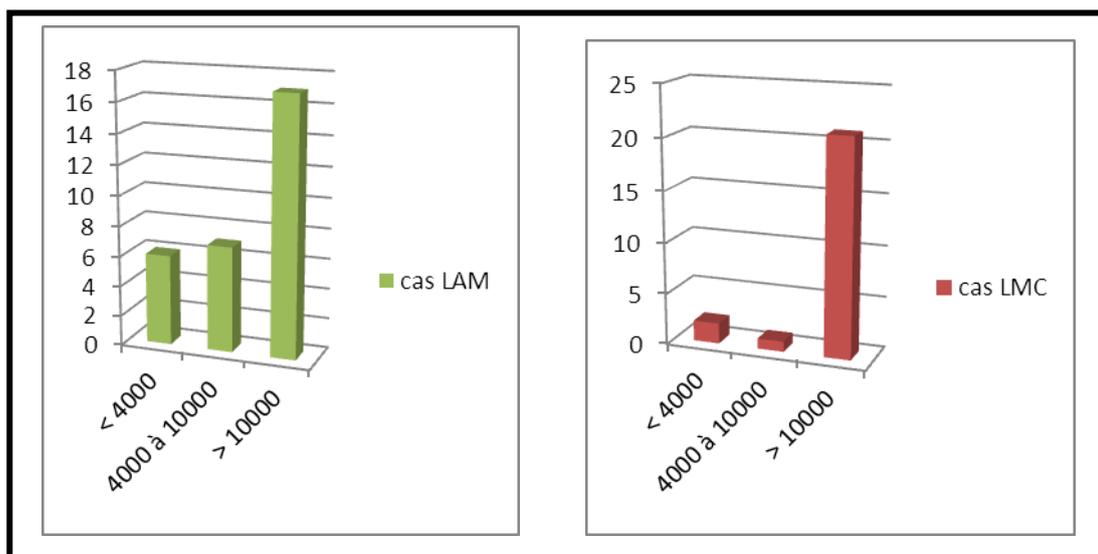


Figure 11 : Répartition des patients selon le taux des globules blancs

Résultats et discussion

- Répartition selon la concentration de l'hémoglobine (Hb)

La plus part des cas étaient anémiques sévères, les LAM (22 hommes / 6 femmes) et (12 hommes / 7 femmes) pour les LMC. Un cas LAM et deux cas LMC (1 homme et 1 femme) ont une concentration d'hémoglobine appropriée. Dans notre série, tous avaient une hémoglobine inférieure ou égale à 10 g/dl ; un résultat proche de celui de **Gómez-Almaguer et al (2017)**, et (**Elmaan (2017)**).

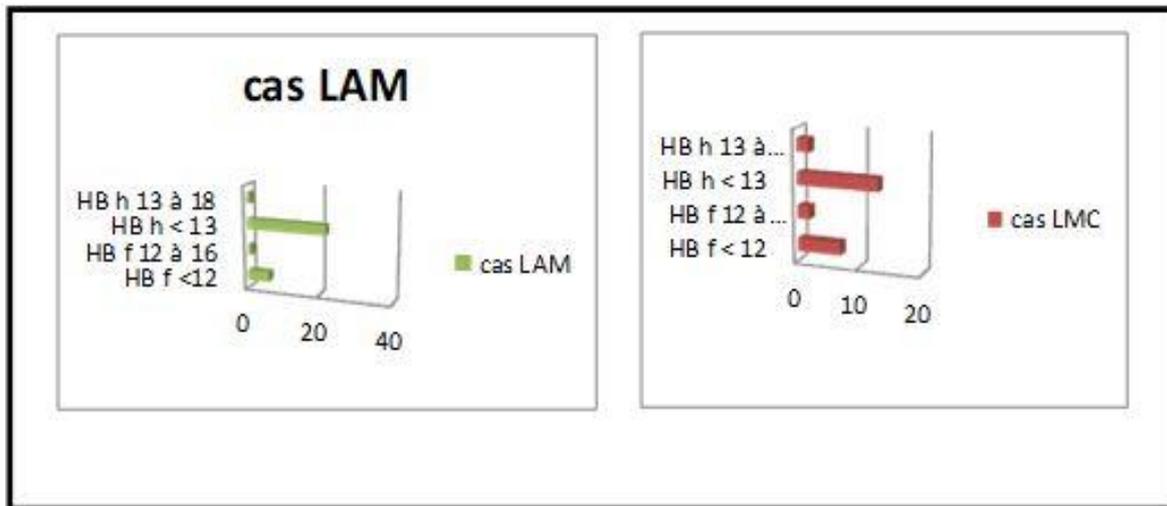


Figure 12 : Répartition des patients selon le sexe et leur concentration d'hémoglobine

- Taux des plaquettes

La majorité des cas LAM de notre étude manifestent une thrombopénie (73.3%), 23.3% cas avec un taux plaquettaire normal cytopénie (150000 à 400000), et 3.3% avec leucopénie. Nos résultats sont similaires à ceux de **Jmili et al. (2004)** et **Sintha (2016)**.

Par contre, chez les LMC, les majeurs cas sont des thrombocytoses (41.6 %), 37.5% ont une thrombopénie et 20.8 % cas dans les normes. Selon ces résultats, on remarque une augmentation significative du taux de plaquettes chez les malades par rapport aux témoins de notre population, ce qui est en accord avec les données de **Mbanga et al (2021)**.

Résultats et discussion

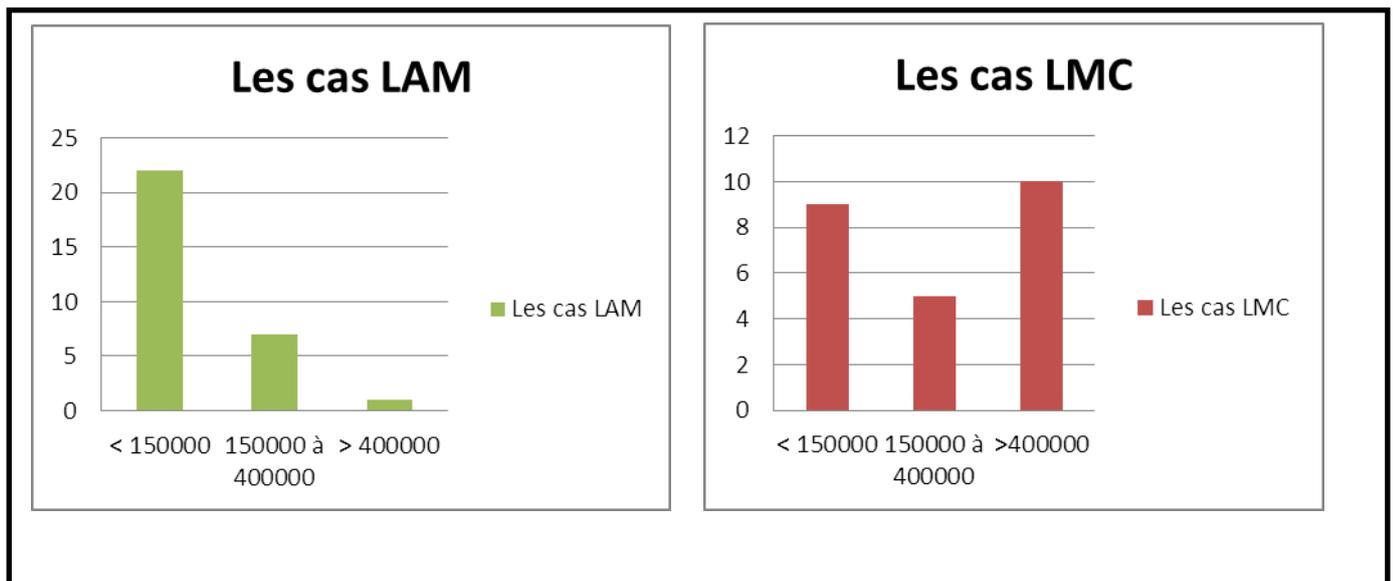


Figure 13 : Répartition des patients LAM et LMC selon leur taux plaquettaire

I-3- Etude clinique

I-3-1- Antécédents

- 63.3% des patients LAM et 66.6% patients LMC n'ont aucun antécédent personnel ou familial.
- 26.6% patients LAM et 16.6% LMC sont des diabétiques.
- 10% patients LAM et 8.3 patients LMC sont l'hypertendus.

Nos résultats montrent que la plupart des patients LAM et LMC sont sans antécédents, alors que l'étude de Rousselot et son équipe de recherche, montre que la majorité (85 %) présente des antécédents médicaux chez les patients LMC (**Rousselot et al, 2017**). Les diabétiques développent 20 à 30% de leucémies de plus que la population générale avec des pronostics de survie moins bons que chez les malades non diabétiques (**Philippe Froguel, 2014**). Nos résultats présentent les mêmes pourcentages. Selon Toshiaki, les diabétiques de type 2 ont un risque de développer des cancers du sang, comme les leucémies aiguës myéloïdes car il accélère le vieillissement des cellules hématopoïétiques (**cailleau A, 2013**). Nos statistiques se rapprochent avec un pourcentage d'hypertendus 9%. En effet, l'HTAP a été décrite parmi de petits effectifs de patients présentant des lymphomes et des leucémies aiguës (Costello, 2009). En plus, 15% des patients avaient une leucémie myéloïde chronique (LMC) avaient des problèmes cardiaques telle l'hypertension (**Emadi A et york law J, 2020**).

Résultats et discussion

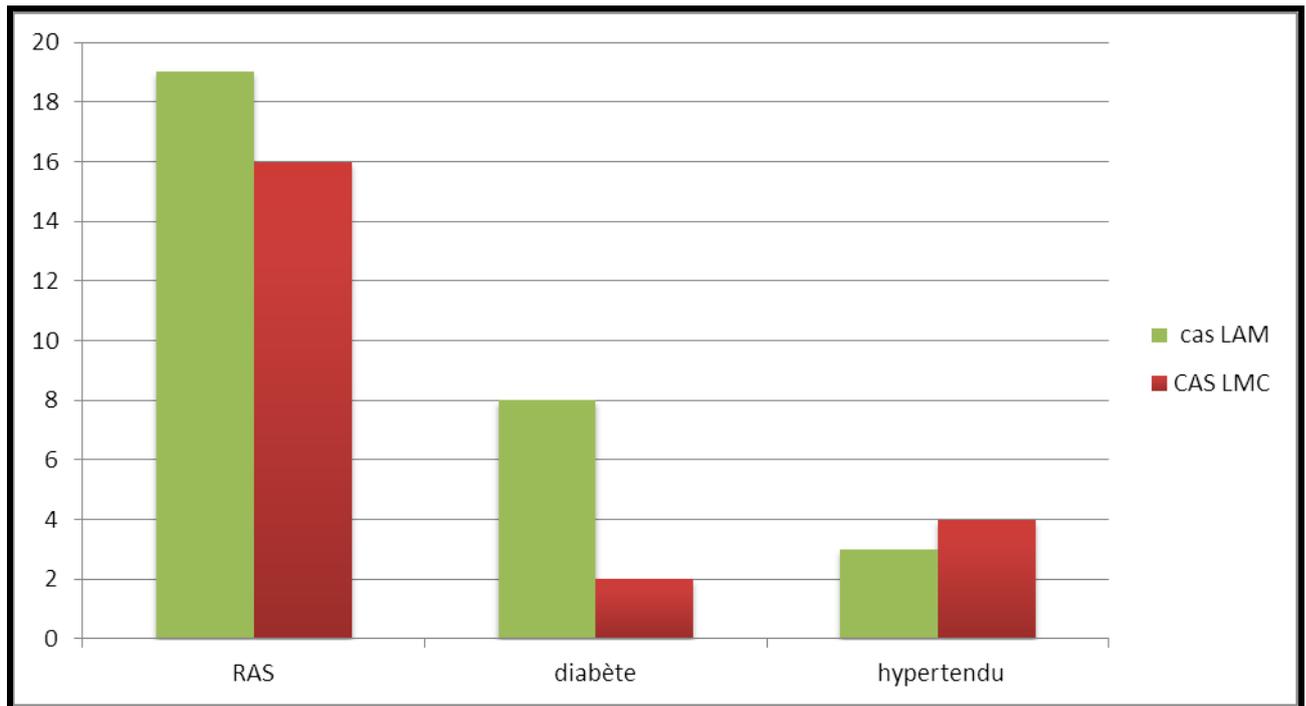


Figure 14 : Répartition des antécédent des cas LAM et LMC

I-3-2- Habitudes toxiques

La plus part des cas LAM et LMC n'ont pas des habitudes toxiques (76% LAM/75% LMC). 20% cas LAM et LMC sont des fumeurs, 4%-5% cas LAM et LMC sont fumeurs et alcooliques.

L'étude de Nisse, portant sur 204 SMD et 204 témoins, montre un lien significatif entre la leucémie et le tabagisme, sans relation dose-effet. Sur 110 LMC et 440 témoins, il n'y avait pas de lien avec le tabagisme (Nisse, 2004). La plus part des cas LAM et LMC n'ont pas des habitudes toxiques (76%). Selon Dr salle et son équipe de recherche, il n'existe pas de différence statistiquement significative entre les cas et les témoins en ce qui concerne les motifs d'hospitalisation, le tabagisme ou l'alcool (Salle, 2017) ; chose qui est similaire à nos résultats épidémiologiques où parmi les patients de LAM et LMC, 4%-5% des cas seulement sont tabagiques et alcooliques.

Résultats et discussion

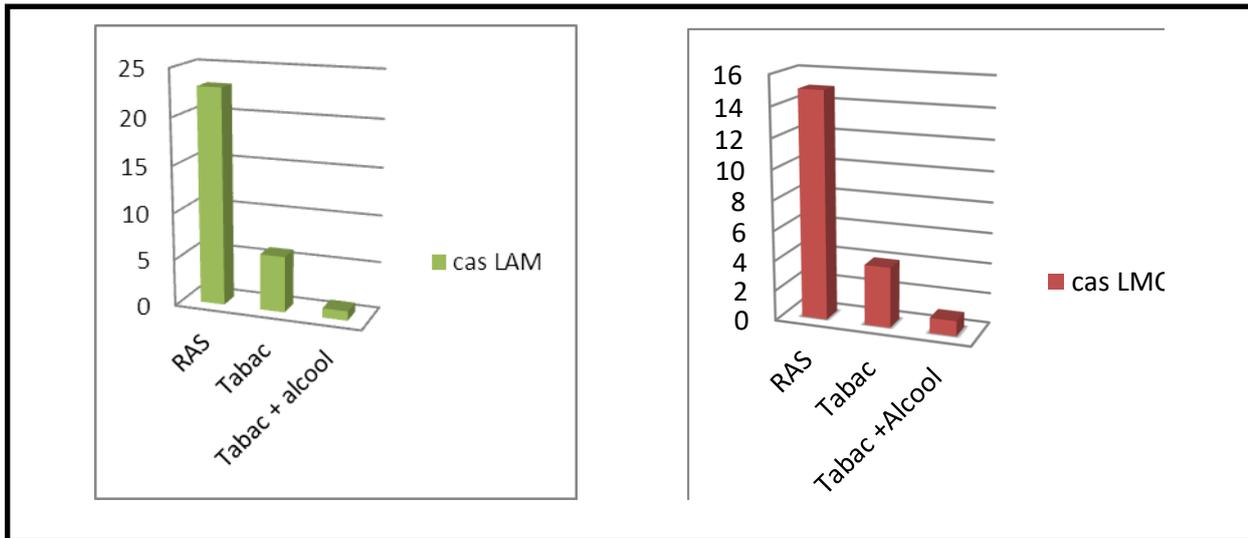


Figure 15 : Répartition des patients selon leurs habitudes toxiques

I.-3.3. Les syndromes

Dans cette étude nous avons étudié les quatre types de syndromes: Syndrome anémique, Syndrome tumoral, Syndrome hémorragique, Syndrome infectieux.

- **Leucémies Aiguës Myéloïdes (LAM)**

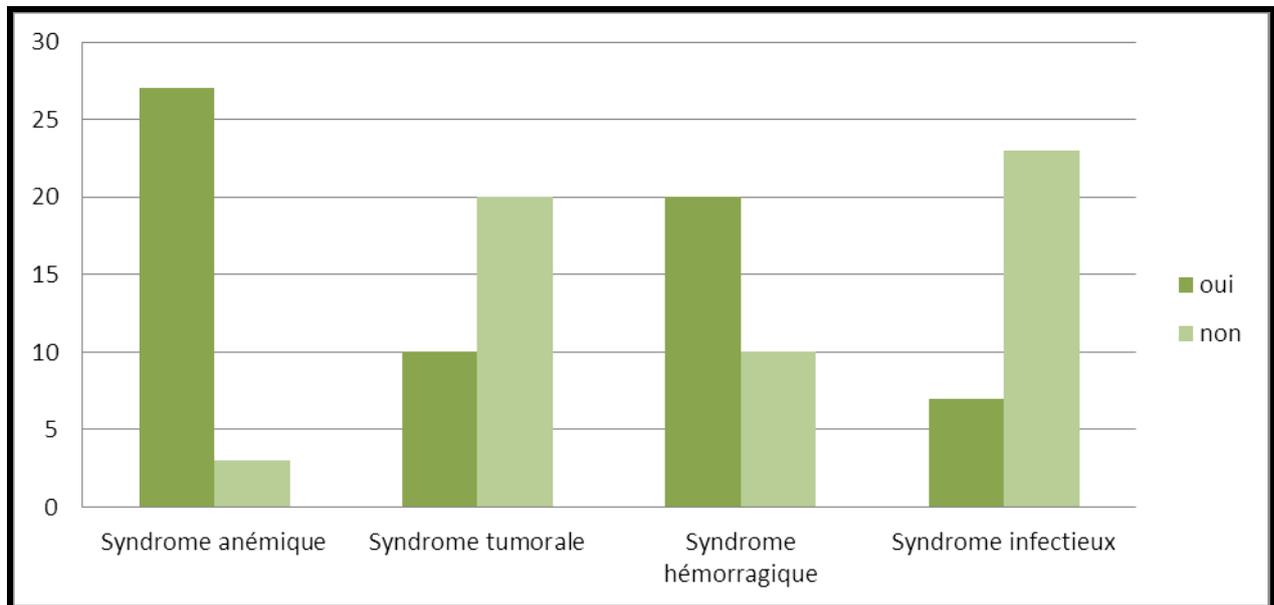


Figure 16 : Répartition des syndromes dans les LAM

- **Leucémies Myéloïdes Chroniques (LMC)**

- Les syndromes anémiques retrouvés chez 90% des cas sont : pâleur cutanée muqueuse (PCM) et l'asthénie

- La propagation des syndromes tumoraux a touché 33% des cas parmi les 30 patients.

Résultats et discussion

- Le syndrome hémorragique se manifeste chez 67% des cas.
- 77% des cas ne souffrent pas de syndrome infectieux.

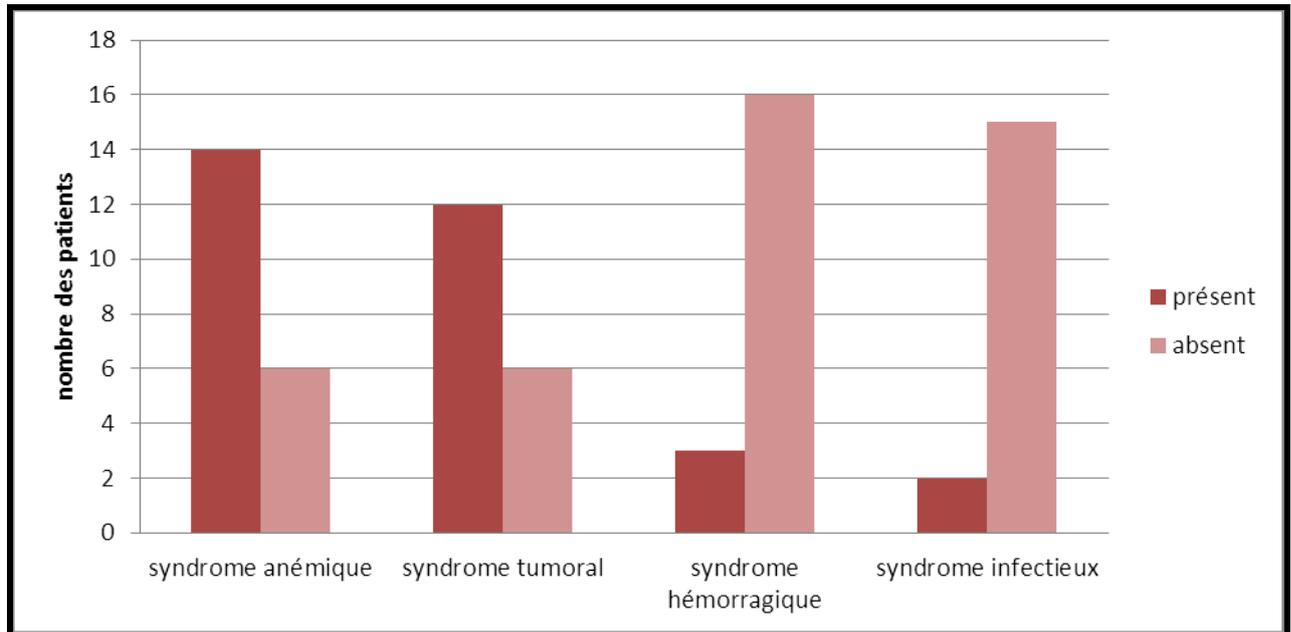


Figure 17 : Répartition des syndromes dans les LMC

Dans notre population, 70% des cas ont un syndrome anémique et 67% des cas (parmi 18 patients) manifestent un syndrome tumoral. Les syndromes hémorragique et infectieux sont les moins fréquents, (parmi 19 patients) 16% des cas manifestent un syndrome hémorragique. 12% des cas (parmi 17 patients) ont un syndrome infectieux.

Notre résultats se rapprochent de ceux de El Maaroufi selon la dominance, le syndrome anémique associant une dyspnée d'effort, pâleur cutanée muqueuse et une asthénie, représente l'élément clinique dominant. Ensuite vient le syndrome hémorragique, puis le syndrome infectieux, le syndrome tumoral reste le moins fréquent (El Maaroufi *et al.*, 2020).

II- Etude cytogénétique

La partie pratique de notre étude comprend la réalisation d'un caryotype depuis des prélèvements sanguins sur des patients diagnostiqués pour des LAM et des LMC avant chimiothérapie.

- **Patient 1** : Le caryotype du patient 1 est représenté dans les figures 18 et 19.

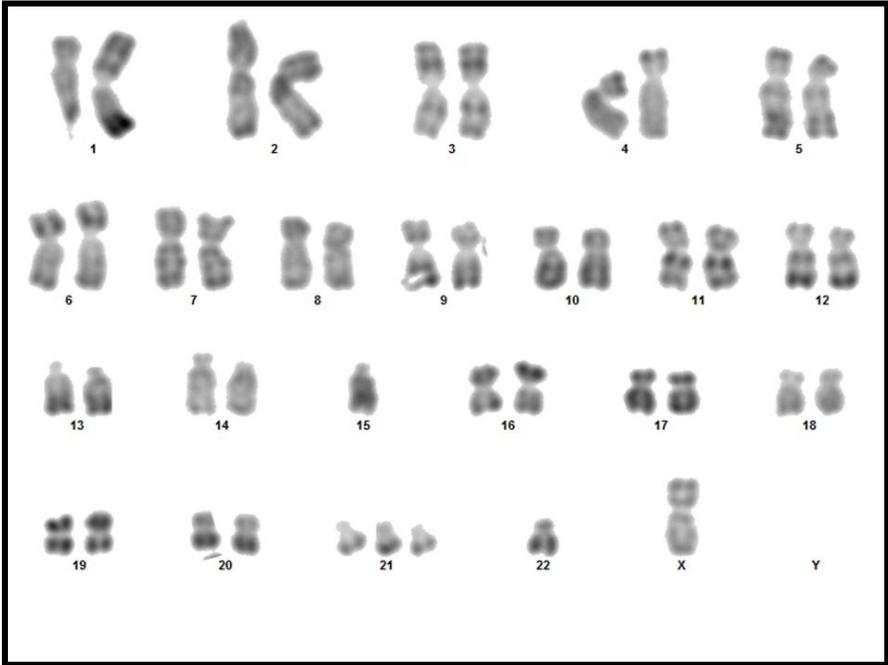


Figure 18 : Caryotype instable présentant des monosomie 15, 22, X

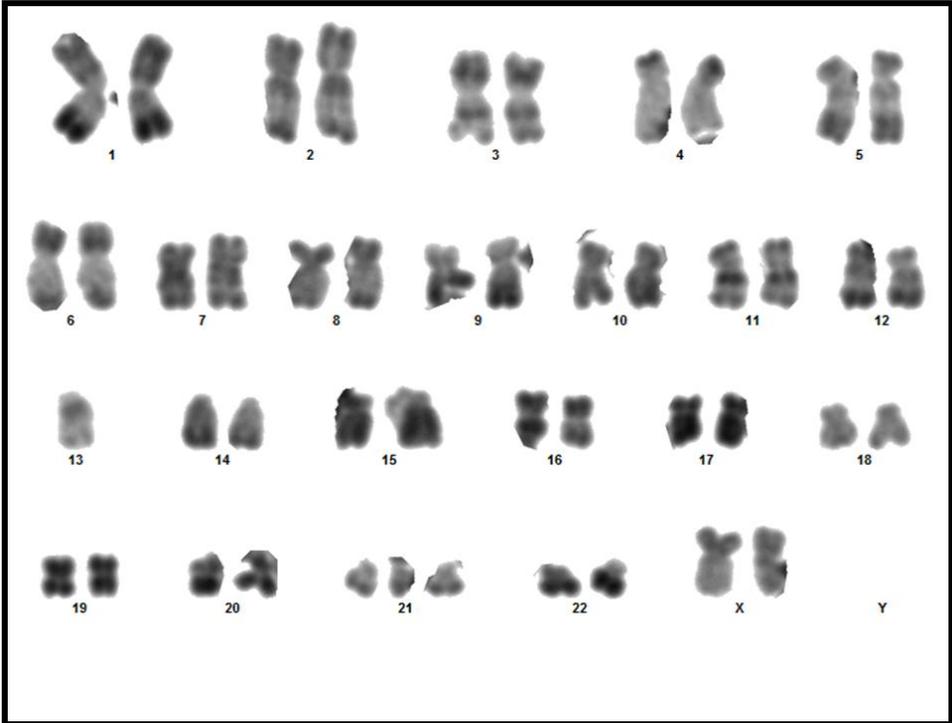


Figure 19 : Caryotype présentant une trisomie 21 et une monosomie 13

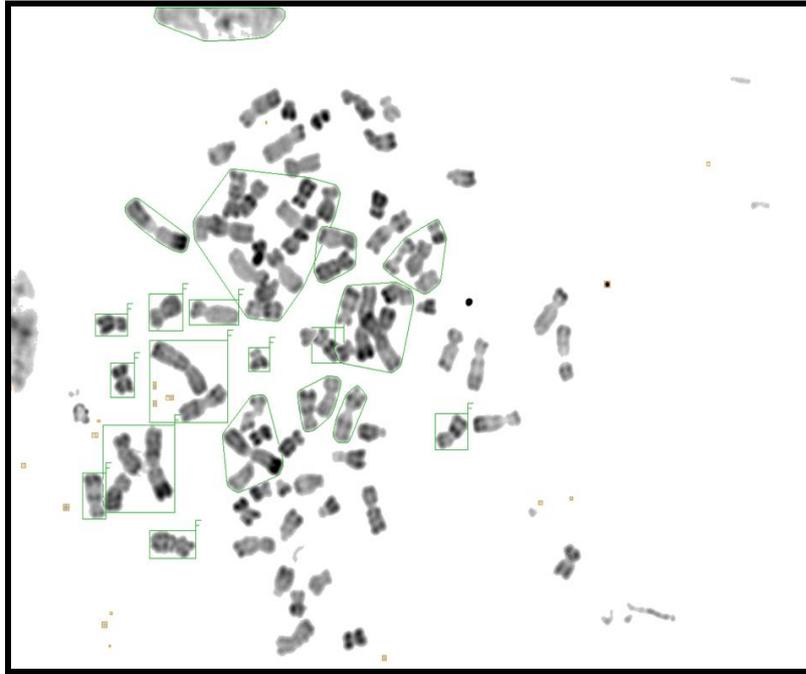


Figure 20 : Noyaux en métaphase présentant une hyperdiploïdie chez le patient 1

L'analyse cytogénétique du caryotype obtenu montre, à première vue, une instabilité chromosomique totale : hyperdiploïdie due à la leucémie, une trisomie 21(47,XX,+21), une monosomie des chromosomes 15, 22, et X à la fois. Une monosomie de chromosome 13.

Il s'agit d'une personne très jeune trisomique et leucémique, la leucémie aiguë myéloïde est une maladie rare (15-20% des leucémies aiguës infantiles) (Michel et Barlogis, 2006). Des anomalies structurelles peuvent exister, mais ne peuvent pas être détectées par cette analyse cytogénétique, comme les translocations. La leucémie aiguë myéloïde (LAM) pédiatrique étant une maladie du sang grave, le taux de récurrence peut atteindre 30 % et le taux de survie est inférieur à 75 %. Les mutations les plus courantes impliquent des gènes contrôlant la voie de signalisation de la tyrosine kinase (61 %), suivis des facteurs de transcription (16 %), des suppresseurs de tumeur (14 %), des modificateurs de la chromatine (9 %), de la méthylation de l'ADN (8 %) (Marceau, 2018).

Selon Fauret *et al.*, (2009), les aneuploïdies des chromosomes 13, X sont parmi les anomalies chromosomiques les plus fréquemment rencontrées chez l'Homme et sont à l'origine de syndromes malformatifs associés à un retard mental tels que la trisomie 21. Par contre, nous avons détecté d'autres monosomies : monosomie 22 et 15. Aucun travail dans la littérature n'a rapporté un résultat similaire. Le caryotype complexe se définit par la présence

Résultats et discussion

d'au moins 3 anomalies chromosomiques (5 dans certaines) (Krzysztof, 2008), chose que nous pouvons appliquer à nos résultats.

L'analyse chromosomique par la cytogénétique conventionnelle (bandes G) et/ou l'hybridation *in situ* en fluorescence (FISH) révèle des changements dans le nombre de chromosomes, tels que les hyperdiploïdes avec un bon pronostic (Bodmer *et al.*, 2020). Nos résultats incluent un hyperdiploïde qui peut être causée par une leucémie.

Des anomalies structurelles peuvent exister, mais ne peuvent pas être détectées par une analyse de caryotype standard (tel que le réarrangement). Par exemple, les recherches de Bodmer et de son équipe ont trouvé des défauts structurels, tels que des translocations : 11q23 et t(8 ;21) plus fréquentes chez l'enfant par exemple (Mugneret, 2003), Fusion de gènes (ETV6 / RUNX1, t (9; 22), fusion BCR / ABL1) ou réarrangement MLL (MLL 11q23) (Marceau, 2018).

- **Patient 2** : Le caryotype du patient 2 est représenté dans la figure 21.

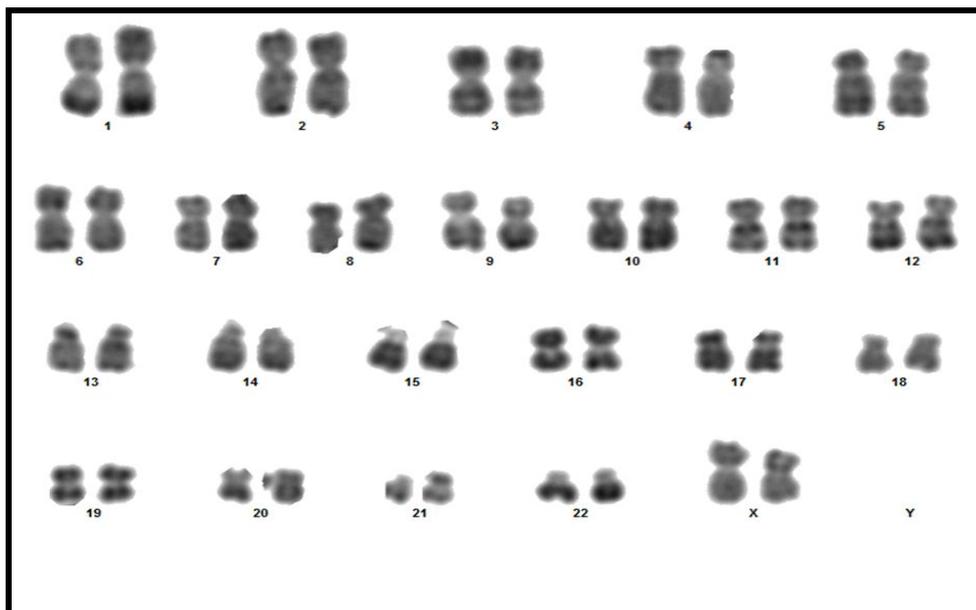


Figure 21 : Caryotype stable 46, XX



Figure 22 : Noyaux métaphasiques présentant une hyperdiploïdie chez le patient 2

L'analyse cytogénétique du caryotype obtenu montre, à première vue, une hyperdiploïdie due au traitement, avec un caryotype stable 46, XX.

Le caryotype est un examen de base lors de l'évaluation de la leucémie aiguë myéloïde (LAM). Dans environ 40% des cas, le caryotype est normal, puis les études de biologie moléculaire doivent être complétées par des tests diagnostiques, ce qui permet de parfaire les investigations (Mugneret, 2003). Nos résultats sont similaires à cette étude car le caryotype de notre patient est stable 46, XX.

- **Patient 3 :** Le caryotype du patient 3 est représenté dans la figure 23

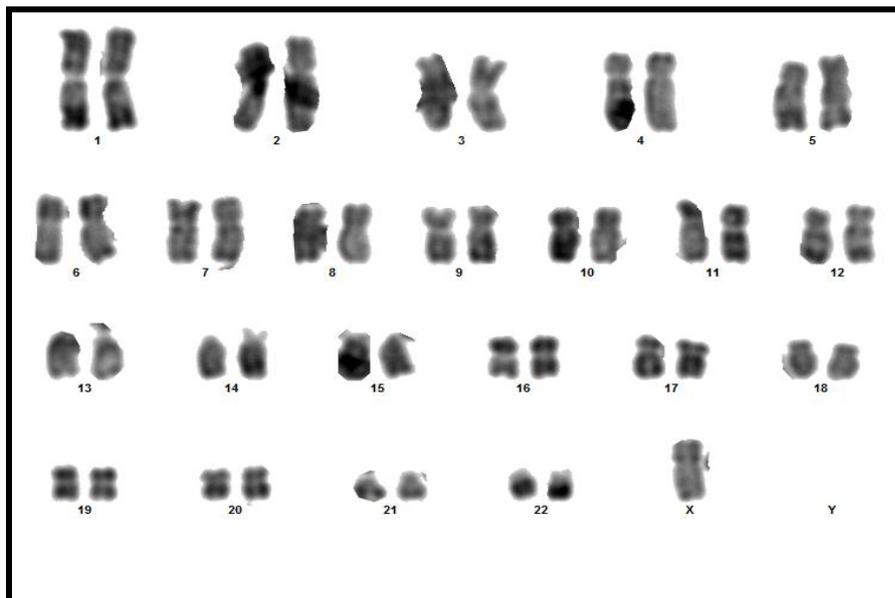


Figure 23 : Caryotype instable 45, X de patient n° 3 présentant une monosomie X

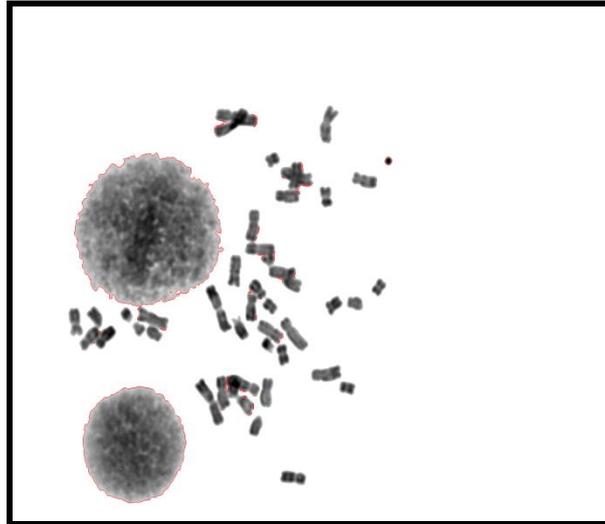


Figure 24 : Noyaux métaphasiques du patient 3

L'analyse cytogénétique du caryotype obtenu montre, à première vue, un caryotype instable 45, X avec une monosomie X.

Dans la littérature, l'étude cytogénétique des leucémies aiguës myéloïdes a révélé les monosomie 5, 7 et 8 les plus fréquentes dans les séries de Eisfeld et El Hadri (**Eisfeld *et al.*, 2017 ; El Hadri, 2018**). Nos résultats sont originaux dans ce contexte et présentent une monosomie X

- **Patient 4 :** Le caryotype du patient 3 est représenté dans la figure 25

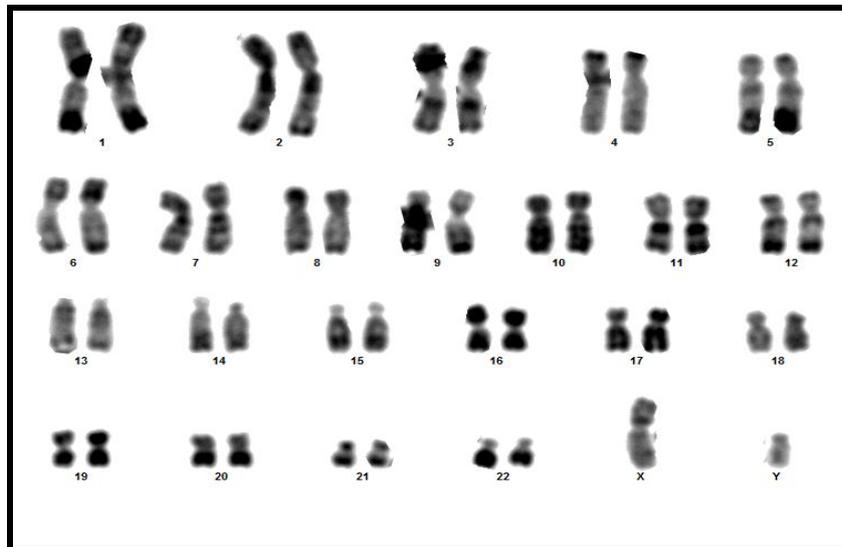


Figure 25 : Caryotype stable 46, XY

L'analyse cytogénétique du caryotype obtenu montre, à première vue un caryotype stable 46, XY.



Figure 26 : Noyaux métaphasiques du patient 4

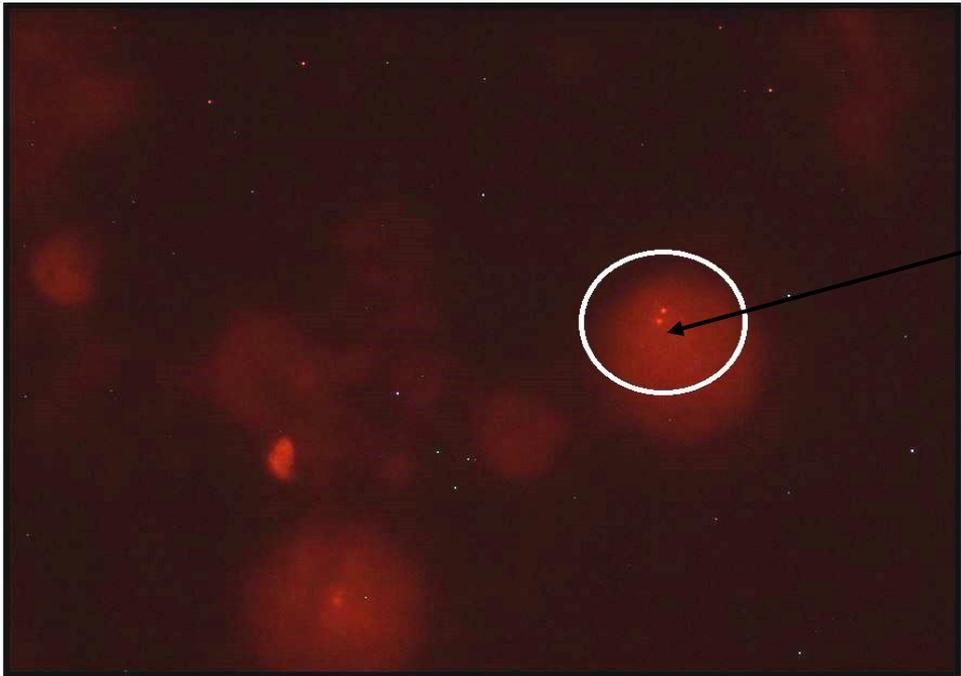


Figure 27 : image d'une Fish interphasique avec une sonde ABL-BCR (émettent deux spots de rhodamine correspond au gène ABL)

Résultats et discussion

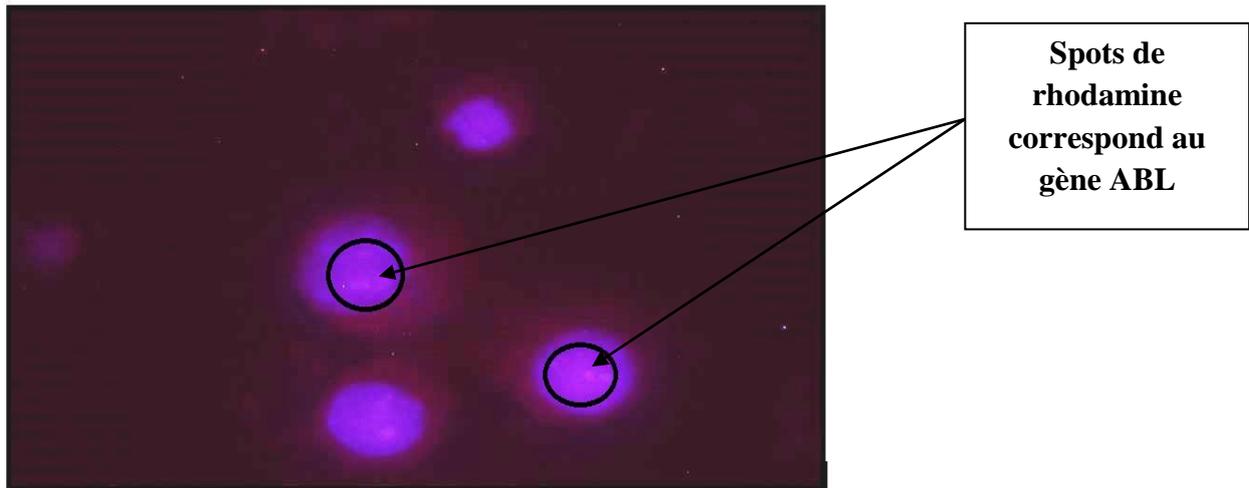


Figure 28 : image d'une FISH interphasique avec une sonde ABL-BCR (avec un filtre signifie le gène ABL)

Les signaux émis dans ces images correspondent au gène ABL dans le chromosome 9 tandis que le BCR dans le chromosome 22 qui émet deux spots verts (nous n'avons pas pu capturer à cause du filtre FITC manquant) se trouve sur l'autre chromosome, et ce qui signifie qu'il n'y a pas de translocation de l'abl/bcr.

Selon les données de la littérature, le caryotype permet de mettre en évidence le chromosome Philadelphie chez 95 % des cas de la translocation t(9;22) (q34;q11) classique ou ses variantes, et rarement un caryotype normal sans translocation (< 5% des cas) (**El Mouhdi, 2015**). Nos caryotypes utilisant le banding-R, est normal, absence probable du chromosome Philadelphie, les chromosomes 9 et 22 présentent un aspect normal. Nos résultats se rapprochent de l'étude d'El Mouhdi. Cette absence du chromosome Philadelphie peut-être due à la phase chronique de LMC dont souffre ce patient car nous n'avons pas pu mettre en évidence le chromosome Philadelphie durant les phases accélérée et blastique. Nos résultats sont similaires à ceux Sawadogo et son équipe (**Sawadogo et al., 2013**).

Nous avons eu recours à la cytogénétique moléculaire représentée par la technique d'Hybridation *In Situ* par Fluorescence (FISH) pour aller au-delà des limites imposées par la résolution du banding-R. cependant, nos résultats donné un Ph négatif donc un réarrangement BCR-ABL négatif, indiquant que la leucémie myéloïde chronique a été éliminée dans ce cas mais il faut cependant être prudent dans ce cas en raison de la possibilité d'un remaniement BCR-ABL1 en l'absence de t(9;22) à la faveur d'un réarrangement infra-cytogénétique (Philadelphie masqué), une hypothèse déjà avancée dans la littérature par **Bilhou-Nabéra et al., 2016**).

Conclusion et Perspective

Conclusion et Perspective

Notre étude consiste en une étude rétrospective qui s'est étalée sur 2 mois, concernant des patients atteints de leucémie aigues myéloïde « LAM » et chronique « LMC » référés au service d'hématologie au niveau du Centre Hospitalier Universitaire de Constantine, pour l'étude épidémiologique, clinique et biologique, ainsi qu'une étude cytogénétique au niveau du Centre de Recherche en Biotechnologies (CRBt).

Notre étude a mis en évidence :

- Pour l'étude épidémiologie, un sexe-ratio de 3.2 chez les LAM, 1.6 chez les LMC et un âge moyen de 48.7 chez les LAM, 42 chez les LMC
- Pour l'étude biologique, il a été noté pour la plupart des cas de leucémie une hyperleucocytose, anémie et thrombopénie.
- Pour l'étude clinique, les cas analysés montrent des habitats toxiques et certains types de syndromes spécifiques pour les patients leucémiques.
- Pour l'étude cytogénétique : Des cas leucémiques LAM : Une trisomie 21 avec une hyperdiploïdie et des monosomies 13, 15, 22 et X. Deux cas avec un caryotype stable, l'un de ces deux cas présente une hyperdiploïdie. Un cas leucémique LMC : caryotype stable avec un FISH négative.

A la lumière de ce travail, nos perspectives seront :

- D'élargir la population afin d'obtenir des résultats plus fiables.
- De mettre au point la technique d'hybridation *in situ* par fluorescence (FISH) pour l'étude de translocations importantes des cas de la Leucémie Aigüe Myéloïde (LAM).
- De mettre au point les techniques de biologie moléculaire et tout particulièrement la RT-PCR pour l'étude des transcrits des gènes de fusion des cas de la Leucémie Myéloïde Chronique (LMC).



Références bibliographiques



Références bibliographiques

Références bibliographiques

1. **ABDELRAHEEM F et CHAKOUR M.** 2013. L'apport du myélogramme dans le diagnostic des hémopathies A propos de 100 cas.
2. **ANONYME.** 2017. Société Française d'Hématologie. Leucémie myéloïde chronique. *Hématologie* ; 13(5) :328.
(thèse en ligne) *University of Maryland*. Paginations multiples.
3. **ATUL B, MEHTA A, HOFFBRANDV.** 2003. Traduction de la première édition anglaise par Michel Rocour Révision scientifique d'audré Bosly et Augustin Ferrant Edition de Boeck. *Hématologie*. Paginations multiples.
4. **AUGUSTIN A.** 2017. Facteurs épidémiologiques influençant la survie dans le lymphome à cellules du manteau. (Thèse en ligne) *Bourgogne Franche-Comté*. Paginations multiples.
5. **BACCARANI M, CASTAGNETTI F, GUGLIOTTA G et al.** 2015. Un examen des recommandations européennes LeukemiaNet pour la gestion de la LMC. *Annales d'hématologie* ; 94(2) : 141-147.
6. **BARDINA C, TAFZI N, DECLEVES X et al.** 2004. Pharmacocinétique des inhibiteurs de tyrosine kinase dans la leucémie myéloïde chronique. *Revue Francophone des Laboratoires* ; 2007(395) :31-5.
7. **BARNES D, CORP M, LOUITIT J.** 1956. Treatment of murine leukaemia with x rays and homologous bone marrow ; 2(4993):626.
8. **BAYRAKTAR U, MILTON D, GUINDANI M et al.** 2016. Optimal Threshold and Time of Absolute Lymphocyte Count Assessment for Outcome Prediction after Bone Marrow Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant J Am Soc Blood Marrow Transplant* ; 22(3):505–13.
9. **BENAKLI M, HAMLADJI R, AHMED-NACER R.** 2013. L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques à conditionnement atténué. *Société algérienne d'hématologie et de transfusion sanguine*.
10. **BENAOUDA A.** 2010. Approches épidémiologiques de la leucémie myéloïde chronique à Tlemcen. (Mémoire) *UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAÏD –TLEMEN*. pagination multiple.
11. **BENOSMAN C.** 2010. Contrôle de la dynamique de la leucémie myéloïde chronique par Imatinib. Mathématiques. (Thèse en ligne). *Université Bordeaux I*. Pagination multiple.
12. **BILHOU-NABERA C, BIDET A, ECLACHE V et al.** 2016. Place de la cytogénétique dans la prise en charge des néoplasmes myéloprolifératifs autres que la leucémie myéloïde chronique: actualisation par le Groupe francophone de cytogénétique hématologique (GFCH). In *Annales de Biologie Clinique* ; 74(5) : 517-523.
13. **BODMER N, SCHEIDEGGER N, SCHLAEPFER T.** 2020. LEUCÉMIES AIGUËS DE L'ENFANT–QUOI DE NEUF? ; 31 : 9-10.
14. **BOISSEL N, DOMBRET P.** 2006. Leucémies aiguës. *La Revue du praticien* ; 56 : 71.

Références bibliographiques

15. **BOGUNIA-KUBIK K et LACINA P.** 2017. From genetic single candidate gene studies to complex genomics of GvHD. *British journal of haematology* ; 178(5) : 661-675.
16. **BONNET-DUPEYRON M, TCHIRKIV A, GOUMY C et al.** 2004. Apport des techniques de CGH et FISH subtélomérique dans le bilan des syndromes polymalformatifs et des retards psychomoteurs. *Morphologie* ; 88(281) : 107.
17. **BOUDJELLOULI A et BENAMIROUCHE A.** 2018. Etude descriptive des leucémies aigües secondaires au niveau de service d'hématologie du CHU de Tizi-Ouzou.
18. **BOSLY A.** 2000. Les syndromes myéloprolifératifs. *Revue de la médecine général* ; (170). Pagination multiples.
19. **BOYER T.** 2016. Role du CD81 dans la leucémie aigüe myéloïde : implications phénotypiques et clinicobiologique médecine humaine et pathologie. (Thèse en ligne) *Université de droit et de santé Lille II*. Paginations multiples.
20. **BOYER T.** 2016. Role du CD81 dans la leucémie aigüe myéloïde : implications phénotypiques et clinicobiologique médecine humaine et pathologie. (Thèse en ligne) *Université de droit et de santé Lille II*. Paginations multiples.
21. **Cailleau A.** 2013. Une étude établit un lien entre le diabète et le cancer du sang. www.topsante.com/pagination. pagination multiples
22. **CHAQUIN M.** 2013. Diagnostique et classification des LAM. *Horizon hémato* ; 3 (1).
23. **CHEMEGNI B, MENANGA J, ATENGUENA E et al.** 2018. Comorbidités chez les Patients Atteints de Leucémie Myéloïde Chronique à Yaoundé. *HEALTH SCIENCES AND DISEASE* ; 19(1).
24. **CHOMEL J, AGGOUNE D, SOREL N et al.** 2014. Leucémie myéloïde chronique- Un modèle de dialogue entre la cellule souche leucémique et la niche hématopoïétique. *médecine/sciences* ; 30(4) : 452-461.
25. **Costello R, Venton G, Colle J et al.** 2018. Leucémies aigües myéloïdes de l'adulte. *EMC* : 13- 018-G-50.
26. **DEBRU C et TRIADOU P.** 1996. Les leucémies aiguës: une vue historique des classifications. *MS. Médecine sciences* ; 12(4) : 491-495.
27. **DINE G, REHN Y, BRAHIMI S et al.** 2013. Maladie résiduelle et leucémie myéloïde chronique. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée* ; 28(4) : 201-206.
28. **DOHNER H, ESTEY E, GRIMWADE D et al.** 2017. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology* ; 129(4) : 424-447.
29. **DOROSZ P.** 2002. Guide pratique des médicaments. 22ème édition.
30. **DOSSANTOS C, RECHER C, DEMUR C et al.** 2006. The PI3K/Akt/mTOR pathway: a new therapeutic target in the treatment of acute myeloid leukemia. *Bulletin du cancer* ; 93(5) : 445-447.
31. **DUPLOYEZ N, DECOOL G, PREUDHOMME C.** 2018. Classification et facteurs pronostiques des leucémies aiguës. *EMC* : 13-018-G- 05.
32. **EMADI A-ASHKAN et YORK LAW J.** 2020. Leucémie myéloïde chronique (LMC).

Références bibliographiques

33. **EISFELD AK, KOHLSCHMIDT J, MRÓZEK K, VOLINIA S, BLACHLY JS, NICOLET D ET AL.** 2017. Mutational Landscape and Gene Expression Patterns in Adult Acute Myeloid Leukemias with Monosomy 7 as a Sole Abnormality *Cancer Res* ; 77(1): 207-218.
34. **ELHADRI K.** 2018. Les aspects cytogénétiques de la leucémie aigue myéloïde: Expérience du service de génétique du CHU Mohammed VI de Marrakech. (Thèse en ligne) *Université Cadi Ayyad-Marrakech*. Paginations multiples.
35. **ELMAANA A.** 2017. Profil des leucémies aigües à l'HMA de Marrakech, à propos de 60 cas et revue de littérature. (Thèse en ligne) *Université Cadi Ayyadi –Marrakche*. . Pagination multiples.
36. **ELMAAROUFI H, ABABOU M, HAMMANI A et al.** 2020. Prise en charge des syndromes myélodysplasiques au Maroc à propos d´ une étude mono-centrique. *The Pan African Medical Journal* ; 37.
37. **EL MOUHDI G.** 2015. Les aspects cliniques et cytogénétique de la leucémie myéloïde chronique, Thèse en ligne N° 186/15.Université Sidi Mohammed Ben Abdelah.pagination multiple
38. **FAURET A, BILAN F, PATRI S et al.** 2009. Intérêt de la biologie moléculaire dans le diagnostic rapide de la trisomie 21 et des aneuploïdies les plus fréquentes. *Gynécologie obstétrique & fertilité* ; 37(7-8) : 611-619.
39. **FIEGL M.** 2016. Epidemiology, pathogenesis and etiology of acute leukemia. Paginations multiples.
40. **Fourniere.**2017.Etude de profil mutationnel des leucémies aigues myéloïdes de sujet âgé par séquençage haut débit : résultats de l'issu ALPA-0701. (Thèse en ligne) *Université Lille II*. Paginations multiples.
41. **Garrett R et Emerson S.** 2009. Bone and blood vessels: the hard and the soft of hematopoietic stem cell niches. *Cell stem cell* ; 4(6) : 503-506.
42. **GAY-GUERINET J.** 2012. Facteurs de réponse dans les leucémies aigues mésoblastique traitées par azacytidine. (Thèse en ligne) *Université du Droit et de la Santé-Lille 2*. Paginations multiples.
43. **GENEBA K.** 2011. Le traitement de la leucemie myeloïde chronique par l'imatinib mesylate «GLIVEC». A propos de 16 cas observes dans le service d'hematologie-oncologie medicale du CHU du point G du 1er janvier 2005 au 31 decembre 2008. (Thèse en linge) *Université de Bamako*. Paginations multiples.
44. **GOMEZ-ALMAGUER D, MARCOS-RAMIREZ E, MONTANO-FIGUEROA E et al.** 2017. Acute leukemia characteristics are different around the world: the Mexican perspective. *Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia* ; 17(1) : 46-51.
45. **GONON-BEMOULIAN R, GOLDMAN J, NICOLINI F.** 2014. Historique de la leucémie myéloïde chronique: un paradigme de traitement du cancer. *Bulletin du cancer* ; 101(1) : 56-67.
46. **GUILHOT F et GUILHOT J.** 2011. Predicting response in CML. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology* ; 117(6) : 1773-1774.
47. **HAMOUDA H.** 2019. Immunophénotypage des leucémies aigues par cytométrie en flux. (Thèse en ligne) *Université Ferhat Abbés 1 de Sétif*. Pagination multiples.

Références bibliographiques

48. **HEHLMANN R, HOCCHAUS A, BACCARANI M.** 2007. On behalf of the European LeukemiaNet. 370 : 342–50.
49. **HERLET S.** 2010. Les inhibiteurs de tyrosine kinase dans le traitement de la leucémie myéloïde chronique chez l'adulte: Du Glivec® aux traitements de deuxième génération. Conséquence de la sortie de la réserve hospitalière pour le pharmacien d'officine, (Thèse en ligne) *UHP-Université Henri Poincaré*. Paginations multiples.
50. **HIRSCH P.** 2016. HirschP. 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. **IMBERT M.** 2002. Place du biologiste dans le diagnostic et le suivi des leucémies aiguës. *Revue Française des Laboratoires* ; 2002(344) : 67-70.
52. **IMBERT M et WAGNER-BALLON O.** 2015. Place du biologiste dans la prise en charge des leucémies aiguës: de l'hémogramme à la classification OMS. *Revue Francophone des Laboratoires* ; 2015(471) : 83-90.
53. **IYER R, SAIT S, MATSUI S et al.** 2004. Massive hyperdiploidy and tetraploidy in acute myelocytic leukemia and myelodysplastic syndrome. *Cancer genetics and cytogenetics* ;148(1) : 29-34.
54. **JABBOUR E et KANTARJIAN H.** 2018. Leucémie myéloïde chronique : mise à jour 2018 sur le diagnostic, le traitement et le suivi. *Journal américain d'hématologie* ; 93(3) : 442-495.
55. **JEMAL A, THOMAS A, MURRAY T et al.** 2002. Cancer statistics. *CA Cancer J Clin.* ; 52:23–47.
56. **JMILI N, ABDELAZIZ A, NAGARA M et al.** 2004. Aspects cytologiques des leucémies aiguës: à propos de 193 cas colligés dans la région centrale de la Tunisie. *Eastern Mediterranean Health Journal* ; 10(4/5): 641.
57. **KAUSHANSKY K.** 2006. Lineage-specific hematopoietic growth factors. *New England Journal of Medicine* ; 354(19) : 2034-2045.
58. **KOHLER CH.** 2011. Collège universitaire et hospitalier des histologistes, embryologistes, cytologistes et cytogénéticiens (CHEC). *Université médicale virtuelle francophone*. Paginations multiples.
59. **KRZYSZTOF M.** 2008 .Acute Myeloide Leukemia with a complex karyotype. *Semin oncol* ; 35(4) : 365-377.
60. **LABUSSIÈRE H, HAYETTE S, TIGAUD I et al.** 2007. Le traitement de la leucémie myéloïde chronique en 2007. *Bulletin du cancer* ; 94(10) : 863-869.
61. **LELEU P et MOREAU.** 2010. Précis d'hématologie et d'oncologie. s.l: Springer-Verlag France, Paris.ISBN:978-2-287-99341-1.
62. **LEGUAY T et MAHON F.** 2005. Leucémie myéloïde chronique. *EMC-Hématologie* ; 2(3) : 187-205.
63. **LEYMARIE V, GALOISY A, FALKENRODT A et al.** 2004. Diagnostic des hémopathies malignes myéloïdes: apports de la classification OMS 2001. In *Annales de Biologie Clinique* ; 62(5) : 513-520.

Références bibliographiques

64. LAFON A, BELANGEON T, AHOSSI V *et al.* 2010. Leucémie aiguë myéloïde: le tableau clinique est parfois trompeur. *Médecine Buccale Chirurgie Buccale* ; 16(3) : 177-181.
65. LUQUET I. 2015. Place de la cytogénétique dans le diagnostic des leucémies aiguës myéloïdes. *Revue Francophone des Laboratoires* ; 2015(471) : 43-49.
66. LUQUET I, BIDET A, CUCCUINI W *et al.* 2016. Place de la cytogénétique dans la prise en charge des leucémies aiguës myéloïdes: actualisation par le Groupe francophone de cytogénétique hématologique (GFCH). In *Annales de Biologie Clinique* ; 74(5) : 535-546.
67. MARCEAU A. 2018. Profil moléculaire des leucémies aiguës myéloïdes pédiatriques. (Thèse en ligne) *Université du Droit et de la Santé-Lille II*. Paginations multiples.
68. MESSAOUDI N. 2015. Leucémie myéloïde chronique chez l'adulte. *Etude rétrospective sur 69 cas au CHU Bejaia*. Pagination multiples.
69. MICHEL G et BARLOGIS V. 2006. Leucémies aiguës myéloïdes de l'enfant. *Oncologie* ; 8(6) : 533-536.
70. MOATTI H, BOMMIER C, LOUIS P. 2017. Leucémies aiguës myéloïdes
71. MOHAMMEDI K. 2015. Etude de l'association entre les polymorphismes génétiques c677t du méthylentetrahydrofolate reductase (MTHFR) et risque de leucémie myéloïde chronique: à propos de cas cliniques d'une population algérienne. (Thèse en ligne) *Université Mohamed Khider-Biskra*. Paginations multiples.
72. MOLDOFF K. 2014. Que fait la moelle osseuse. Pagination multiples.
73. MUGNERET F, CALLIER P, FAVRE-AUDRY B. 2003. Anomalies chromosomiques dans les leucémies aiguës myéloïdes. *Pathologie biologique* ; 51(6) : 314-328.
74. NESRINE B. 2007. Biomolécules et Régulation Fonctionnelle.
75. NISSE C. 2004. Facteurs de risque professionnels et environnementaux des syndromes myélodysplasiques et des leucémies myéloïdes chroniques: deux études cas témoins dans le Nord-Pas-de-Calais. (Thèse en ligne) *Université Lille 2*. Paginations multiples.
76. O'HANA D, BAUDET-POMMEL M, BARTHELEMY I *et al.* 2015. Ulcérations buccales révélatrices d'une leucémie aiguë myéloïde de type 4. *Médecine Buccale Chirurgie Buccale* ; 21(1) : 37-41.
77. PEDRONO ES. 2014. Etude des micro-ARNs sériques dans les leucémies aiguës myéloïdes vers une meilleure compréhension épigénétique de la leucémogénèse et une nouvelle approche de l'évaluation pronostique. *Médecine humaine et pathologie*. (Thèse en ligne) *Université d'Angers*. Paginations multiples.
78. Philippe J. 2014. Étude des formes monogéniques de diabète de type 2 et d'obésité par le séquençage de nouvelle génération (thèse en ligne) *Université du Droit et de la Santé-Lille II*. paginations multiples.
79. 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*. Paginations multiples.

Références bibliographiques

80. **RADICH J.** 2018. Is DNA a better assay for residual disease in chronic myeloid leukemia?. *Haematologica* ; 103(12) : 1942.
81. **ROCQUAIN J.** 2010. Recherche de nouvelles cibles moléculaires dans les syndromes myélodysplasiques et leucémies aiguës myéloïdes. (Thèse en ligne) *Université Aix-Marseille 2*. Paginations multiples.
82. **ROUSSEAU E.** 2018. Identification des gènes impliqués dans la coopération oncogénique avec BCR-ABL1 dans la Leucémie Myéloïde Chronique. (Thèse en ligne) *Université de Bordeaux*. Paginations multiples.
83. **ROUSSELOT P, REA D, HACINI M et al.** 2017. Étude BosEval: évaluation de l'efficacité, de la tolérance, ainsi que des modalités d'utilisation de Bosulif® chez des patients atteints de leucémies myéloïdes chroniques (LMC) Ph+ en phase chronique, avancée ou crise blastique en condition de vie réelle. *Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique* ; 65 : 136-137.
84. **SALLE V, SCHMIDT J, DELBARRE M et al.** 2017. Activité agricole et cancers hématologiques: étude cas-témoins dans un service de médecine interne. *La Revue de Médecine Interne* ; 38 : 60.
85. **Sawadogo, S., Hien, F. M., Béogo, R., Toguyeni, A., et Ouédraogo, G. A.** 2013. Particular evolution of complex cytogenetic variants of chronic myeloid leukemia treated with imatinib. *The Pan African Medical Journal*, 15, 132-132.
86. **SCHNEGG-KAUFMANN A, FELLER A, BALDOMERO H et al.** 2018. Improvement of relative survival in elderly patients with acute myeloid leukaemia emerging from population-based cancer registries in Switzerland between 2001 and 2013. *Cancer epidemiology* ; 52 : 55-62.
87. **SINTHA M et MUTHURAMAN M.** 2016. A retrospective study of clinical and laboratory parameter of acute leukaemias. *MedPulse – Int Med J* ; 3 : 542-6.
88. **SILUE D, KOUAKOU B, NANHO C et al.** 2019. Caractéristiques préthérapeutiques et évolutives des patients atteints de la leucémie myéloïde chronique à Abidjan Côte d'Ivoire. *Bulletin du Cancer* ; 106(6) : 550-559.
89. **SMITH A, HOWELL D, PATMORE R et al.** 2011. Incidence of haematological malignancy by sub-type: a report from the Haematological Malignancy Research Network. *British journal of cancer* ; 105(11) : 1684-1692.
90. **Sperte M.** 2016. Vitamines et oligoéléments: manifestations buccales des déficits et implications thérapeutiques en chirurgie dentaire. (thèse en ligne) *Université Toulouse III-Paul Sabatier*. Paginations multiples.
91. **SPIEGEL A, KALINKOVICH A, SHIVTIEL S et al.** 2008. Stem cell regulation via dynamic interactions of the nervous and immune systems with the microenvironment. *Cell stem cell* ; 3(5) : 484-492.
92. **TEBBANI F, BOUDIBA N, TADJINE K et al.** 2020. Descriptive and Analytical Study of Acute Leukemia in Adults in Eastern Algeria. *Acta Medica Iranica* : 513-519.
93. **THOMAS E, LOCHTE H, LU W et al.** 1957. Intravenous infusion of bone marrow in patients receiving radiation and chemotherapy. *New England Journal of Medicine* ; 257(11) :491-496.

Références bibliographiques

94. **TULLIEZ M.** 2011. Traitement de la leucémie myéloïde chronique (LMC) en 2011. *Revue Francophone des Laboratoires* ; 2011(433) : 33-40.
95. **VALENSI F.** 2002. Classification des leucémies aiguës: nouvelles propositions de l'oms (Organisation Mondiale de la Santé). *Revue Française des Laboratoires* ; 2002(344) : 19-24.
96. **ZEKKARI N.** 2014. Les Aspects cytohématologiques de la leucémie myéloïde chronique et leurs impacts pronostic. (Thèse en ligne) *Université Mohammed V-Souissi- Faculté de Médecine et de pharmacie -Rabat -*. Paginations multiples.



ANNEXES



Annexe 1

Annexe 1 : Classification morphologique des LAM par le groupe coopératif Franco-Américain-Britannique (FAB), 1976 (Bennett *et al.*, 1976)

Type (FAB)	Intitulé	Fréquence (%)
M0	LAM avec différenciation minime	2%
M1	LAM sans maturation	20%
M2	LAM avec maturation	30%
M3	LA promyélocytaire	10%
M4	Leucémie myélomonocytaire aiguë	15%
M5	LA monoblastique	15%
M6	érythroleucémie	5%
M7	LA mégacaryocytaire	2%

Annexe 2

Annexe 2 : Classification 2016 de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) des Leucémies Aiguës Myéloïdes (Arber *et al.*, 2017)

<p>AML avec anomalies cytogénétiques récurrentes</p>	<p>-LAM avec t(8;21) (q22;q22) ; RUNX1 - RUNX1T1 -LA promyélocytaire avec PML - RARA -LAM avec inv(16) (p13.1q22) ou t(16 ;16) (p13.1q22) ; CBFB - MYH11 -LAM avec t(9;11) (p22;q23) ; MLLT3 - KMT2A (MLL) -LAM avec t(6;9) (p23;q34) ; DEK - NUP214 -LAM avec inv(3) (q21q26.2) ou t(3;3) (q21;q26.2) ; GATA2, MECOM -LAM (mégacaryoblastique) avec t(1;22) (p13;q13) ; RBM15 - MKL1 -LAM avec mutation NPM1 -LAM avec mutation bi allélique CEBPA Entités provisoires : LAM avec BCR-ABL1 Entités provisoires : LAM avec mutation RUNX1</p>
<p>LAM avec anomalies associées aux myélodysplasies</p>	<p>Soit faisant suite à un syndrome myélodysplasique ou un syndrome myéloprolifératif/dysplasique Soit avec anomalie(s) cytogénétique(s) de syndrome myélodysplasique</p>
<p>Néoplasies myéloïdes postchimiothérapie</p>	
<p>LAM sans autres spécifications par ailleurs</p>	<p>-LA Myéloblastique avec différenciation minimale -LA Myéloblastique sans maturation -LA Myéloblastique avec maturation -LA myélomonocytaire -LA monoblastique / monocytaire -LA érythroïde pure -LA mégacaryoblastique -LA Myéloblastique à composante basophile -LA avec myélofibrose (panmyélose aiguë)</p>
<p>Sarcome granulocytaire</p>	
<p>Prolifération associée à la Trisomie constitutionnelle</p>	<p>21</p>

Annexe 3

Annexe 3 : Fiche de renseignements

Nom et prénom du patient :

Patient N° :

Type de leucémie :

Service :

Etude épidémiologique	âge	
	sexe	
	l'origine géographique	
	la consanguinité	
Etude clinique	Antécédents - familial - personnel	
	Habitudes toxiques	
	Syndrome anémique	
	Syndrome tumorale	
	Syndrome hémorragique	
	Syndrome infectieux	
Etude biologique	GB	
	Hb	
	Plaquettes	
Etude cytogénétique	Caryotype	

Annexe 4

Annexe 4 : Matériel et réactifs

- Bac en verre
- Boîte de rangement des lames
- Bain Marie (Mettler®)
- Becher en verre (20 ml, 25 ml, 100 ml, 600 ml et 1000ml)
- Becher en plastique (50 ml, 100 ml et 400ml)
- Cuve à coloration (Hellendahl®)
- Centrifugeuse à grande vitesse (Eppendorf)
- Entonnoir téflon 70×10mm
- Étuve (Mettler®)
- Éprouvette graduée verre (250 ml, 500ml)
- Embouts à Pipette (ISOLAB® 200µl).
- Gant latex (poudré)
- Hotte à flux laminaire (ALS- STERIL- HELIOS®)
- Hotte chimique (Shinsaeng® -model: SFH-2012 (UP))
- Lames 26×76mm (labbox®)
- Micropipette (0,1-2 µl) (20-200 µl)
- Pipette de transfert
- Pince
- Papier absorbent
- Portoir pour tube
- Présentoir de lames
- Réfrigérateur à 4°C, congélateur à -20°C
- Station cytogénétique motorisée (Leica® DM 6000B) relié à un ordinateur disposant d'un système de traitement d'image (logiciel Cytovision®)
- Tube conique 15ml (Aliquots)
- Vortex (IKA®), (VELP®), WIZARD Advanced IR Vortex Mixer)

Réactifs :

- sang humain
- PBmax (milieu de culture) +PHA M
- Eau distillée
- Acide acétique glacial
- Éthanol absolu

Annexe 4

- Huile d'immersion
- Colchicine : 104g\m
- KCL : 5,6g/l d'eau
- Solution EARLE 1X
- Giemsa
- Eau minérale

Annexe 5

Annexe 5 : Préparation des réactifs

Réactifs	Préparation
PB max	4 ml thermo fisher
KCl	5,6g dans 1L d'H ₂ O distillée
Carnoy	1V Acide Acétique glacial + 3V Ethanol absolu
Solution EARLE pour banding R	136 g de Chlorure de sodium (NaCl). 8 g de Chlorure de Potassium (KCl). 2 g de Magnésium Sulfate héptahydraté (MgSO ₄ 7 H ₂ O). 20 g D + Glucose Anhydre 4 g de Chlorure de Calcium 2H ₂ O (CaCl ₂). 2.5 g de Sodium Phosphate mono basique (NaH ₂ PO ₄ H ₂ O). Mélanger l'ensemble dans 1l d'eau distillée et ajuster le pH à 6,8.
Colorant	Giemsa 5 ml + 5 ml d'eau minérale

Annexe 6

Annexe 6 : Fiche des répartitions

Type de leucémie :

Nombre total des patients :

Etude épidémiologique	Répartition selon l'âge	18 - 30	H : F :	
		31 - 40	H : F :	
		41 - 50	H : F :	
		51 - 60	H : F :	
		61 - 70	H : F :	
		71 - 80	H : F :	
	Répartition selon le sexe	homme		
		femme		
	Répartition selon l'origine géographique	Constantine		
		Jijel		
		Mila		
		Skikda		
		Oum El Bouaghi		
	Etude clinique	Antécédents	Aucun antécédent	
			hypertendu	
diabétique				
asthmatique				
Habitudes toxiques		RAS		
		Tabac		
		Tabac + alcool + autres produits		

Annexe 6

Syndrome Anémique N :.....	Nombre H :		
	Nombre F:		
Syndrome tumoral N :.....	Nombre H :		
	Nombre F:		
Syndrome hémorragique N : ...	Nombre H :		
	Nombre F:		
Syndrome infectieux N :.....	Nombre H :		
	Nombre F:		
Etude biologique	GB	< 4000	
		4000 à 10000	
		>10000	
	Les plaquettes	< 150 000	
		150 000-400 000	
		>400 000	
	HB homme	< 13	
		13-18	
		>18	
	HB femme	< 12	
		12 -16	
		>16	
La consanguinité	Oui		
	Non		

ملخص

سرطان الدم النخاعي LAM على أنها مجموعة غير متجانسة من تكاثر سلانف خلايا الدم (الجدعية) ذات الطبيعة النخاعية مع انسداد في مرحلة مبكرة من تمايزها. تم تنظيم في ثماني فئات من M0 الى M7 ، وفقاً لتصنيف FAB الذي يعتمد على المعايير المورفولوجية ثم أكملت منظمة الصحة العالمية هذا التصنيف الذي أدخل علم الوراثة الخلوية بتصنيفها ضمن عدة فئات مما يسمح بتشخيص أفضل .

سرطان الدم النخاعي المزمن . LMC هي اعتلالات دموية خبيثة تنتمي إلى مجموعة متلازمات التكاثر النقوي SMP أو الأورام التكاثرية النخاعية وفقاً لتصنيف منظمة الصحة العالمية (OMS). يتميز هذا النوع من سرطان الدم في الغالب بوجود كروموسوم فيلادلفيا. يعاني معظم المرضى خلال المرحلة المزمنة ليتطور المرض إلى مراحل متقدمة.

من أجل فهم المرض وأعراضه وطرق اكتشافه ، استخدمنا دراسة بأثر رجعي و خلوي باستخدام طريقتين تكميليتين (النمط النووي الكلاسيكي ، تقنية التهجين في الموقع الفلوري) التي تسلط الضوء على العديد من التعديلات الكروموسومية ، نجحت دراستنا الوراثة الخلوية في الكشف عن شذوذ الكروموسومات بتقنية الوراثة الخلوية الكلاسيكية (النمط النووي): "متلازمة داون " التي تزيد بشكل كبير من خطر الإصابة بابيضاض الدم النقوي الحاد (LAM) عند الأطفال ، وحيدة النسيلة 13 ، 15 ، 22 ، X و فرط في عدد الصبغيات هذه النتائج بالنسبة لمرضى LAM بالإضافة الى كروموسوم فيلادلفيا السلبي المؤكد من خلال تقنية التهجين في الموقع الفلوري (FISH) بالنسبة لمرضى سرطان الدم النخاعي المزمن.

الكلمات المفتاحية : سرطان الدم النخاعي الحاد ، سرطان الدم النخاعي المزمن ، متلازمات التكاثر النقوي النمط النووي، متلازمة داون.

Abstract

Acute Myeloid Leukemia (AML) can be defined as a heterogeneous set of proliferations of precursors of blood cells (blasts) of myeloid nature with blockage at an early stage of their differentiation.

LAMs are organized into eight categories from M0 to M7, according to the FAB classification which based on morphological criteria the WHO completed this classification which introduced cytogenetics to group lam in several categories to allow a better diagnosis the second type leukemia chronic myeloid leukemia (CML) are hematological malignancies belonging to the group of Myeloproliferative Syndromes (PMS) or myeloproliferative neoplasia according to the classification of the World Health Organization (WHO) This type of leukemia is usually named by the presence of the Philadelphia chromosome. Most patients wear it during the chronic phase and progress to accelerated and plastic phases.

In order to understand the disease and to deepen its symptoms, detection methods we used a classical statistical and cytogenetic studies by the two complementary methods (Caryotype standard, FISH). which reveal numerous chromosomal alterations. our cytogenetic study was successful with detection of chromosomal abnormalities of number by the technique of classical cytogenetics (karyotype): trisomy 21 which strongly increases the risk of developing LAM in children, monosomy 13, 15,22 and X, hyperdiploidy in patients with LAM, and a negative Philadelphia chromosome confirmed by the technique of Hybridation in Site Fluorescence (FISH) in patients with CML.

Gene therapy in acute myeloid leukemia is still unknown and poorly understood, despite the high incidence, particularly in older adults, whereas the application of systematic therapeutic approaches in chronic myeloid leukemia based on imatinib and tyrokinase inhibitors can significantly improve patient survival.

Key worlds : Acute Myeloid Leukemia, leukemia chronic myeloid leukemia, DNA trisomy 21.

Résumé

Résumé

Les Leucémies Aiguës Myéloïdes (LAM) peuvent être définies comme un ensemble hétérogène de proliférations de précurseurs des cellules sanguines (blastes) de nature myéloïde avec blocage à un stade précoce de leur différenciation.

Les LAM sont organisées en huit catégories de M0 à M7, selon la classification FAB qui basée sur les critères morphologique. L'OMS a complété cette classification qui a introduit la cytogénétique pour regrouper les LAM en plusieurs catégories permettant un meilleur diagnostic

Les Leucémies Myéloïdes Chroniques (LMC) sont des hémopathies malignes appartenant au groupe des Syndromes MyéloProlifératifs (SMP) ou néoplasies myéloprolifératives selon la classification de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Ce type de leucémie est en général caractérisé par la présence de chromosome Philadelphie. La plupart des patients l'arborent durant la phase chronique et évolue vers des phases accélérées et blastiques.

Afin de comprendre la maladie, ses symptômes, ses méthodes de détection, nous avons eu recours à une étude rétrospective et cytogénétique e par les deux méthodes complémentaires (caryotype standard, FISH) qui mettent en évidence de nombreuses altérations chromosomiques. Notre étude cytogénétique a été réussie avec détection des anomalies chromosomiques du nombre par la technique de la cytogénétique classique (caryotype) : la trisomie 21 qui augmente fortement le risque de développer une LAM chez les enfants, les monosomies 13, 15,22 et X, l'hyperdiploïdie chez les patients atteints un LAM, et un chromosome Philadelphie négatif confirmé par la technique d'Hybridation *in Situ* par Fluorescence (FISH) chez le patient atteint un LMC.

Mots clés : LMC ; LMA ; Caryotype ; FISH ; Aberration chromosomique ; trisomie 21.

Année universitaire : 2020-2021	Présenté par : BOUMALIT Nermine GHARBI Hanane MAHCENE Boutheina
Etude épidémiologique et cytogénétique des Leucémies Aigues Myéloïdes et Chroniques dans la région de Constantine	
Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Génétique	
<p>Résumé</p> <p>Les Leucémies Aiguës Myéloïdes (LAM) peuvent être définies comme un ensemble hétérogène de proliférations de précurseurs des cellules sanguines (blastes) de nature myéloïde avec blocage à un stade précoce de leur différenciation.</p> <p>Les LAM sont organisées en huit catégories de M0 à M7, selon la classification FAB qui basée sur les critères morphologique. L'OMS a complété cette classification qui a introduit la cytogénétique pour regrouper les LAM en plusieurs catégories permettant un meilleur diagnostic</p> <p>Les Leucémies Myéloïdes Chroniques (LMC) sont des hémopathies malignes appartenant au groupe des Syndromes MyéloProlifératifs (SMP) ou néoplasies myéloprolifératives selon la classification de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Ce type de leucémie est en général caractérisé par la présence de chromosome Philadelphie. La plupart des patients l'arborent durant la phase chronique et évolue vers des phases accélérées et plastiques.</p> <p>Afin de comprendre la maladie, ses symptômes, ses méthodes de détection, nous avons eu recours à une étude rétrospective et cytogénétique e par les deux méthodes complémentaires (caryotype standard, FISH) qui mettent en évidence de nombreuses altérations chromosomiques. Notre étude cytogénétique a été réussie avec détection des anomalies chromosomiques du nombre par la technique de la cytogénétique classique (caryotype) : la trisomie 21 qui augmente fortement le risque de développer une LAM chez les enfants, les monosomies 13, 15,22 et X, l'hyperdiploïdie chez les patients atteints un LAM, et un chromosome Philadelphie négatif confirmé par la technique d'Hybridation in Site Fluorescence (FISH) chez le patient atteint d'une LMC.</p>	
Mots-clefs : LMC ; LMA ; Caryotype ; FISH ; Aberration chromosomique ; trisomie 21.	
Laboratoires de recherche : Centre de Recherche Biotechnologie (CRBt). Constantine.	
Président : REZGOUNE Mohamed Larbi. Encadreur : BECHKRI Sakina Co- encadreur : NINI Anissa Examinatrice : GHARZOULI Razika	MCA. Université Frères Mentouri Constantine 1 MCB. Université Frères Mentouri Constantine 1 Chercheur. Centre de Recherche en Biotechnologies MCA. Université Frères Mentouri Constantine 1