

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université Constantine 1
Faculté des Science de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Animale



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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie Animale

Spécialité : Génétique Moléculaire

Intitulé :

**Étude bibliographique sur la génétique des leucémies aiguës myéloïdes ;
État des lieux et perspectives**

Présenté et soutenu par : MAÂROUF Chiheb Eddine,

Le : Mercredi 18/06/2014

SEDJAL Tarek.

Jury d'évaluation :

Président du jury : *Satta Dalila* (Professeur - Université Constantine I).

Rapporteur : *Rezgoune Mohamed Larbi* (MA.A - Université Constantine I).

Examineurs : *Chaoui Naouel* (MC.B - Université Constantine I),

Rezgoune-Chellat Djalila (MC.B - Université Constantine I).

Année universitaire

2013/2014

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université Constantine 1
Faculté des Science de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Animale



Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Biologie Animale
Spécialité : Génétique Moléculaire

Intitulé :

**Étude bibliographique sur la génétique des leucémies aiguës myéloïdes ;
État des lieux et perspectives**

Présenté et soutenu par : MAÂROUF Chiheb Eddine,
SEDJAL Tarek.

Le : Mercredi 18/06/2014

Jury d'évaluation :

Président du jury : *Satta Dalila* (Professeur - Université Constantine I).

Rapporteur : *Rezgoune Mohamed Larbi* (MA.A - Université Constantine I).

Examineurs : *Chaoui Naouel* (MC.B - Université Constantine I),

Rezgoune-Chellat Djalila (MC.B - Université Constantine I).

Année universitaire
2013/2014

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

*Au nom de Dieu
le tout miséricordieux
le très miséricordieux*

Remerciements

En avant-propos à ce mémoire nous remercions ALLAH qui nous aide et nous a donné la patience et le courage durant ces longues années d'études.

Nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire ainsi qu'à la réussite de cette formidable année universitaire.

*Ces remerciements vont tout d'abord au **corps professoral et administratif de la Faculté des Sciences de la nature et de la vie de l'université Constantine I**, pour la richesse et la qualité de leur enseignement et qui ont déployé de grands efforts pour assurer à leurs étudiants une formation de qualité et actualisée.*

*Nos vifs remerciements à notre enseignant-encadreur monsieur « **Rezgoune Mohamed Larbi** », qui s'est dévoué pour nous dispenser de tous conseils et directives utiles pour la réalisation de ce modeste travail.*

*Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à tous les professeurs qui nous ont enseigné et qui par leurs compétences nous ont soutenu dans la poursuite de nos études. Particulièrement à toute l'équipe de formation du M2 Génétique des cancers : **Pr Satta D, M Rezgoune ML, Mmes Chellat D, Benhyzia H, Bechkri S, Benlatreche M, Bencheraiet R**, pour ses conseils toujours pleins de bon sens.*

*On remercie également **nos familles et nos amis** qui par leurs prières et leurs encouragements, on a pu surmonter tous les obstacles.*

*Nos vifs remerciements vont également aux **membres du jury** pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail Et de l'enrichir par leurs propositions.*

Enfin, Nous tenons à remercier toute personne qui a participé de près ou de loin à l'exécution de ce modeste travail.

**Maarouf chiheb eddine et Sedjal Tarek **

Merci 

Dédicaces

Avec tout mon amour éternel et avec l'intensité de mes émotions.

Je dédie ce travail :

À la mémoire de mon grand-père «CHIRIF».

À celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifié pour mon bonheur et ma réussite, à ma mère ... «WARDA».

À mon père «MAHIEDDINE», école de mon enfance, qui a été mon ombre durant toutes les années des études, et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à me donner l'aide et à me protéger.

Que DIEU lui gardes et protège.

À ma chère sœur «SARA» et son mari «MOHAMMED».

À ma chère sœur « MARWA » Pour leur sympathie, douceur et gentillesse. Une vie pleine de Plaisir et de réussite.

À mon petit frère «IMAD», DIEU lui garde et le procure bonheur, succès et joie.

Je le dédie particulièrement à ma grand-mère «RABIAA», que DIEU le garde en bonne santé pour toute la famille.

*Je le dédie aussi à tous mes oncles et tantes, cousins et cousines, particulièrement **KARIMA**, **NABILA**, **ABLA**, et leurs enfants. Je vous souhaite une vie pleine de Plaisir et de réussite.*

À tous mes amies De près et de loin.

Je ne saurai terminer sans citer tous les étudiants de Master 2 Génétique Moléculaire.

Promotion 2013/2014, Pour tous les moments inoubliables qu'on a passés ensemble.

Enfin je le dédie à tous mes amis que je n'ai pas cités et à tous ceux qui me connaissent,

Qu'ils trouvent à travers ce travail ma sincère reconnaissance.

Chiheb

Dédicaces

J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail pour :

À mes parents «TAYEB et NADIA». Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour dont ils ne cessent de me combler. Que dieu leur procure bonne santé et longue vie.

À ceux que j'aime beaucoup et qui m'ont soutenue tout au long de vie :

À mon grand frère «SALAH» et leur fiancée «IMANE» et Je leur souhaite un mariage heureux,

À mon frère «MOHAMED AMINE» DIEU lui garde et le procure bonheur, succès et joie,

Et bien sûr à mon très cher frère «FAROUK» EL MAZOUZI,

À ma sœur «HOUDA» et son mari,

À ma sœur «ZINEB» et son mari «AMER»,

Sans oublié ma grand-mère «FATIMA»,

À mes tantes,

À mes cousins et cousines,

À tous les membres de ma famille petits et grands,

À mes amis(es) : «AHMAD, HAMID, ATAF, ISSAM, FARES, HAKIM, LIYAS, HAMZA, OUSSAMA, CHOKI et BILAL..... »,

À mes collègues au travail dans inspection de commerce à Chelghoum laid.

Je le dédie aussi à :

Mon encadreur «REZGOUNE MOHAMED LARBI»

Mon binôme «CHIHEB»

Toute la promotion de Master 2 Génétique Moléculaires 2013-2014

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce

Projet soit possible, je vous dis merci.

Tarek

Liste des abréviations

ADN: Acide Désoxyribo Nucléique
ALDH: ALdéhyde DésHydrogénase
AREB-t: Anémie Réfractaire avec Excès de Blastes en transformation
ARF: ADP Ribosylation Factor
ARN: Acide Ribo Nucléique
ARNm: Acide Ribo-Nucléique messenger
ATRA: All-Trans Retinoic Acid
ASXL1: Additional SeX comb-Like
BAALC: Brain And Acute Leukemia Cytoplasmatic
CBL: Casitas B-cell Lymphoma
CD: Cluster de Différenciation
CEBP α : CCAAT/Enhancer Binding Protein alpha
CFU-L: Colony Forming Unit-Leukemia
CGH: Comparative Genome Hybridization
CIM-O: Classification Internationale des Maladies-Oncologie
CIP: Cyclin Inhibitory Protein
CIVD: Coagulation Intra-Vasculaire Disséminée
CLPs: Common Lymphoid Progenitors
CMPs: Common Myeloid Progenitors
CSC: Cellule Souche Cancéreuse
CSH: Cellule Souche Hématopoïétique
CSH-CT: CSH de Court Terme
CSH-LT: CSH de Long Terme
CSL: Cellule Souche Leucémique
CSRP2: Cysteine and Glycine Rich Protein 2
DNMT: DNA Méthyl-Transférase
EPO: ÉrythroPOïétine
ERG: Ets-Related Gene
ERK: Extra-cellular signal Regulated Kinase
ETV6: ETS (E Twenty Six) Variant gene 6
EVI1: Ecotropic viral integration 1
FAB: French-American-British Cooperative Group
FC: Facteurs de Croissance
FISH: Fluorescente In Situ Hybridation (Hybridation de Fluorescence In Situ)
FLT3: Fms-Like Tyrosine kinase-3
FLT3-ITD: FLT3-Internal Tandem Duplication
FLT3-TKD: FLT3-Tyrosine Kinase Domain.
FT: Facteurs de Transcription
GATA1: GATA binding protein 1 (globin transcription factor 1)
G-CSF: Granulocyte-Colony Stimulating Factor
HLA: Human Leucocyte Antigen
HOX: HomeobOX
IDH1/IDH2: Isocitrate DésHydrogénase 1 et 2
IL1: InterLeukine 1

IL6: InterLeukine 6
INF γ : INterFéron γ
IWCL: International Workshop on Chromosomes and Leukemia
JAK2: JAnus Kinase 2
LAL: Leucémies Aiguës Lymphoblastiques ou Lymphoïdes
LAM: Leucémies Aiguës Myéloblastiques ou Myéloïdes
LMO5 (CSRP2): Cysteine and Glycine Rich Protein 2
MAPK: Mitogen-Activated Protein Kinase
MGG: May-Grunewald-Giemsa
M-CSF: Myeloid-Colony Stimulating Factor
MEC: Matrice Extra-Cellulaire
miARN: micros ARN
MLL: Mixed-Lineage Leukemia
MN1: MeNingioma1
MO: Moelle Osseuse
MPPs: Multipotents Primitif Progenitors
MPO: MyéloPerOxydase
NADP(H): Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate (H)
NFS: Numération Formule Sanguine
NK: Natural Killers
NMP: Néoplasmes Myélo-Prolifératifs.
NOD-SCID: Non-Obese Diabetic- Severe Combined Immuno-Deficiency
N-RAS et K-RAS: Neuroblastoma- et Kirsten-RAS
OMS: Organisation Mondiale de la Santé
ONS: Office National des Statistiques
PCR: Polymerase Chain Reaction
PEM: Progéniteurs Érythro-Mégakaryocytaires
PGM: Progéniteurs Granulo-Monocytaires
PI3K: Phospho-Inositide 3 Kinase
PLC γ : Phospho Lipase C gamma
PMP: Progéniteurs Multi-Potents
PTPN11: Protein Tyrosine standard Phosphatase Non récepteur 11
RC: Rémission Complète
RUNX1: RUNt related transcription factor 1
RXR: Retinoid X Receptor
SCF: Stem Cell Factor
SCID: Severe Combined Immuno-Deficiency
SHP-2: Src Homology Phosphatase 2
SMD: Syndrome Myélo-Dysplasique
SMMHC: Smooth Muscle Myosin Heavy Chain
SPI1/PU1: 5' Un-Translated Region regulatory element
STAT: Signal Transducers and Activators of Transcription
TAL1: T-cell Acute Leukemia 1
TET2: TET oncogene family member 2
TGF β : Tumor Growth Factor β
TNF α : Tumor Necrosis Factor α
TPO: ThromboPOiétine
TK: Tyrosine Kinase
V-CAM: Vascular-Cell Adhesion Molecule
WT1: Wilms Tumor 1

Table des matières

Introduction	Page 01
---------------------------	----------------

Chapitre I : Physiologie du sang et du système hématopoïétique

1- Le sang	Page 03
1-1- Caractéristiques physico-chimiques du sang	Page 03
1-2- Composition du sang	Page 03
1-2-1- Le plasma	Page 03
1-2-2- Éléments « figurés » du sang	Page 03
a- Globules rouges	Page 04
b- Globules blancs	Page 04
c- Plaquettes	Page 04
1-3- Fonction du tissu sanguin	Page 06
2- La moelle osseuse	Page 06
3- Hématopoïèse	Page 07
3-1- Principe général	Page 07
3-2- Modèles de l'hématopoïèse	Page 09
3-2-1- Modèle classique de l'hématopoïèse	Page 09
3-2-2- Modèle révisé de l'hématopoïèse	Page 10
3-3- Régulation de l'hématopoïèse	Page 12
3-3-1- Propriétés des CSH	Page 12
3-3-2- Régulation de l'activité des CSH	Page 14
a- Auto-renouvellement	Page 14
b- Rôle des facteurs de croissance	Page 14
c- Rôle des facteurs de transcription	Page 15
d- Le microenvironnement médullaire (niche hématopoïétique)	Page 17
3-4- Hématopoïèse leucémique	Page 20

Chapitre II : Classification des LAM

4- Définition des LAM	Page 21
5- Classification des LAM	Page 21
5-1- Système de classification FAB	Page 22
5-2- Système de classification OMS	Page 25

Chapitre III : Aspects clinique et biologique des LAM

6- Épidémiologie	Page 29
6-1- Données à l'échelle mondiale	Page 29
6-2- Données relative à la population algérienne	Page 30
7- Étiologie	Page 34
7-1- Les facteurs constitutionnels (génétiques)	Page 34
7-2- Les facteurs acquis	Page 35
a- Pathologies	Page 35
b- Infections	Page 35
c- Facteurs environnementaux	Page 35
8- Aspects cliniques des LAM	Page 36
8-1- Signes liés à l'insuffisance médullaire	Page 36
8-2- Signes liés à l'invasion tumorale	Page 37
9- Aspects biologiques des LAM	Page 37
9-1- Hémogramme	Page 37
9-2- Myélogramme	Page 38
9-3- Cytochimie	Page 38
9-4- Immunophenotypage	Page 38
9-5- Cytogénétique	Page 39
9-6- Biologie moléculaire	Page 39
10- Pronostic	Page 40
11- Traitement	Page 41
11-1- Chimiothérapie	Page 41
11-2- Radiothérapie	Page 41
11-3- Greffe de cellules souches hématopoïétique	Page 42
11-4- Thérapeutiques ciblées	Page 42

Chapitre IV : Aspect génétique des LAM

12- Mécanismes moléculaires de la leucémogénèse des LAM	Page 43
13- Altération géniques rencontrées dans les LAM	Page 45
13-1- Les mutations de type 1	Page 45
a- <i>N-RAS</i> et <i>K-RAS</i>	Page 46
b- <i>FLT3</i>	Page 46
c- <i>c-KIT</i>	Page 46
d- <i>CBL</i>	Page 47
e- <i>PTPN11</i>	Page 47
f- <i>JAK2</i>	Page 47

13-2- Les mutations de type 2	Page 47
a- Translocation concernant <i>CBF</i>	Page 47
b- <i>PML/RARα</i>	Page 48
c- <i>MLL</i>	Page 48
13-3- Les mutations non classées	Page 49
a- <i>DNMT</i>	Page 49
b- <i>TET2</i>	Page 49
c- <i>IDH1/IDH2</i>	Page 49
d- <i>NPM1</i>	Page 50
e- <i>ASXL1</i>	Page 50
f- <i>WT1</i>	Page 50
g- <i>BAALC</i>	Page 51
h- <i>ERG, EVI1</i> et <i>MNI</i>	Page 51
i- <i>P53</i>	Page 51
13-4- L'expression des miARN (microARN)	Page 51
14- Cytogénétique des LAM	Page 52
14-1- Réalisation d'une analyse cytogénétique	Page 53
14-2- Anomalies cytogénétiques rencontrées dans les LAM	Page 54
14-3- Valeur pronostique de la cytogénétique	Page 57
15- Biologie Moléculaire des LAM	Page 58
Conclusion générale	Page 60
Références bibliographiques	Page 62
Annexes	
Résumés	

Liste des figures

Figure 01 : Composition du sang dans les conditions physiologiques normales	Page 05
Figure 02 : Modèle classique de l'hématopoïèse	Page 10
Figure 03 : Modèle révisé de l'hématopoïèse	Page 11
Figure 04 : Utilisation des cytokines et facteurs de croissance au cours de la spécialisation des différentes lignées	Page 15
Figure 05 : Rôle des facteurs de transcription au cours de l'hématopoïèse physiologique chez les mammifères	Page 16
Figure 06 : Modèle des CSH au sein de la moelle osseuse	Page 18
Figure 07 : Les LAM forment une hiérarchie des cellules souches	Page 20
Figure 08 : Diagramme représentant les relations entre le développement myéloïde normal et les cellules leucémiques	Page 24
Figure 09 : Prise en compte des anomalies moléculaires pour l'ajustement de la classification cytogénétique des LAM	Page 27
Figure 10 : Répartition selon le sexe de l'incidence des LAM en Algérie	Page 31
Figure 11 : Répartition par tranches d'âge de l'incidence des LAM en Algérie	Page 31
Figure 12 : Évolution par année (1995 - 2005) de l'incidence des LAM en Algérie	Page 32
Figure 13 : Répartition géographique de l'incidence des LAM en Algérie	Page 32
Figure 14 : Caryotype d'un individu atteint de LAM et porteur de la t(15;17)(q22;q12) (RHG)	Page 55
Figure 15 : Caryotype d'un individu atteint de LAM et porteur de la t(8;21)(q22;q22) (RHG)/(FISH)	Page 56
Figure 16 : Caryotype d'un individu atteint de LAM et porteur de l'inv(16)(p13q22) (RHG)/(FISH)	Page 56
Figure 17 : Caryotype d'un individu atteint de LAM et porteur de la t(9;11)(p22;q23) (RHG)/(FISH)	Page 57

Liste des tableaux

Tableau 01 : Observation des leucocytes du sang humain en microscopie optique après coloration au May-Grunwald-Giemsa	Page 05
Tableau 02 : Classification FAB des LAM	Page 23
Tableau 03 : Incidence annuelle des LAM en Algérie	Page 33
Tableau 04 : Répartition des différents types de LAM en Algérie selon la classification FAB	Page 33
Tableau 05 : Translocations rencontrées dans les LAM et associées à la production d'une protéine de fusion	Page 54
Tableau 06 : Classifications Anglaise et Française des LAM en groupes de pronostics (en tenant compte du résultat de l'analyse cytogénétique)	Page 58

Un cancer est dû à une prolifération anormale et clonale d'un type cellulaire donné. Les hémopathies malignes, proliférations anarchiques du tissu hématopoïétique, regroupent les leucémies et les lymphomes. Ces pathologies, communément appelées « cancers du sang », correspondent à un ensemble extrêmement hétérogène de proliférations myéloïdes et lymphoïdes malignes atteignant les organes lymphoïdes et non lymphoïdes. La grande diversité vue dans ce groupe de troubles est le reflet de la complexité inhérente de l'hématopoïèse normale et du système immunitaire [1].

Les leucémies constituent un sous-groupe d'hémopathies malignes dues à l'accumulation de cellules sanguines matures, par défaut d'apoptose, ou à la prolifération incontrôlée de cellules hématopoïétiques indifférenciées. Elles peuvent être classées selon la vitesse de progression, le degré de sévérité, le stade de maturation représenté (chronique et aiguë), la ou les lignées hématopoïétiques impliquées (lignée lymphoïde B ou T et lignée myéloïde) et le type d'anomalies (syndromes myéloprolifératifs par des anomalies quantitatives et myélodysplasiques par des anomalies qualitatives). Le site où se développe la maladie permet de distinguer les leucémies, où la prolifération est médullaire et s'étend dans le secteur sanguin, des lymphomes avec des foyers dans les ganglions lymphatiques et un envahissement secondaire de la Moelle Osseuse (MO) et du sang [1, 2].

En fait le terme de leucémie qui a été initialement utilisé pour désigner les maladies où le chiffre des leucocytes est anormalement élevé dans le sang englobe aujourd'hui des entités différentes aux plans clinique, anatomo-pathologique, immunologique, cytogénétique, moléculaire, évolutif et pronostique [3].

Les leucémies aiguës se différencient des autres par le caractère immature de ses cellules. On distingue deux grandes catégories de leucémies aiguës : les Leucémies Aiguës Lymphoblastiques ou Lymphoïdes (LAL), et les Leucémies Aiguës Myéloblastiques ou Myéloïdes (LAM). Ces lignées, faites de cellules indifférenciées, immatures, envahissent progressivement la moelle osseuse, et entraînent une inhibition de l'hématopoïèse normale liée à l'importance de la masse leucémique [4].

Les LAM sont les hémopathies malignes les plus fréquentes survenant principalement chez l'adulte, et dont l'incidence augmente avec l'âge. Le diagnostic de ces hémopathies doit être évoqué devant des caractéristiques cliniques et biologiques communes combinant un syndrome d'insuffisance médullaire et un syndrome d'invasion tumoral [5, 6].

La prise en charge des LAM est initiée par la réalisation d'un hémogramme et un myélogramme, suivi d'une étude cytochimique qui se fait sur des frottis sanguins et médullaires.

Aux termes de ces examens, les LAM sont alignées selon la classification du French-American-British Coopérative Group (FAB) révisée, et qui distingue 8 catégories de LAM, de M0 à M7, selon la maturation des cellules et la lignée de différenciation [7]. Cette classification est basée essentiellement sur la cyto-morphologie, est en décalage avec la classification de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) qui intègre des données immunologiques et cytogénétiques, relativement récentes, et qui s'est révélée être plus efficace dans le diagnostic, le pronostic, le choix et le suivi thérapeutique des patients [8, 9].

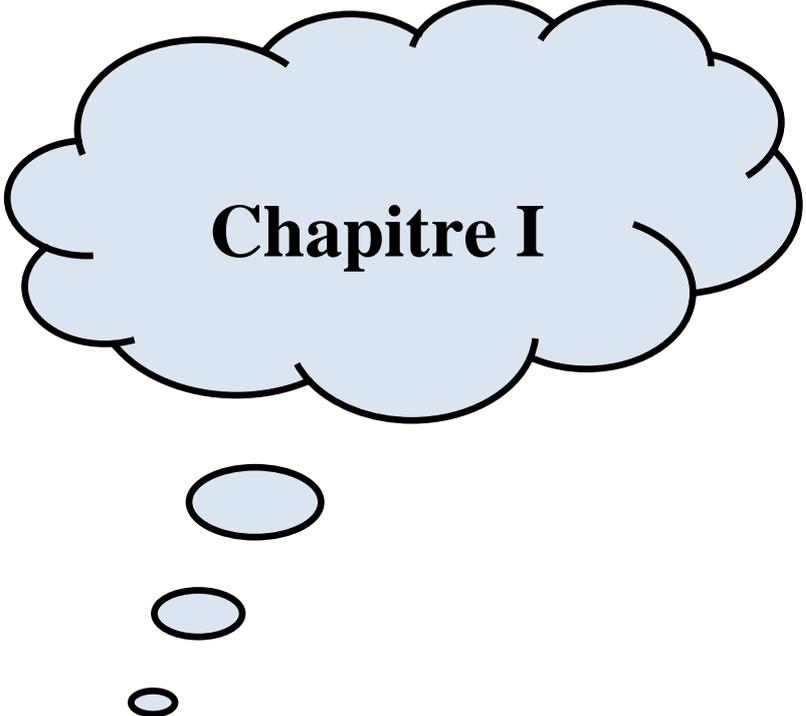
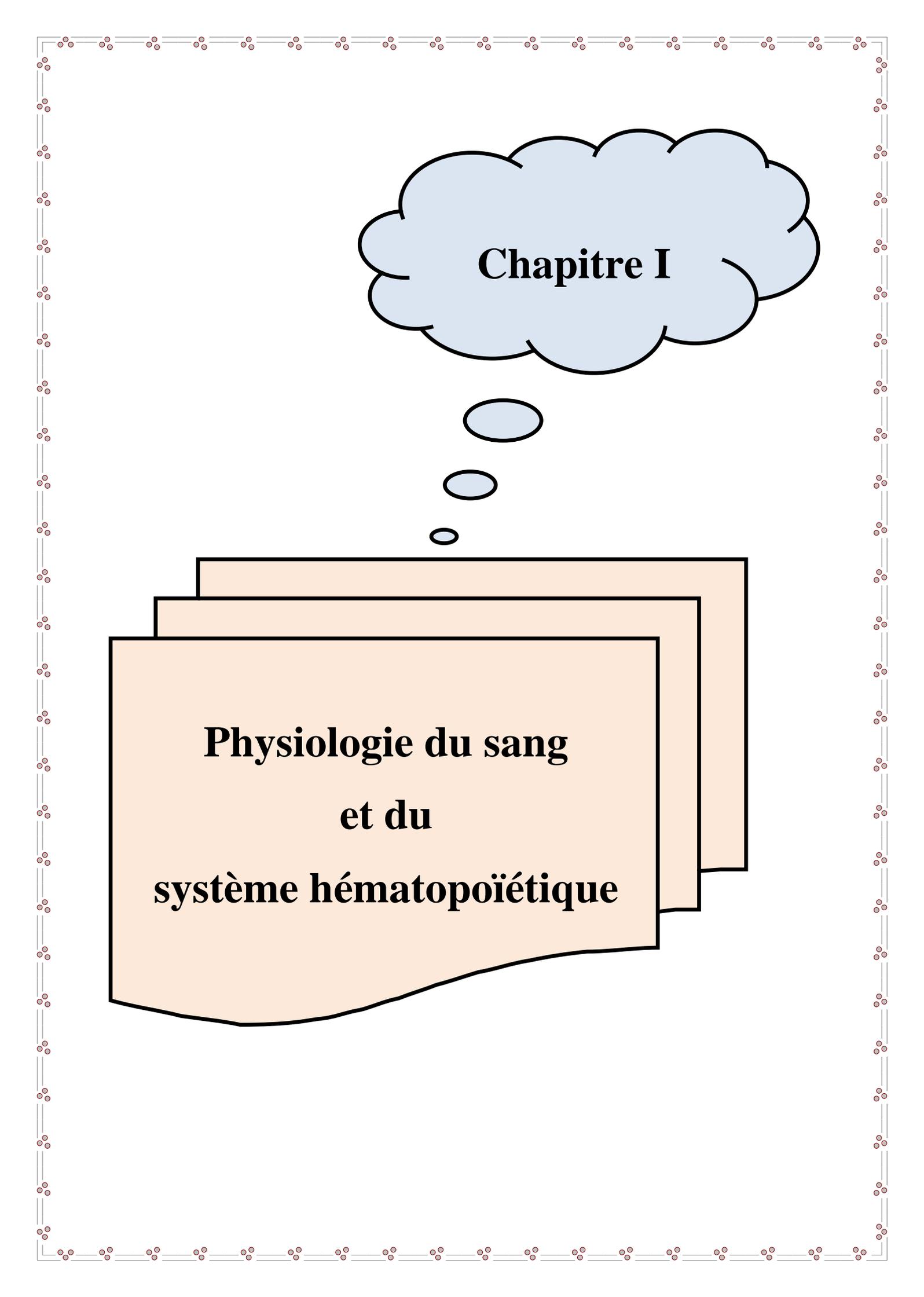
Avant l'avènement des outils de la génétique et de la biologie moléculaire, les recherches sur les cancers en général et les LAM en particulier, étaient essentiellement axées sur des facteurs étiologiques (pollution, tabac, rayonnements ultraviolets, radiations ionisantes ...etc.). La présence avec récurrence d'altérations géniques spécifiques (mutations et modifications épigénétiques) dans les cellules tumorales a révélé un aspect génétique de ces pathologies. Enfin, il a été découvert que certaines familles sont particulièrement prédisposées à certaines formes de leucémies [1].

Au cours de ces dernières décennies, de nombreux progrès ont été réalisés dans la compréhension des origines et des mécanismes de développement des cancers. Il est admis à présent que les cancers peuvent avoir une origine génétique et une origine environnementale. La contribution de l'environnement a été suspectée depuis longtemps. La part relative de l'environnement et des facteurs génétiques dans l'apparition des cancers n'est pas simple à déterminer [10, 11].

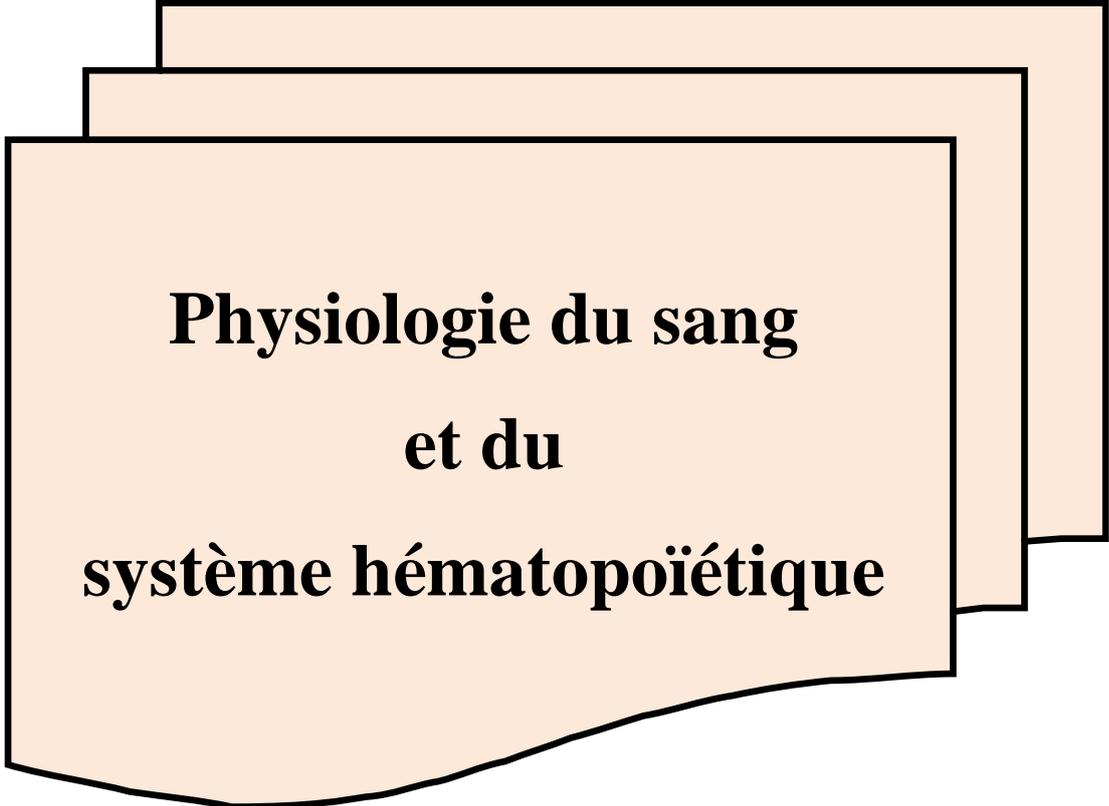
Des investigations épidémiologiques et génétiques de grande ampleur doivent être menées pour saisir l'implication de la susceptibilité génétique et son interaction avec des facteurs environnementaux favorisant dans l'apparition des LAM. Cette démarche permettra de conduire une politique de prévention adaptée à chaque population selon ses particularités ethnologiques.

Dans ce modeste travail de recherche, on s'est intéressé à l'étude des LAM du fait que c'est l'hémopathie maligne la plus fréquente en Algérie et dont des études précédentes ont démontrées l'augmentation continue du taux d'incidence. Nous allons essayer de faire dans ce mémoire une recherche bibliographique bien documentée sur ce sujet dont les connaissances évoluent de jour en jour. Nous allons essayer de mettre l'axe sur :

- Épidémiologie (dans la population mondiale et Algérienne),
- Étiologie (facteurs de risques),
- Aspects cliniques et biologiques,
- Aspects génétiques (cytogénétique, biologie moléculaire et génomique).



Chapitre I



Physiologie du sang et du système hématopoïétique

1- Le sang :

1-1- Caractéristiques physico-chimiques du sang :

Le sang est un tissu conjonctif liquide, spécialisé, d'origine mésenchymateuse, il est dépourvu de fibres, plus dense que l'eau, et visqueux dû à ses composants chimiques, légèrement alcalin (pH entre 7,35 et 7,45), et de saveur salée. Le sang est de couleur rouge, il reçoit sa couleur de l'hémoglobine, une protéine contenant du fer dont la couleur varie en fonction de son oxygénation. Ce tissu liquide circule dans toutes les veines et les artères de l'organisme irriguant ainsi tous les tissus. Son volume représente 8 % du poids corporel (soit environ 5 à 6 litres chez l'adulte sain male et 4 à 5 litres chez la femme).

Il est formé d'un liquide presque incolore très riche en eau (le plasma). Ce liquide sert à diffuser le dioxygène, et les éléments nutritifs nécessaires aux processus vitaux de tous les tissus du corps, et à transporter les déchets tels que le dioxyde de carbone ou les déchets azotés vers les sites d'évacuation (intestins, reins et poumons). Il sert également à amener aux tissus les cellules et les molécules du système immunitaire, et à diffuser les hormones dans tout l'organisme [12, 13].

1-2- Composition du sang :

Après la centrifugation du sang, on peut séparer les constituants de celui-ci pour mieux les voir. Après la séparation du mélange, on peut remarquer que le plasma (phase liquide) flotte au-dessus d'éléments dits "figurés". On retrouve juste en dessous du plasma une mince couche formée de plaquettes sanguines et de globules blancs. Les globules rouges se retrouvent quant à eux complètement au fond. Étant donné la quantité importante de globules rouges dans le sang, c'est ce qui lui donne la couleur rouge [14]. Il est pourtant constitué de 2 parties distinctes :

1-2-1- Le plasma : C'est un liquide visqueux de couleur jaunâtre qui représente 55 % du volume total du sang. Le plasma est formé d'eau à 90 %, de sels, de lipides et d'hormones, mais c'est surtout un liquide riche en protéines (albumine, immunoglobulines, les facteurs de coagulation et le fibrinogène). La composition du plasma varie continuellement selon que les cellules captent ou libèrent des substances dans le sang. Si le régime alimentaire est sain, divers mécanismes homéostasiques confèrent au plasma une composition relativement constante [13] (voir figure 1).

1-2-2- Éléments "figurés" du sang : Le sang est composé de cellules sanguines en suspension dans le plasma.

- a) **Globules rouges** : Appelés aussi hématies ou érythrocytes, ce sont des cellules anucléées dont le cytoplasme est riche en hémoglobine. Elles assurent la circulation de l'oxygène et l'évacuation du dioxyde de carbone dans l'organisme. L'érythropoïèse est le processus de formation des érythrocytes dans la MO [15]. La durée de vie d'un globule rouge varie entre 100 et 120 jours [16].
- b) **Globules blancs** : Nommées aussi leucocytes, ce sont des cellules du système immunitaire. Elles sont présentes dans le sang, la lymphe, les organes lymphoïdes (ganglions, rate, amygdale, végétations adénoïdes et plaques de Peyer), ainsi que dans plusieurs tissus conjonctifs de l'organisme. En cas d'infections ou de réactions inflammatoires, le nombre de leucocytes augmente. Il s'agit alors d'hyperleucocytose. Dans certains cas de leucémies, les globules blancs se multiplient excessivement et provoquent un syndrome de leucostase. On retrouve trois principales classes de leucocytes :
1. **Les granulocytes** ; ou bien polynucléaires, ils sont repartis en trois catégories selon leurs rôles dans la défense de l'organisme. On distingue les neutrophiles, les basophiles et les éosinophiles.
 2. **Les lymphocytes** ; ce sont des cellules qui réagissent suite à la présence des bactéries ou des cellules cancéreuses. On retrouve les lymphocytes T, lymphocytes B et NK (Natural Killers).
 3. **Les monocytes** ; ils possèdent une capacité de destruction et de digestion des corps étrangers (virus, parasites et bactéries), et se multiplient en cas d'infections chroniques [16] (voir Tableau 1).
- c) **Plaquettes** : Appelées aussi thrombocytes, ce sont des éléments obtenus par division du cytoplasme du mégacaryocyte, une cellule de la MO. Les thrombocytes sont des petits fragments dépourvus de noyau. Elles ont un rôle important dans l'hémostase. En s'associant à la fibrine, elles forment un caillot qui adhère aux cellules endothéliales des vaisseaux sanguins pour les réparer. La durée de vie d'une plaquette est très courte, soit environ 10 jours maximum [16].

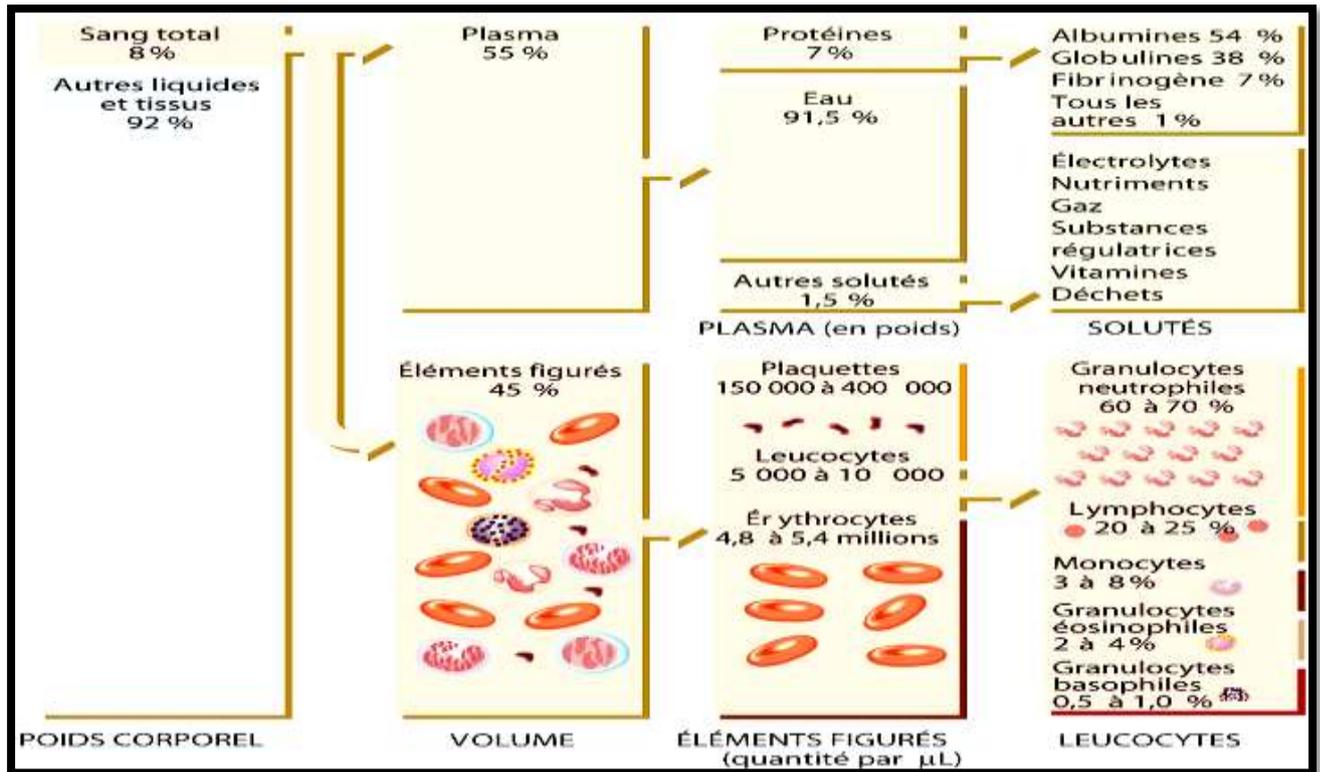


Figure 1 : Composition du sang dans les conditions physiologiques normales (Leblanc C, 2014).

Tableau 1 : Observation des leucocytes du sang humain en microscopie optique après coloration au May-Grünwald-Giemsa (MGG) (à gauche du tableau des images de frottis sanguins (grossissement x 40), à droite des représentations schématiques de chaque type cellulaire) (Köhler C, 2011).

Nom	Image	Diagramme	Proportion	Diamètre	Cytoplasme	Noyau	Durée de vie
Neutrophile			40 à 75 %	12 µm	Clair, avec granulations colorables	Trilobé	1 jour
Éosinophile			1 à 3 %	12 µm	Orangé, volumineuses granulations acidophiles	Bilobé	4 jours
Basophile			0 à 1 %	12 µm	Avec nombreuses granulations métachromatiques pourpres	Irrégulier, en trèfle	3 jours
Lymphocyte			20 à 40 %	7 µm	Mauve, situé en bordure, très minoritaire	Sphérique, dense	variable
Monocyte			2 à 10 %	17 µm	Gris bleuté, un peu granuleux	Central, En fer À cheval	1 jour

1-3- Fonctions du tissu sanguin :

Le sang contient différents types de cellules, ayant des caractéristiques et fonctions biologiques différentes ; un rôle dans le transport de l'oxygène pour les globules rouges, dans l'inflammation et la phagocytose pour les granulocytes et les monocytes, dans l'hémostase pour les plaquettes et dans l'immunité spécifique pour les lymphocytes [13]. Un dysfonctionnement quantitatif ou qualitatif de l'un des composants du tissu sanguin est susceptible d'entraîner diverses pathologies avec une symptomatologie clinique et biologique très contrastée.

2- La moelle osseuse :

La MO est un tissu vivant, spécialisé, également d'origine mésenchymateuse, a consistance « onctueuse », situé au centre des os, responsable de la production des différents types de cellules sanguines. C'est un tissu « mou », par conséquent il est protégé par l'os. Si on rassemblait toute la moelle osseuse chez un adulte, la masse obtenue pèserait 1,6 à 3 kg [17, 18 et 19].

Cet « organe » est très spécial, car anatomiquement diffus, il s'étend à l'intérieur des espaces médullaires des os du squelette, séparé du tissu osseux proprement dit par une couche mésenchymateuse particulière, l'endoste. Dans cette couche, ostéoclastes et ostéoblastes assurent un remaniement perpétuel du tissu osseux. La moelle osseuse est composée d'un tissu hématogène (hématopoïétique ou moelle rouge) et d'un tissu adipeux (graisseux ou moelle jaune) [20].

La moelle hématopoïétique, anatomiquement dispersée dans de multiples pièces osseuses est enfoncée à l'intérieur d'un cadre osseux. L'examen d'une coupe de moelle d'os spongieux hématogène permet de reconnaître différentes structures en disposition concentrique, composé de l'extérieur vers l'intérieur d'un cadre osseux (ostéocytes, ostéoblastes et ostéoclastes), d'un compartiment vasculaire, d'un microenvironnement ou trame conjonctivo-vasculaire et enfin d'un parenchyme hématopoïétique, véritable structure hématogène, mais qui serait, non fonctionnelle sans les autres structures citées précédemment [21, 22].

La moelle va être localisée différemment, suivant qu'on parle du fœtus, d'un nouveau-né, d'un jeune ou d'un adulte : Chez le fœtus, elle est située à l'intérieur de toutes les cavités osseuses. Chez l'adulte, on la trouve dans les logettes de l'os spongieux de certaines épiphyses, dans les vertèbres, les côtes, les os plats (sternum, os iliaque) et le crâne. Un balancement existe entre la moelle hématogène et la moelle adipeuse. L'involution médullaire, se produit avec l'âge, et se traduit par une réduction progressive de la moelle rouge hématogène, remplacée par la moelle jaune adipeuse.

Outre la fonction hématogène (production des cellules du sang), la moelle osseuse hématopoïétique assure plusieurs autres fonctions (immunologique et ostéogène) [23, 24].

3-Hématopoïèse :

3-1- Principe général :

L'hématopoïèse est un mot d'origine grecque, se composant de deux termes : hémato pour « sang » et poièse pour « création ». Ce processus physiologique permet la production des cellules sanguines, à savoir les globules rouges, les globules blancs et les plaquettes. À cause de leur durée de vie limitée et dans le but de maintenir leur concentration sanguine constante, ces cellules doivent être renouvelées quotidiennement au niveau des organes hématopoïétiques [25].

C'est un processus physiologique hiérarchisé qui permet la production continue et régulée des éléments figurés du sang à travers différentes étapes de différenciation et d'expansion. La pérennité du système hématopoïétique est assurée par un pool rare et minoritaire de cellules multi-potentes résidentes de la moelle osseuse, les Cellules Souches Hématopoïétiques (CSH) qui sont à la base de cette production continue et hautement contrôlée. Ainsi, les CSH régulent et maintiennent à un taux relativement constant le nombre de cellules sanguines malgré des variations de consommation liées à des conditions pathologiques (hémorragies, infections, etc.) [26, 27].

La CSH, relativement quiescente, génère une série de progéniteurs, hiérarchiquement organisés, qui entrent en prolifération et, en même temps, restreignent progressivement leur capacité à se différencier en divers types cellulaires. Ces phénomènes sont corrélés à l'expression de gènes spécifiques des lignées qui destinent les cellules vers l'acquisition d'un phénotype mature, c'est-à-dire fonctionnel [28].

La CSH est dotée d'un potentiel d'auto-renouvellement (la capacité de donner naissance, en se divisant, à des cellules filles qui lui sont identiques) et une capacité d'engagement en différenciation (orientation progressive vers une lignée spécialisée). Au niveau de la MO, site de l'hématopoïèse pendant la vie post-utérine, la CSH perd graduellement son potentiel d'auto-renouvellement, et se différencie progressivement en progéniteurs [29, 30].

Les progéniteurs primitifs multi-potents ou Multipotents Primitif Progenitors (MPPs) se différencient à leur tour en progéniteurs communs de cellules myéloïdes ou Common Myeloid Progenitors (CMPs) et en progéniteurs communs de cellules lymphoïdes ou Common Lymphoid Progenitors (CLPs).

Après l'engagement de différenciation en une lignée spécifique, ces progéniteurs aboutissent, par maturation, en cellules terminales retrouvées dans le sang : les granulocytes/monocytes, les plaquettes et les érythrocytes pour les CMPs et les lymphocytes B et T pour les CLPs.

En résumé, l'hématopoïèse comprend l'auto-renouvellement des cellules souches, l'engagement de ces cellules, progressivement, dans des lignées spécifiques, et la différenciation et maturation des progéniteurs engagés en cellules sanguines fonctionnelles.

La régulation de l'hématopoïèse est complexe. Elle dépend essentiellement de facteurs de croissance et de l'existence d'un micro-environnement médullaire (matrice extracellulaire et cellules stromales : fibroblastes, cellules endothéliales et adipocytes). Plusieurs facteurs de croissance sont impliqués dans la régulation de toute l'hématopoïèse, en agissant principalement au niveau des progéniteurs primitifs, comme l'IL1 (InterLeukine 1), l'IL6 (InterLeukine 6) et le SCF (Stem Cell Factor). D'autres sont plutôt spécifiques à une lignée, en agissant sur des progéniteurs plus tardifs, comme l'EPO (ÉrythroPOïétine), le M-CSF (Myeloid-Colony Stimulating Factor) et le G-CSF (Granulocyte-Colony Stimulating Factor). Cette régulation spécifique est importante étant donné la différence de durée de vie et la diversité de fonctions des cellules sanguines. Le rôle de ces cytokines et de l'environnement de la cellule dans son engagement de différenciation n'est pas encore bien élucidé. Ces signaux pourraient être déterminants dans l'engagement en différenciation de la cellule ou autoriseraient uniquement la survie, la prolifération et la différenciation de la cellule, en offrant un environnement permissif et sélectif, n'ayant pas ainsi de responsabilité dans le destin de la cellule (renouvellement versus détermination). Cette décision est probablement dictée par des facteurs de transcription, dont les mécanismes de contrôle sont loin d'être totalement connus [32, 37].

L'engagement d'une cellule pluripotente en lignée spécifique est le résultat de l'activité de plusieurs facteurs de transcription, qui confèrent le phénotype spécifique de la cellule. L'activité de certains facteurs de transcription est plutôt associée à la différenciation d'une lignée, comme GATA1 (GATA binding protein 1 (globin transcription factor 1)) (différenciation terminale des érythrocytes et des mégacaryocytes) et SPI1/PU1(5' Un-Translated Region regulatory element) (essentiel pour le développement des granulocytes, des lymphocytes B et T et des macrophages), tandis que l'activité d'autres facteurs est plutôt requise pour la formation ou les fonctions de la CSH, comme par exemple MLL (Mixed-Lineage Leukemia), RUNX1 (RUNt related transcription factor 1), ETV6 (ETS (E Twenty Six) Variant gene 6), TAL1 (T-cell Acute Leukemia 1) et LMO5 (CSRP2 : Cysteine and Glycine Rich Protein 2)).

Malgré cette possible distinction dans le niveau d'action de ces facteurs, ceci n'exclut pas la possible intervention de ces protéines dans d'autres stades de l'hématopoïèse.

Les gènes *MLL*, *RUNX1*, *ETV6*, *TAL1* et *LMO5* sont fréquemment impliqués dans des translocations chromosomiques associées à des néoplasies hématologiques, essentiellement des leucémies aiguës [33].

La caractérisation moléculaire des translocations chromosomiques détectées dans les cellules leucémiques des patients a permis l'identification de plusieurs gènes impliqués dans la régulation de l'hématopoïèse normale et la leucémogénèse. Leur rôle critique a été confirmé par des expériences de Knock-out et d'induction d'expression dans des modèles murins expérimentaux [34].

3-2- Modèles de l'hématopoïèse :

Deux modèles de l'hématopoïèse sont actuellement discutés :

3-2-1- Modèle classique de l'hématopoïèse :

L'hématopoïèse est un processus hiérarchisé. Ce modèle a été renforcé par l'isolement de différents progéniteurs, cellules de stades intermédiaires entre CSH et cellules matures, sur la base de phénotypes membranaires analysés en cytométrie de flux. Des expériences de développement *in vitro* et *in vivo* de ces cellules ont permis de définir une architecture de l'hématopoïèse. Durant les 15 dernières années, les chercheurs ont exploré ces pistes et ont ainsi décrit différents stades cellulaires comme les CSH de Long Terme (CSH-LT), les CSH de Court Terme (CSH-CT), les Progéniteurs Multi-Potents (PMP). Ces expériences se sont notamment basées sur la capacité de ces cellules intermédiaires à reconstituer un plus ou moins large spectre d'espèces cellulaires différenciées. Ils ont ainsi décrit une série de progéniteurs ayant perdu un certain potentiel de différenciation : les CLPs et les CMPs, les Progéniteurs Granulo-Monocytaires (PGM) et les Progéniteurs Érythro-Mégacaryocytaire (PEM) [35].

L'analyse des potentiels de différenciation de ces cellules intermédiaires isolées a permis de consolider le modèle classique de l'hématopoïèse. Il présente les PMP comme les dernières cellules capables de produire tous les types cellulaires matures. Ces PMP vont en effet être capables de reconstituer l'ensemble des lignées quand ils sont greffés chez la souris mais seront cependant incapables de soutenir la reconstitution du tissu hématopoïétique à long terme, du fait de leur incapacité à s'auto-renouveler. Ce modèle classique présente également une dichotomie entre les lignées myéloïde et lymphoïde. L'hypothèse de cette ségrégation myéloïde *versus* lymphoïde est intuitive car il existe des différences fondamentales de développement entre ces deux lignées.

Ce modèle classique est également étayé par l'analyse des profils d'expression génique des différents progéniteurs. Les CSH et les PMP expriment l'ensemble des gènes nécessaires à l'engagement dans chacune des lignées [36]. La génération suivante exprime un profil de gènes plus restreint, corrélé à une diminution de leur potentiel de différenciation en plusieurs lignées. À titre d'exemple, les CSH, PMP et PMC co-expriment des gènes granulo-monocytaires et érythro-mégacaryocytaires, ce qui n'est pas le cas des progéniteurs en aval (PGM et PEM) qui expriment l'un ou l'autre des profils [37].

La co-expression de gènes spécifiques de lignées différentes dans les progéniteurs très précoces de l'hématopoïèse peut refléter leur multi-potentiel de différenciation, qui sera par la suite restreint vers telle ou telle lignée en fonction de stimulations extrinsèques et de remaniements de la chromatine.

Bien que ce modèle classique ait prouvé son bien-fondé en permettant la découverte des gènes régulant l'hématopoïèse, il est difficilement conciliable avec certaines données expérimentales [38].

Des résultats expérimentaux récents le remettent sérieusement en question (voir figure 2).

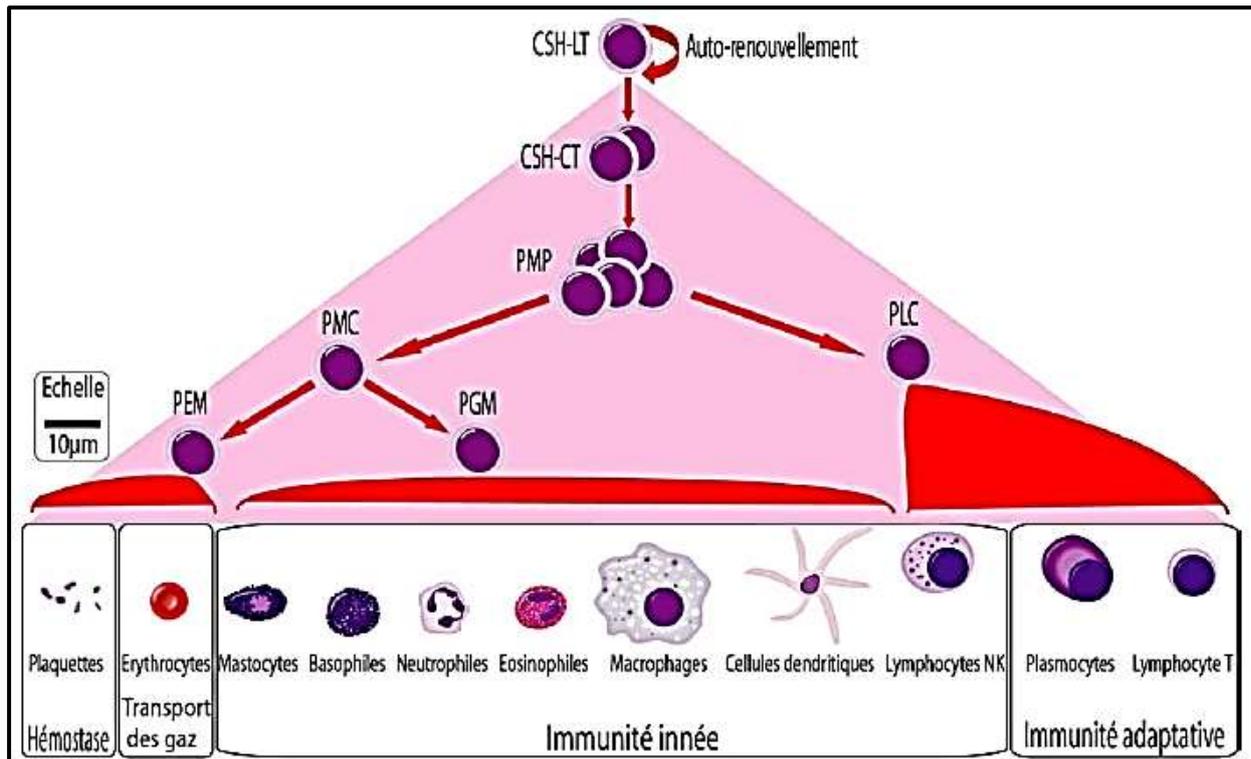


Figure 2 : Modèle classique de l'hématopoïèse (Les potentiels de différenciation des PEM, PGM et PLC sont représentés par les cellules attenantes aux aires rouges. Ces aires rouges incluent des stades de différenciation vers les cellules matures représentées en bas) [39].

3-2-2- Modèle révisé de l'hématopoïèse :

Des expériences particulièrement probantes ont permis de construire une architecture plus cohérente de l'hématopoïèse. À l'aide de souris transgéniques, il a démontré que l'orientation vers les lignées lymphoïdes advient plus précocement que ce qui est décrit dans le modèle classique de l'hématopoïèse [40].

En se basant sur l'expression du récepteur FLT3 (Fms-Like Tyrosine kinase-3), l'équipe de *Sten Jacobsen* a montré que le compartiment des PMP peut être divisé en une sous-population de progéniteurs érythro-mégacaryocytaires (PEM, Flt3-) et une sous-population de progéniteurs multi-potents amorcés vers la différenciation lymphoïde [41].

La caractérisation fonctionnelle de la population PMAL a été entreprise et d'autres travaux ont confirmé l'existence de ce stade de différenciation en identifiant cette population au sein des progéniteurs hématopoïétiques sur le critère d'expression de V-CAM (Vascular-Cell Adhesion Molecule) [42]. Ces travaux ont mené à la proposition d'un modèle revu de l'hématopoïèse.

Au lieu d'une dichotomie entre les lignées myéloïde et lymphoïde dès les premiers stades du développement hématopoïétique, ce modèle révisé avance la notion d'une ségrégation précoce de l'option de différenciation des PMP vers la lignée érythro-mégacaryocytaire et les autres lignées. Les facteurs de transcription PU1 et GATA1 semblent jouer un rôle fondamental dans cette propriété. Il a été démontré que ces deux facteurs ont des rôles antagonistes dans la régulation des gènes de l'érythropoïèse et de la myélopoïèse [43]. Divers travaux soutiennent l'hypothèse d'un rôle de la balance d'activité de ces deux facteurs de transcription dans les choix de différenciation des PMP. Enfin, le facteur de transcription à hélice boucle-hélice E2A participe également à la détermination du développement des CSH en les orientant vers le compartiment PMAL. PU1, GATA1, Mi-2 β , Ikaros et E2A apparaissent donc impliqués dans la détermination des voies de différenciation des CSH et des PMP. Ce modèle révisé de l'hématopoïèse propose l'existence d'un progéniteur commun aux lignées de l'immunité innée et adaptative [44] (voir figure 3).

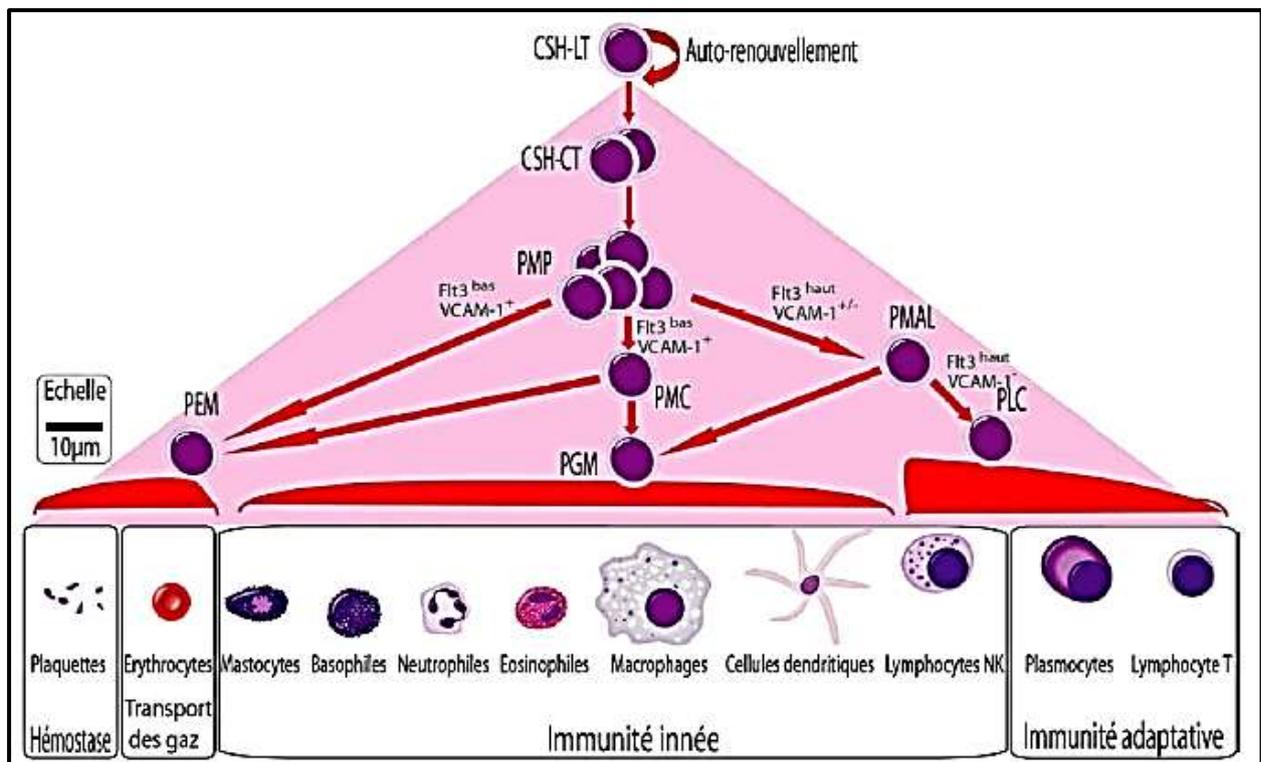


Figure 3 : Modèle révisé de l'hématopoïèse. Ce schéma, en reprenant les populations représentées dans la figure 2, représente la place qu'occupe la population de PMAL. La plasticité de différenciation est symbolisée par les flèches rouges [39].

3-3- Régulation de l'hématopoïèse :

3-3-1- Propriétés des CSH :

Bien que depuis plusieurs années, de nombreux groupes aient mis à jour l'existence de cellules souches dans différents organes tels que le cerveau, la peau, l'intestin [45], le sein, le pancréas ou encore le foie, les CSH ont été les premières cellules souches clairement caractérisées [46].

La première évidence expérimentale indiquant l'existence de CSH fut la découverte par *Til* et *Mac-Culloch* en 1961 d'une population clonogène de cellules de la MO capables de générer des colonies myélo-érythroïdes dans la rate de souris léthalement irradiées [47]. Les CSH possèdent trois propriétés fondamentales :

- **L'auto-renouveaulement**, c'est-à-dire la capacité de se diviser à l'identique sans se différencier, de sorte à maintenir et amplifier le pool de CSH.
- **La multi-potence ou potentiel de différenciation multi-lignages**, c'est-à-dire la capacité à se différencier en n'importe quelle cellule mature du sang, de sorte à assurer le maintien de l'homéostasie hématopoïétique tout au long de la vie d'un individu.
- **La capacité de reconstitution *in vivo*** d'une hématopoïèse myéloïde et lymphoïde lors d'injection dans des souris immunodéficientes SCID (Severe Combined Immuno-Deficiency) ou NOD-SCID (Non Obese Diabetic- Severe Combined Immuno-Deficiency) irradiées.

L'engagement d'une CSH vers un processus de différenciation se fait selon un processus de division asymétrique. Ainsi, la division d'une CSH résulte en la formation de deux cellules filles au destin différent, une CSH identique à la cellule mère et un progéniteur capable de se différencier, de proliférer mais incapables de s'auto-renouveler [48].

Les CSH, qui représentent 0,01 à 0,05 % de la MO, sont divisés en 3 compartiments distincts, tant en terme de fonction biologique que de phénotype. Ainsi, on différencie :

- **Les LT-HSC**, ou CSH avec auto-renouveaulement à long terme, de phénotype CD (Cluster de Différenciation) 34+, CD38-, CD90+, CD33-, HLA (Human Leucocyte Antigen)-DR-, c-Kit+ CD133+, Rho-123+ chez l'humain. Ce sont des CSH qui s'auto-renouveaulement de façon illimitée, tout au long de la vie de l'individu, reconstituant et pérennisant ainsi l'hématopoïèse physiologique.
- **Les ST-HSC**, ou CSH s'auto-renouveaulement à court terme car capable de reconstitution d'une hématopoïèse physiologique pendant une durée limitée d'environ 8 semaines. Le phénotype n'est pas décrit à ce jour chez l'humain.

- **Les progéniteurs multi-potents** qui ont perdu la capacité de s'auto-renouveler mais qui possèdent des capacités mitotiques et de différenciation importantes, aboutissant enfin au **progéniteur myéloïde commun** de phénotype CD34+ CD38+ HLA-DR+ CD33+ et au **progéniteur lymphoïde commun** de phénotype CD34+ CD38+ HLA-DR+.
- Enfin, les progéniteurs multi-potents se différencient en précurseurs hématopoïétiques qui se différencient eux-mêmes pour donner naissance aux cellules mûres fonctionnelles, peu proliférantes, incapables d'auto-renouvellement mais majoritaires au sein de la MO (plus de 99 % des cellules médullaires).

Par ailleurs, outre les propriétés précédemment décrites, il est important de noter que les CSH possèdent plusieurs caractéristiques.

- **La quiescence mitotique** : La majorité des CSH sont hors cycle ou alors en phase G₀ du cycle cellulaire et ne se divisent que très lentement (30 à 60 jours), ce qui les protège des agents conventionnels de chimiothérapie cycle dépendants. À titre d'exemple, il a été décrit une expression abondante de la p21 CIP (Cyclin Inhibitory Protein) dans les progéniteurs hématopoïétiques immatures [49].
- **La résistance au stress** : Principalement due à l'état de quiescence mais aussi grâce à la capacité des CSH à exporter et à métaboliser les drogues. Par exemple, une méthode de détection des CSH consiste en la détection de l'ALDéhyde DésHydrogénase (ALDH), enzyme cytoplasmique responsable de l'oxydation des aldéhydes intracellulaires et retrouvée fortement exprimée dans les progéniteurs hématopoïétiques [50]. De plus, les CSH expriment fortement des protéines membranaires responsables de l'efflux des drogues [51].
- **L'activité télomérase** : Cette enzyme, dont l'expression est restreinte aux CSH, ajoute des motifs télomériques (TTAGGG) à l'extrémité des chromosomes et ce afin de prévenir le raccourcissement télomérique lié à l'âge ou à la sénescence. Ce phénomène biologique repose sur le raccourcissement à chaque mitose de séquences d'ADN (Acide Désoxyribo Nucléique) répétitives les télomères, situés à l'extrémité des chromosomes et servant à les stabiliser. Le raccourcissement conduit, après un certain nombre de mitoses, à une instabilité génétique qui envoie les cellules sénescents vers l'apoptose, entraînant à terme une déplétion du pool de CSH. À titre d'exemple, il a été décrit que les cellules LT-HSC possèdent une activité télomérase aussi élevée que celle des cellules cancéreuses, alors que dans les cellules ST-HSC comme les progéniteurs multi-potents, cette activité est significativement plus faible [52].

3-3-2- Régulation de l'activité des CSH :

- a- Auto-renouveaulement :** Bien que les propriétés fonctionnelles et phénotypiques des CSH soient relativement bien caractérisées, la question fondamentale de la régulation du mécanisme d'auto-renouveaulement reste encore mal connue à ce jour. Cependant, il a été décrit un rôle des voies morphogènes Wnt et Notch ainsi que des facteurs de transcription de la famille HOX (notamment HoxB4) dans le maintien de la fonction la plus cruciale d'une CSH [53].
- b- Rôle des Facteurs de Croissance (FC) ou des cytokines :** Les FC régulent l'hématopoïèse en modulant de manière positive ou négative la prolifération, la différenciation et la survie des cellules hématopoïétiques. Selon le pool cellulaire qu'ils régulent, ils peuvent être subdivisés en 3 classes :
- Les FC « **synergiques** » comme les SCF, le LIF, le ligand de FLT3, l'IL-1, l'IL-6 et l'IL-11. Ces FC permettent l'augmentation du nombre de CSH en cycle à partir du pool de CSH quiescentes et favorisent également leur survie. Enfin, ils sensibilisent les cellules aux autres FC notamment en induisant l'expression de récepteurs membranaires spécifiques.
 - Les FC « **multi-potents** », tels que l'IL-3 et le GM-CSF pour les progéniteurs myéloïdes, ou bien l'IL-7 pour les progéniteurs lymphoïdes, agissent à la fois sur les CSH et les progéniteurs en cycle et stimulent la survie, la prolifération et la différenciation.
 - Les FC « **restreints** », comme le G-CSF (granulocytes), le M-CSF (monocytes/macrophages), l'EPO (érythrocytes) et la TPO (ThromboPOïétine) (facteurs majeur de la lignée mégacaryocytaire) ou l'IL-5, agissent sur la différenciation terminale des progéniteurs engagés dans un lignage particulier et sont également nécessaires à la maturation [54, 55] (voir figure 4).

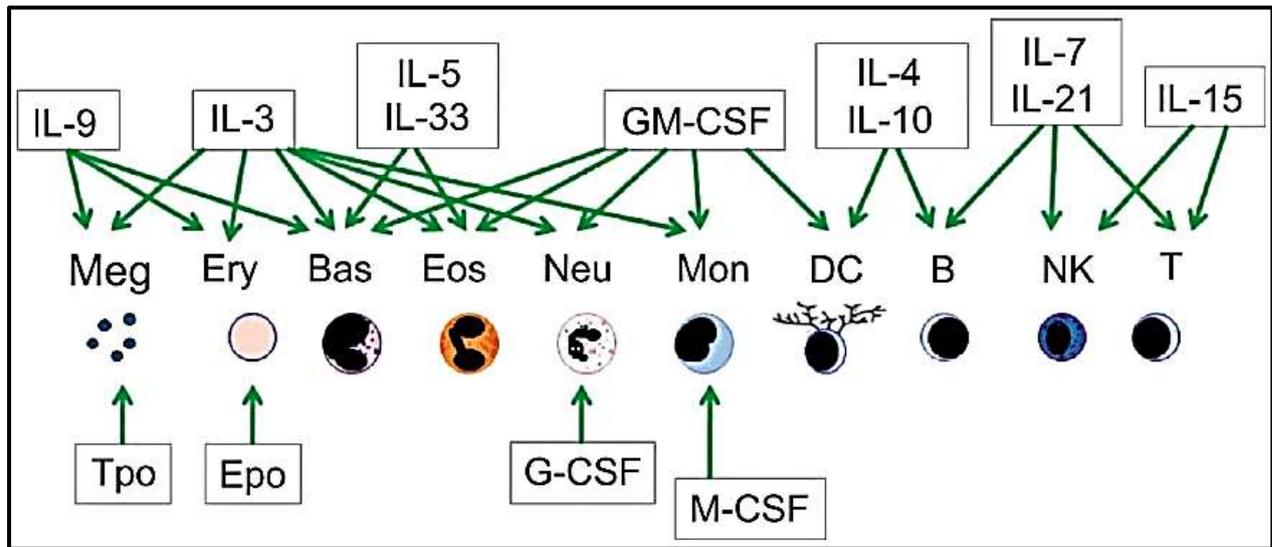


Figure 4 : Utilisation des cytokines et facteurs de croissance au cours de la spécialisation des différentes lignées. Ce schéma souligne la diversité des signaux reçus et intégrés par les cellules au cours de leur développement. Les flèches vertes indiquent que les facteurs solubles représentés ici sont impliqués dans les mécanismes de différenciation et/ou de prolifération des lignées désignées (*Brown et al, 2010*).

La fixation des FC ou des cytokines sur leur récepteur induit l'activation de diverses voies de signalisation intracellulaires (STATs (Signal Transducers and Activators of Transcription), MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase), PI3K (Phospho-Inositide 3 Kinase), etc.) qui vont agir sur le cycle cellulaire, la différenciation ou encore l'apoptose. La mise en jeu des intégrines lors de leur adhésion aux composants matriciels de la niche hématopoïétique, peut également activer les voies de signalisation PI3K ou Ras.

Enfin, outre des rôles positifs, il est décrit que certains FC inhibent l'hématopoïèse en situations physiologiques ou pathologiques, comme par exemple le TGF β (Tumor Growth Factor β), l'INF γ (INterFéron γ) ou le TNF α (Tumor Necrosis Factor α) [56].

c- Rôle des Facteurs de Transcription (FT) : Quelle que soit la voie de transduction du signal mise en jeu, elle aboutit à une régulation génétique des FT qui vont orienter la réponse cellulaire, en termes d'auto-renouvellement, de différenciation, de prolifération, d'apoptose, de sénescence, de migration ou encore d'adhésion. Ces choix cruciaux se font via la combinaison de nombreux FT, s'antagonisant ou synergisant souvent les uns les autres, exprimés à des stades de différenciation particuliers et permettant de diriger les cellules vers un lignage spécifique.

On notera par exemple le rôle clé joué par PU-1 dans le contrôle des fonctions des CSH puisqu'il a été décrit que les CSH PU-1 $-/-$ présentent une altération de l'auto-renouvellement et de la différenciation initiale vers les progéniteurs immatures lymphoïdes et myéloïdes.

De plus, CEBP α (CCAAT/Enhancer Binding Protein alpha) qui est impliqué dans la différenciation de la lignée granuleuse est fréquemment inactivé dans les LAM. Ainsi, les souris CEBP α $-/-$ présentent un défaut de progéniteurs GMP et de granulocytes dû à un blocage de la transition CMP vers GMP, une diminution des monocytes et une augmentation du nombre de cellules myéloïdes immatures, et une augmentation de la capacité des CSH à s'auto-renouveler [57] (voir figure 5).

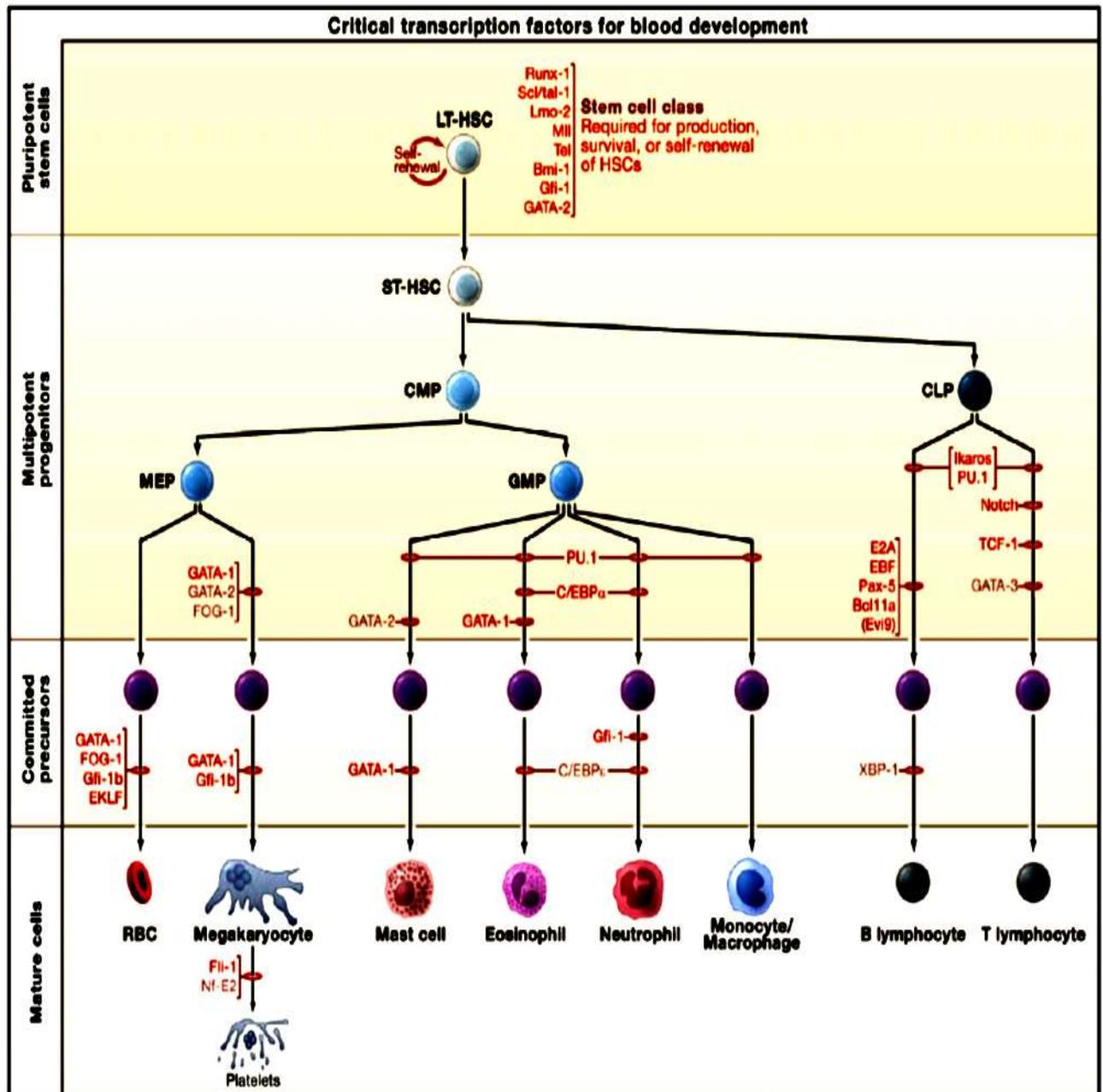


Figure 5 : Rôle des facteurs de transcription au cours de l'hématopoïèse physiologique chez les mammifères (Orkin et al, 2008).

d- Le microenvironnement médullaire (niche hématopoïétique) : Le microenvironnement médullaire est défini comme l'ensemble des constituants non hématopoïétiques de la moelle (excepté les macrophages) participant au contrôle de l'hématopoïèse *in situ*. C'est une structure tridimensionnelle complexe composée de différents éléments cellulaires (cellules stromales, ostéoblastes et adipocytes), de molécules solubles (FC et/ou chimiokines principalement sécrétées par les cellules stromales) et de molécules insolubles (protéines et enzymes de la matrice extracellulaire, molécules d'adhésion). On assimile le rôle du microenvironnement médullaire à celui d'une « niche » hématopoïétique indispensable au maintien des cellules souches totipotentes en régulant les équilibres complexes entre survie et apoptose, quiescence et prolifération, auto-renouvellement et différenciation [58].

La niche hématopoïétique, située au niveau de l'endoste, est le microenvironnement spécifique qui permet une régulation spatio-temporelle du nombre et de la fonction des CSH. En effet, les interactions CSH-cellules micro-environnementales sont nécessaires à l'auto-renouvellement des CSH tandis que les produits sécrétés par la niche (morphogènes, FC ou chimiokines) sont à l'origine des contacts intercellulaires et de la création d'un équilibre indispensable aux CSH. Par ailleurs, il est important de noter qu'il existe deux niches capables d'héberger et déréguler les CSH.

- **La niche ostéoblastique** en étroite interaction avec les ostéoblastes du système osseux régulerait le maintien et la quiescence des CSH à long terme.
- **La niche vasculaire**, elle, servirait de stock des CSH utilisables et mobilisables dans le sang en quelques minutes, en cas d'urgence et lors de la mobilisation et de la reconstitution hématopoïétique à court terme (**voir figure 6**).

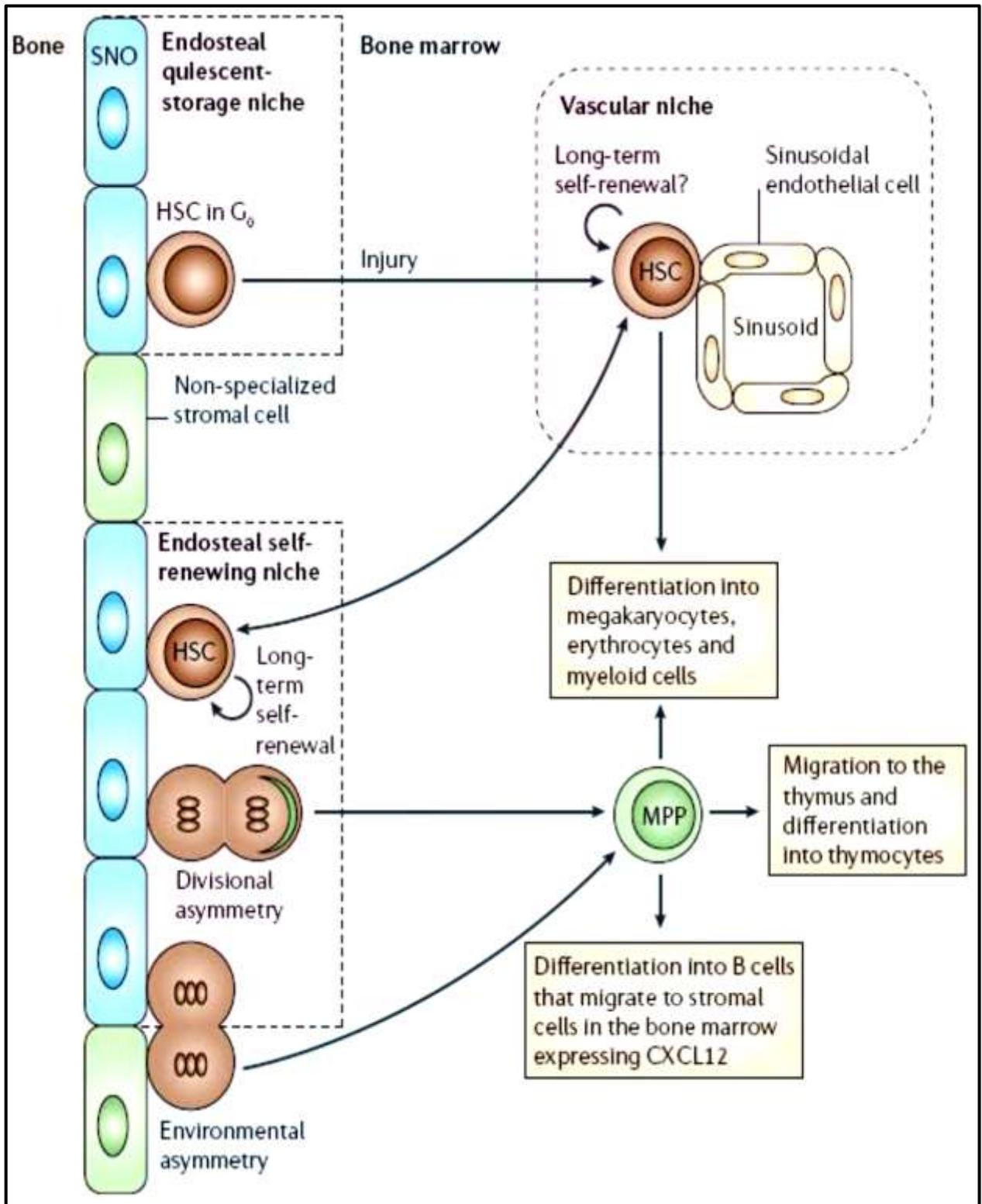


Figure 6 : Modèle des CSH au sein de la moelle osseuse (Wilson et al, 2006).

Trois composants majeurs définissent ce milieu complexe, à la fois support physique de l'hématopoïèse mais aussi élément indispensable à sa régulation.

- **Les ostéoblastes :** Ces cellules, issues de la différenciation des cellules souches mésenchymateuses, jouent un rôle clé dans le support physique de l'hématopoïèse car elles sont à l'interface entre la MO et l'os et assurent une reconstruction osseuse permanente. De plus, elles jouent un rôle crucial dans la régulation des CSH (quiescence et auto-renouveau) soit par la sécrétion de cytokines (de façon non exhaustive G-CSF, M-CSF, GM-CSF, IL-1, IL-6, LIF, TGF- α 1), soit par la synthèse de molécules induisant leurs interactions avec les CSH. On citera par exemple l'expression à la surface des ostéoblastes des ligands des voies morphogènes Wnt ou Notch, des ligands des voies adhésives, des molécules impliquées dans la quiescence des CSH comme l'angiopoïétine ou des molécules de la Matrice Extra-Cellulaire (MEC) [48].
- **Les cellules stromales :** Elles constituent un environnement local indispensable à la survie, la prolifération ou la différenciation des CSH car elles sont susceptibles de sécréter des FC régulant de manière positive ou négative l'hématopoïèse. Il s'agit d'une population hétérogène composée de cellules endothéliales, de fibroblastes, de cellules adipeuses, de macrophages et de lymphocytes T [59].
- **La matrice extracellulaire :** La MEC constitue un réseau de molécules fibreuses ou non fibreuses complexe auquel viennent adhérer les CSH par l'intermédiaire d'un motif RGDS présent à leur surface. Cette adhérence est probablement capitale, dans la mesure où la matrice constitue un réservoir considérable en facteurs de croissance. On distinguera par exemple la fibronectine (composant majoritaire de la MEC produite par les cellules endothéliales et les fibroblastes) l'ostéopontine, le collagène, la thrombospondine, la laminine, la vitronectine ou encore l'acide hyaluronique [59].

3-4- Hématopoïèse leucémique :

L'hématopoïèse leucémique, qui se développe en parallèle de l'hématopoïèse normale, conserve des caractéristiques comparables à cette dernière, notamment au niveau de l'organisation hiérarchique du clone leucémique CSL (Cellule Souche Leucémique), CFU-L (Colony Forming Unit-Leukemia)). Les CSL partagent beaucoup de similitudes avec les CSH normales, comme par exemple l'auto-renouvellement, la quiescence, le potentiel différenciatif, la résistance à l'apoptose induit par les agents de chimiothérapie, la relation privilégiée avec le microenvironnement ou encore la capacité à initier la maladie lors d'expériences de xéno-transplantations en série dans des souris immunodéprimées (souris NOD-SCID) [60] (voir figure 7).

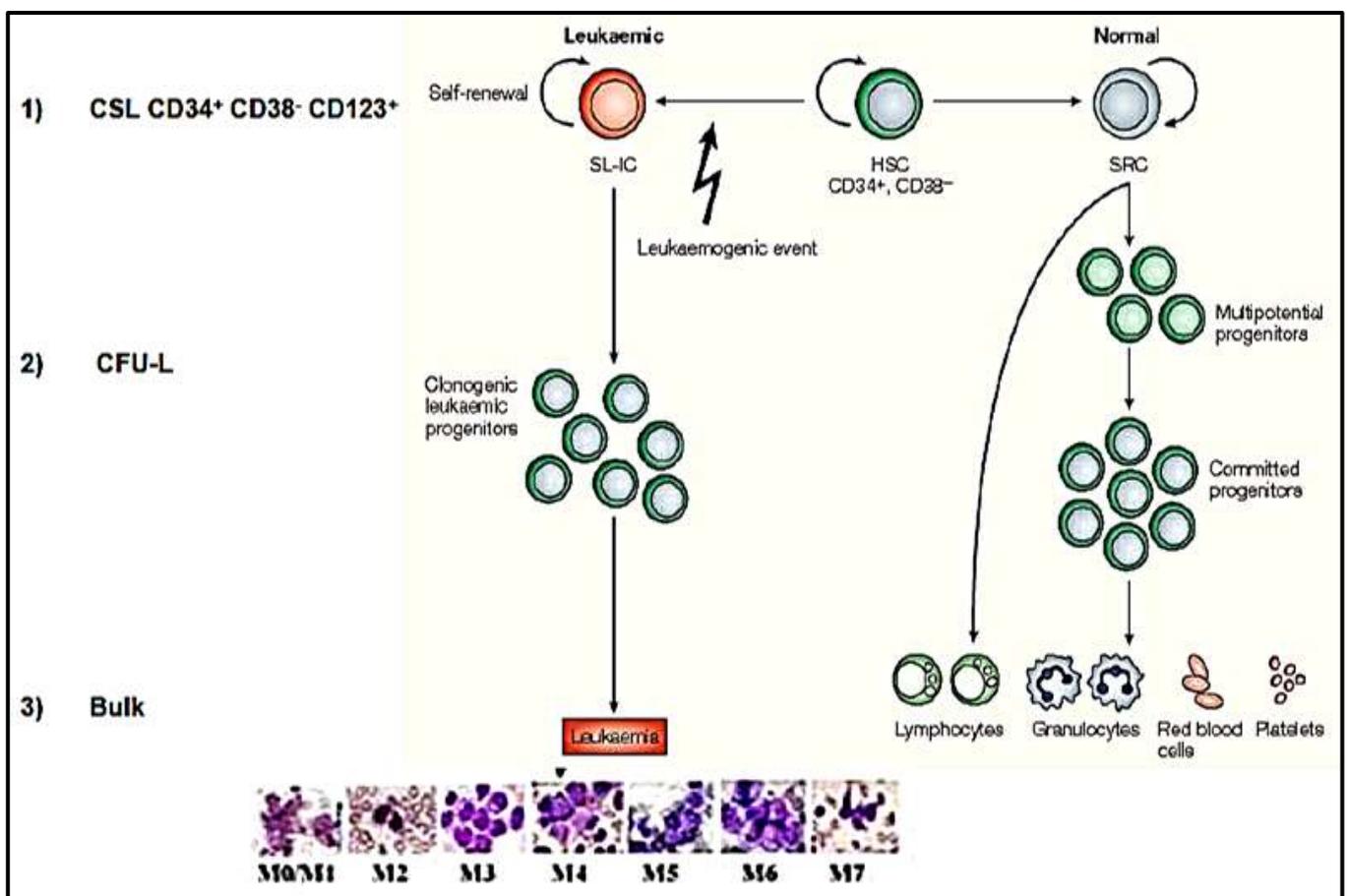
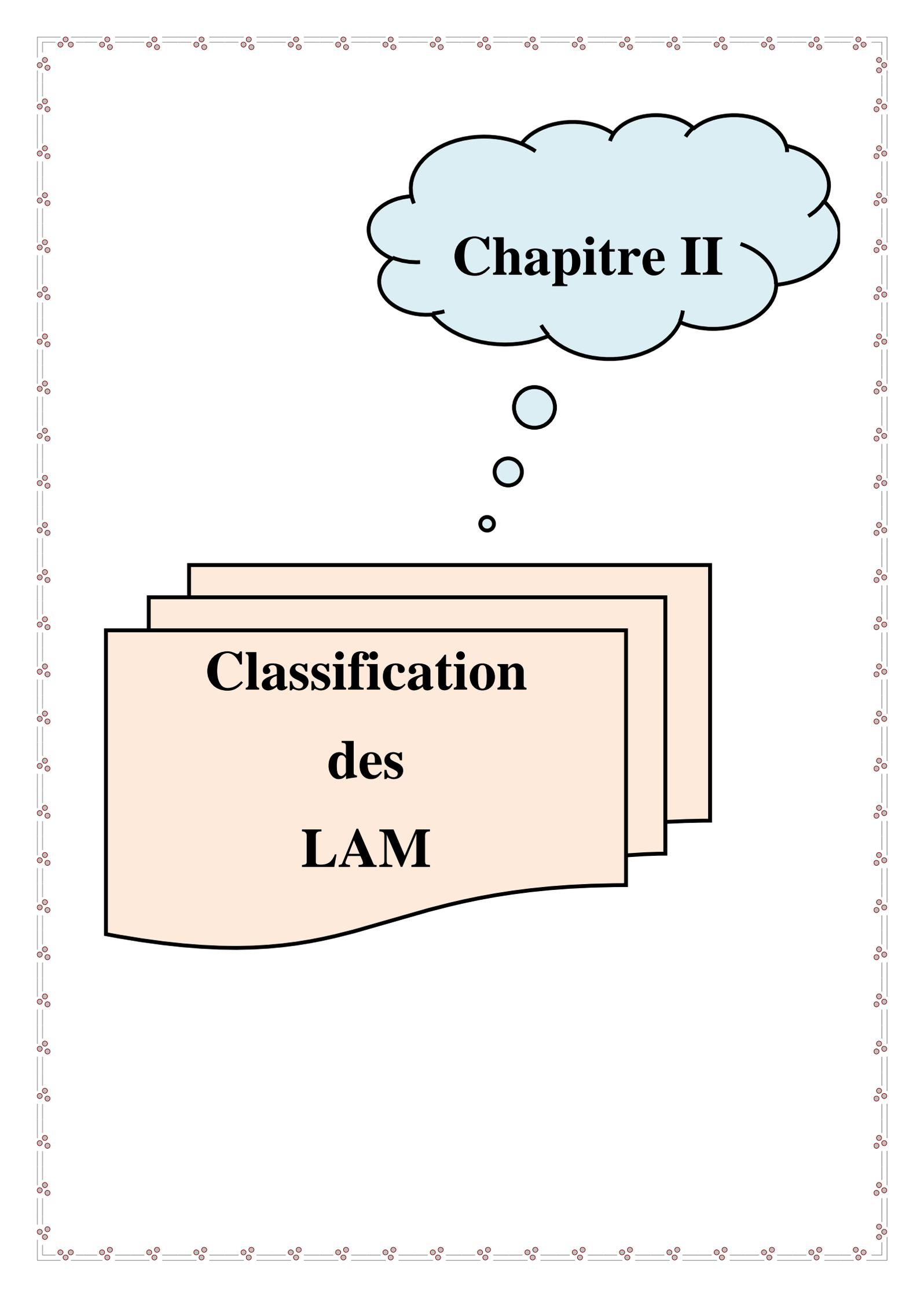
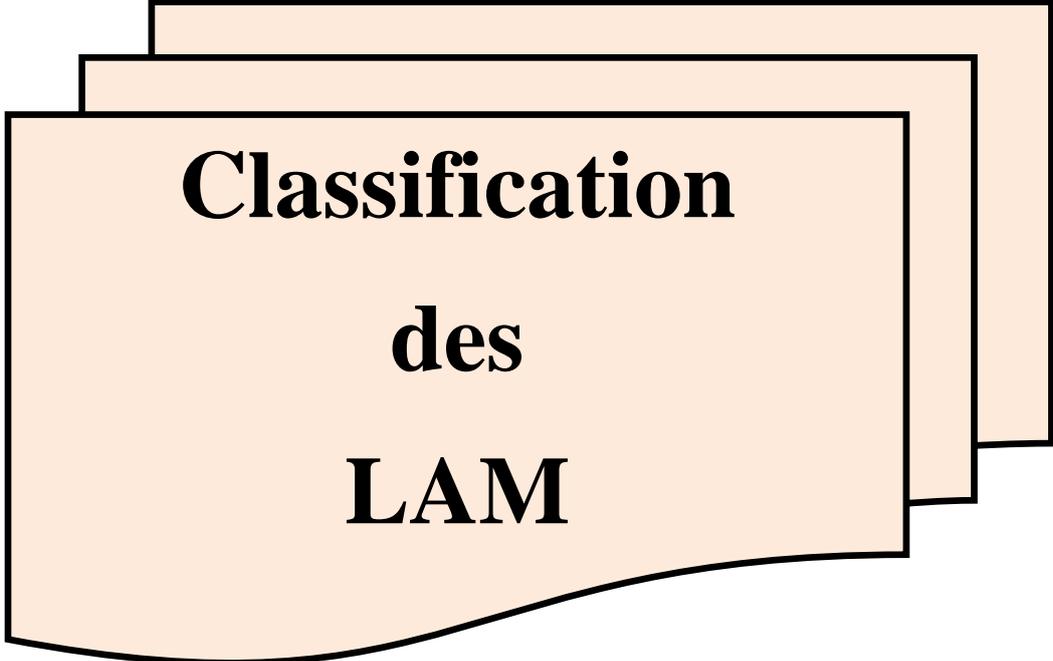


Figure 7 : Les LAM forment une hiérarchie des cellules souches. Il existe de nombreuses similarités fonctionnelles et phénotypiques entre les CSH et les CSL à l'origine du développement des LAM. En effet, à l'instar de sa contrepartie normale, le clone leucémique est organisé de façon hiérarchique en 3 compartiments distincts. **1)** Un compartiment minoritaire de CSL de phénotype CD34+ CD38- CD123+, pour la plupart quiescentes, très résistantes aux agents conventionnels de chimiothérapie mais capables d'auto-renouvellement ou d'engagement dans un processus de prolifération/maturation. **2)** Un compartiment plus mature de progéniteurs leucémiques CFU-L ayant perdu les capacités d'auto-renouvellement mais dotés d'un fort pouvoir clonogénique. **3)** un compartiment majoritaire de cellules leucémiques avec des capacités de différenciation limitée à un stade de différenciation granulo-monocytaire. (Huntley et Gilliland, 2005).



Chapitre II



Classification des LAM

4- Définition des LAM :

Les leucémies sont des pathologies résultantes de la dérégulation de l'hématopoïèse. Elles sont dites aiguës lorsque leur évolution est rapide. La LAM est caractérisée par un envahissement de la MO par une population de cellules myéloïdes immatures ce qui a pour conséquence une insuffisance médullaire. Il existe de nombreux types de LAM, touchant chacune une voie de différenciation hématopoïétique (**voir chapitre 1**). Outre les voies de différenciation, les LAM peuvent être classées selon des critères morphologiques, le caryotype du patient ainsi que les anomalies génétiques associées. Les deux classifications de ces entités pathologiques reconnues sont la classification FAB qui est la plus ancienne, et la classification de l'OMS [61].

En présence d'une LAM, la moelle osseuse produit un nombre incontrôlé de cellules sanguines immatures appelées "myéloblastes" qui sont bloqués à un stade précoce de leur différenciation [62]. L'accumulation de ces cellules "immatures" (cellules leucémiques ou blastiques) empêche la production des autres types cellulaires, ce qui conduit à une anémie (manque de globules rouges et baisse de l'hémoglobine), une neutropénie (manque de polynucléaires) et une thrombocytopenie (baisse des plaquettes). Les cellules leucémiques présentes dans la moelle osseuse ont tendance à passer dans le sang, ce qui permet un diagnostic facile par une Numération Formule Sanguine (NFS), pour un taux de blastes médullaires supérieur à 20 % [63]. La LAM est l'hémopathie la plus fréquente chez l'adulte, mais peut également toucher les enfants. Le terme "aiguë" décrit une progression rapide, et "myéloblastique" indique l'origine myéloïde des cellules leucémiques [64].

5- Classification des LAM :

Les leucémies sont classées en fonction de leurs progression (aiguë pour rapide et chronique pour une progression lente) ainsi que selon l'origine des cellules leucémiques (lymphoïdes pour les LAL ou myéloïdes pour les LAM). La LAM est en outre classée en sous-types. La plupart des cancers et des tumeurs solides sont classés en fonction du type cellulaire, de l'agressivité et la propension à se propager à d'autres organes et tissus. Les classifications des LAM sont cependant basées sur l'apparence des cellules cancéreuses (leucémiques) ainsi que les anomalies génétiques associées.

Il existe deux grands systèmes qui sont utilisés pour classer les LAM en sous-types. Un de ceci est la classification FAB qui était en usage plus tôt et a été remplacée par la nouvelle classification OMS suite l'avènement de l'ère du "moléculaire" (développement des techniques de cytogénétique, de biologie moléculaire et de l'immunophénotypage) [65].

5-1-Système de classification FAB :

La classification FAB a été développée dans les années 1970 par un groupe de français, américains et britanniques experts en leucémies (composé de médecins et de biologistes). On distingue huit types de LAM notés de 0 à 7. Cette distinction est fondée sur l'apparence des cellules leucémiques observées au microscope après coloration par le MGG (**voir tableau 2**).

Selon la classification des sous-types FAB, LAM0 à LAM5 commencent dans les précurseurs des globules blancs. LAM6 prend son origine dans les toutes premières formes de globules rouges et LAM7 commence dans les premières formes de cellules qui donneront les plaquettes [65] (**voir figure 8**).

La classification internationale FAB de 1976, la plus couramment utilisée jusqu' à aujourd'hui (du moins dans les pays en voie de développement), est purement morphologique, elle s'applique en laboratoire quand on ne dispose d'aucun renseignement clinique. Il faut plus de 30 % de blastes dans la moelle osseuse pour définir une leucémie aigüe (on s'adapte aujourd'hui en retenant à un seuil à 20 % de blastes). Ces critères sont définis sur le myélogramme [9].

Selon la Classification FAB huit types ont été proposées en 1976 :

- LAM0 : Indifférenciée, 5 % des cas,
- LAM1 : Myéloblastique sans maturation, 15 % des cas,
- LAM2 : Myéloblastique avec une maturation granulocytaire,
- LAM3 : Promyélocytaire,
- LAM4 : Myélo-monocytaire, 20 % des cas,
- LAM4Eo : Myélo-monocytaire avec éosinophilie,
- LAM5 : Monoblastique (sans différenciation : M5a, avec différenciation : M5b),
- LAM6 : Érythro-leucémie (M6a) ou Érythroblastique (M6b), 5 % des cas,
- LAM7 : Mégacaryoblastique [66].

Les sous-types morphologiques de LAM comprennent également des entités rares qui ne figurent pas dans le système FAB, tels que la leucémie basophile, qui a été proposée comme un neuvième sous-type, M8, en 1999 [67] (**voir annexe 1**).

Tableau 2 : Classification FAB des LAM (*Magda A et al, 2013*).

(Marqueurs myéloïdes (CD13, CD33, CD65, CD14, MyéloPerOxydase (MPO)), marqueurs érythroïdes (GlyA, CD36), marqueurs plaquettaires (CD41, CD61) et HLA-DR (récepteur de classe II du complexe majeur d'histocompatibilité)).

Type FAB	Morphologie	Immunophénotype
M0 (indifférenciée)	Blastes indifférenciés, sans granules, se distingue de M1 et d'une leucémie aiguë lymphoblastique uniquement par immunophénotypage	CD13+ ou CD33+ ou MPO+
M1 (sans maturation)	Prédominance de myéloblastes avec moins de 10% de différenciation granulocytaire	MPO+ CD13/CD33/CD65 +/- CD14-
M2 (avec maturation granuleuse)	Plus de 30% de myéloblastes avec plus de 10% de différenciation granulocytaire, différenciation monocyttaire inférieure à 20%	MPO+ CD13/CD33/CD65 +/- CD14-
M3 (à promyélocytes)	a) Promyélocytes hypergranuleux avec de nombreux corps d'Auer b) Forme variante avec des noyaux multilobés et abondance de promyelocytes hypergranuleux	MPO+ CD13+/CD33+ Normalement CD34- et HLA-DR-
M4 (myélomonocytaire)	Cellules monocytaires avec entre 30% et 80% de monocytes différenciés Variante M4 éosinophile : présence d'éosinophiles immatures	Combinaison de marqueurs M1/M2 et M5
M5 (monocytaire)	Cellules monocytaires avec plus de 80% de monocytes différenciés a) Monoblastiques, faiblement différenciés b) monocyttaire, différenciés	CD13/CD33/CD65/CD14/CD64 +/- HLA-DR +/-
M6 (érythroleucémie)	Plus de 50% d'érythroblastes avec plus de 30% de myéloblastes qui ne sont pas des cellules érythroïdes	Erythroblastes GlyA+ et CD36+ Myéloblastes MPO/CD13/CD33/CD65 +/- CD14-
M7 (mégacaryoblastiques)	Très polymorphe, quelquefois des blastes vacuolés, quelques-uns avec des expansions cytoplasmiques, parfois agrégés avec des plaquettes	CD13/CD33 +/- CD41+ ou CD61+

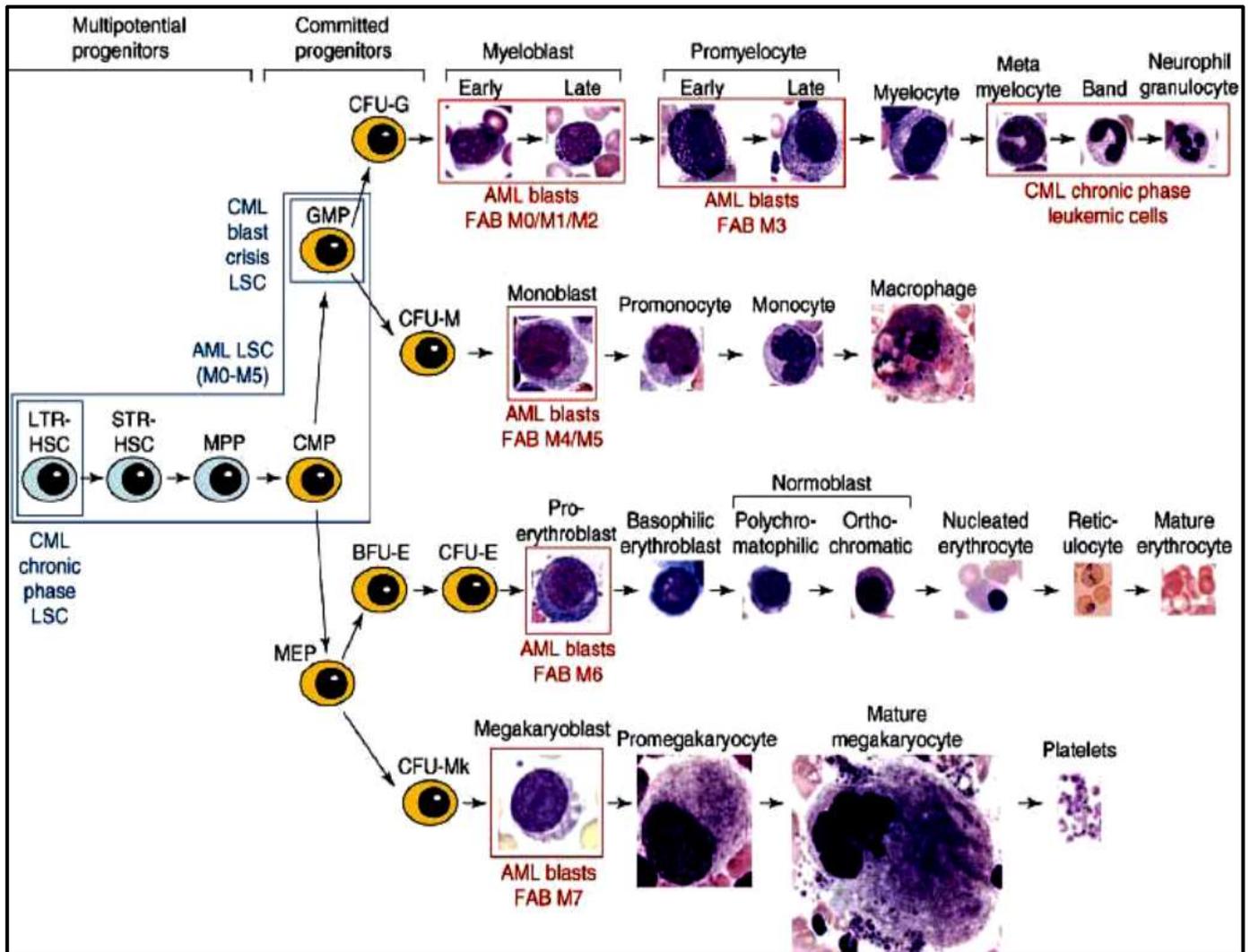


Figure 8 : Diagramme représentant les relations entre le développement myéloïde normal et les cellules leucémiques. Les cellules multi-potentes progénitrices, incluant les cellules souches avec renouvellement à long terme (LT-HSC) ou court terme (ST-HSC) et les progéniteurs multi-potents (MPP) sont représentés en bleu. Les progéniteurs engagés dans un processus de différenciation, comprenant les progéniteurs myéloïdes communs (CMP), les progéniteurs des Granulocytes-Macrophages (GMP), les progéniteurs des Mégacaryocytes et des Érythrocytes (MEP) et les unités formatrices de colonies des granulocytes (CFU-G), des macrophages (CFU-M), des érythroïdes (CFU-E) et des mégacaryocytes (CFU-Mk) sont représentés en orange. Les cellules myéloïdes différenciées, reconnaissables par leur morphologie caractéristique, sont montrées sur la droite du diagramme. Les cellules leucémiques malignes (LAM et LMC (Leucémie Myéloïde Chronique)) sont indiquées par des carrés rouges, et les blastes leucémiques des différentes sous-classes de LAM bloqués à un stade particulier de la différenciation (FAB allant de M0 à M7) correspondent approximativement aux blastes normaux de chaque lignage. À noter que les CSL sont restreintes aux progéniteurs rares multi-potents ou engagés, comme l'indique le carré blanc. (*Krause et al, 2007*).

5-2- Système de classification OMS :

À la fin des années 1990, un groupe d'experts de l'OMS a proposé une ébauche d'une classification des LAM basée sur la présence ou non d'anomalies cytogénétiques récurrentes, les entités de la FAB ne servant plus qu'à dissocier les LAM sans anomalies cytogénétiques récurrentes associées [65].

En 2001, l'OMS a complété la classification FAB en intégrant les données génétiques et cliniques. Les changements principaux concernent le seuil pour la définition de LAM, la création d'entités distinctes selon les anomalies génétiques retrouvées et la prise en compte des antécédents de traitements et/ou de l'existence d'une importante dysplasie.

En effet, la nouvelle classification définit une LAM dès que le taux de blastes est supérieur à 20 % alors qu'auparavant une LAM était définie par 30 % de blastes. La raison de cette évolution est le pronostic similaire des patients avec plus de 30 % de blastes et ceux avec 20 % à 30 % de blastes (diagnostiqués avant 2001 comme atteints de AREB-t (Anémie Réfractaire avec Excès de Blastes en transformation)).

De plus, pour certaines LAM associées aux anomalies $t(8;21)(q22;q22)$, $inv(16)(p13;q22)$ ou $t(16;16)(p13;q22)$ et $t(15;17)(q22;q12)$ le nombre de blastes dans le sang ou dans la moelle n'est plus pris en considération pour le diagnostic de LAM, ces anomalies suffisent à cette définition [68].

Pendant les années d'utilisation de la classification FAB, il a été observé que de nombreux cas de LAM étaient associés à des anomalies génétiques récurrentes qui affectent les voies de signalisation impliquées dans la prolifération et la maturation des cellules myéloïdes. De plus, l'étude de ces anomalies récurrentes a montré que celles-ci ont des valeurs pronostiques et que leur prise en compte pour la thérapie est très pertinente. La classification OMS a donc choisi d'intégrer ces anomalies et ainsi de prendre en compte la réalité clinique et thérapeutique qui en découle.

Par ailleurs, l'observation que les LAM avec antécédents de Syndrome Myélo-Dysplasique (SMD) ou avec antécédents de traitements chimio-thérapeutiques ont des caractéristiques particulières a entraîné la création de deux nouveaux types de LAM : les LAM avec myélodysplasie « multi-lignée » et les LAM ou SMD secondaires à des thérapies. Cette création repose sur l'importante dysplasie caractéristique de ce type de LAM, leur pronostic plus sévère que les LAM sans antécédent, et leur association fréquente à des anomalies génétiques particulières (3q, -7/del(7q), -5/del(5q), +8, 12p,-18, +19, del(20q) et des anomalies caryotypiques complexes).

L'OMS a donc défini 4 grands groupes de LAM : les LAM avec anomalies génétiques récurrentes, les LAM avec signes de dysplasie touchant plusieurs lignées, les LAM secondaires à des traitements chimio-thérapeutiques et les LAM n'entrant pas dans les autres catégories [69].

En effet, si l'évaluation idéale des patients se base sur les anomalies cytogénétiques et/ou moléculaires, ces informations ne sont pas toujours disponibles ou identifiées. Dans ces cas, la classification cyto-morphologique garde son importance et les critères de classement restent basés sur la classification FAB, exception faite de la catégorie M3 qui disparaît et rejoint le groupe des LAM avec anomalies génétiques récurrentes puisqu'il s'agit de LAM associée à une anomalie caryotypique spécifique t(15;17)(q22;q12) (**voir annexe 2**).

En 2008, l'OMS a révisé cette classification en ajoutant de nouveaux critères pour la définition de certains types de LAM et de nouvelles sous-catégories notamment à partir de caractéristiques génétiques récemment découvertes [70].

Dans le type LAM avec anomalies génétiques récurrentes, aux 4 sous-groupes précédemment définis, trois anomalies génétiques ont été ajoutées : LAM avec t(6;9)(p23;q34) ; correspondant à la protéine de fusion DEK-NUP214, LAM avec inv(3)(q21;q26.2) ou t(3;3)(q21;q26.2) ; RPN1-EVII et LAM (mégacaryoblastique) avec t(1;22)(p13;q13) ; RBM15-MKL1. Ces anomalies sont associées à des caractéristiques cliniques et morphologiques qui les identifient comme des entités à part entière.

Mais le challenge de la classification de 2008 est d'inclure des anomalies moléculaires telles que *FLT3*, *NPM1* (Nucléophosmine) et *CEBP α* qui ont de fortes valeurs pronostiques (**voir chapitre 4**) mais qui ne définissent pas un groupe homogène avec des caractéristiques propres et qui se retrouvent très souvent associées à d'autres anomalies. Les LAM avec *NPM1* ou *CEBP α* muté ont donc été ajoutées dans la classification comme entités provisoires. Pour ce qui est du *FLT3* muté, celui-ci étant très souvent associé à d'autres anomalies, il n'a pas été possible de définir une entité en tant que telle mais à cause de sa forte valeur pronostique une détection de cette anomalie est fortement recommandée notamment dans les cas de caryotypes normaux.

Le type LAM avec signes de dysplasie touchant plusieurs lignées s'élargit en devenant LAM associées à une myélodysplasie. Les LAM associées à cette catégorie sont les LAM avec historique de SMD ou SMD/NMP (NMP : Néoplasmes Myélo-Prolifératifs), les LAM avec anomalies génétiques caractéristiques des myélodysplasies et enfin les LAM avec au moins 50 % de cellules dysplasiques dans au moins deux lignées.

Le type LAM/SMD « secondaires » à des traitements chimio-thérapeutiques n'est plus subdivisé selon le type de traitement incriminé, la plupart des patients recevant à la fois des agents alkylants et des inhibiteurs de topoisomérases. Ces LAM ne sont pas associées à des anomalies génétiques particulières mais le fait que les patients aient des pronostics significativement moins bons que les patients avec LAM *de novo* laissent penser que d'autres différences biologiques entrent en jeu, ainsi cette catégorie a été maintenue [71].

Le type LAM n'entrant pas dans les autres catégories a lui aussi évolué. Les cas de leucémies avec différenciation érythroïde ou mégacaryocytaire ont été reclassées dans la catégorie des LAM associées à une myélodysplasie et les cas de LAM mégacaryocytaires associées avec des anomalies génétiques particulières sont reclassés dans le type LAM avec anomalies génétiques récurrentes. Enfin, deux nouveaux groupes ont été créés : les syndromes prolifératifs dus au syndrome de Down et leucémies à cellules dendritiques blastiques plasmocytoïdes (**voir annexe 2**).

Les études moléculaires anomalies génétiques associées aux leucémies ont contribué à caractériser les protéines impliquées dans la leucémogénèse. Cependant, les études morphologiques restent importantes en raison d'une forte corrélation avec des anomalies cytogénétiques et moléculaires associées aux LAM. L'identification d'entités homogènes permettrait le développement et le perfectionnement des stratégies de traitement [72] (**voir figure 9**).

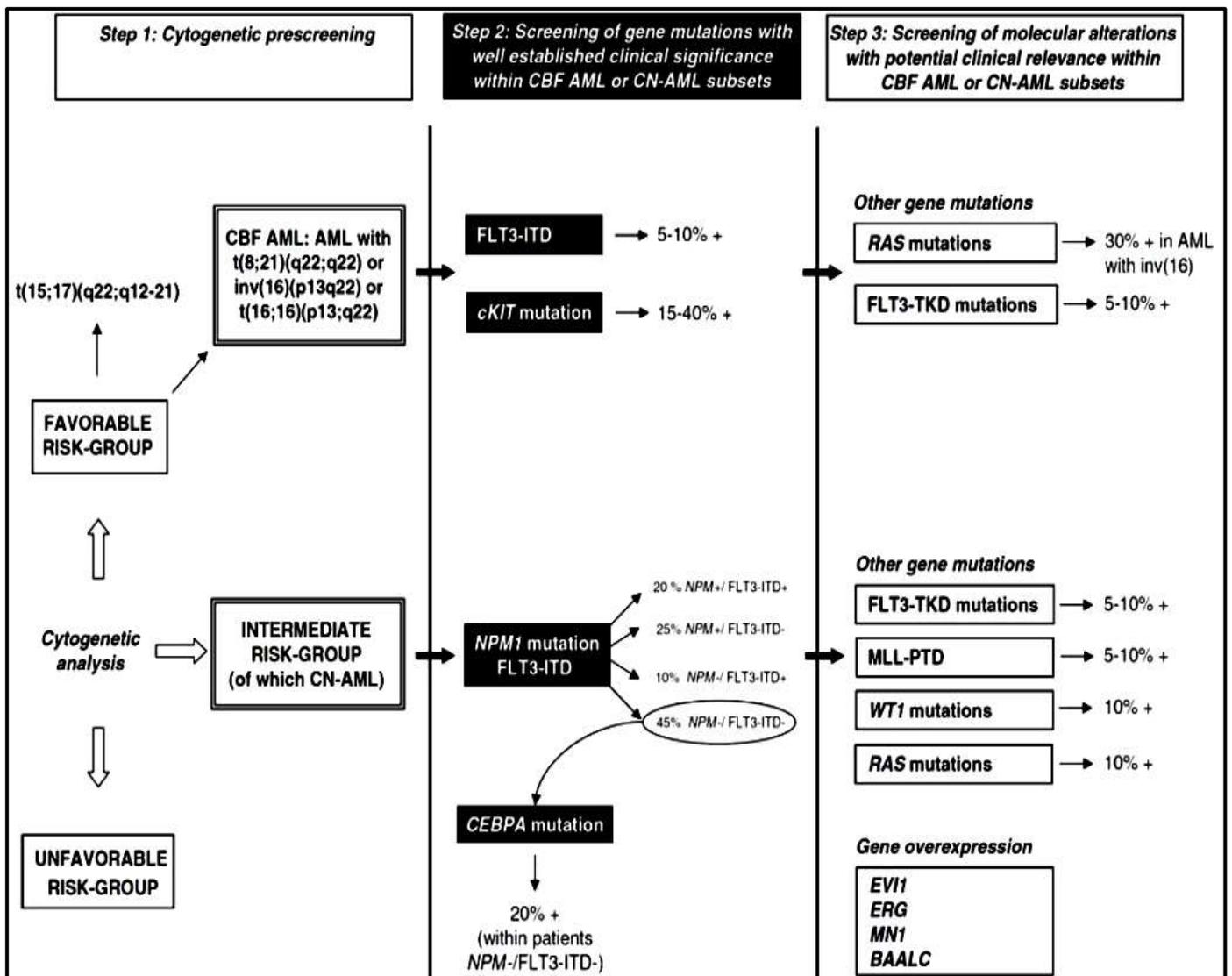
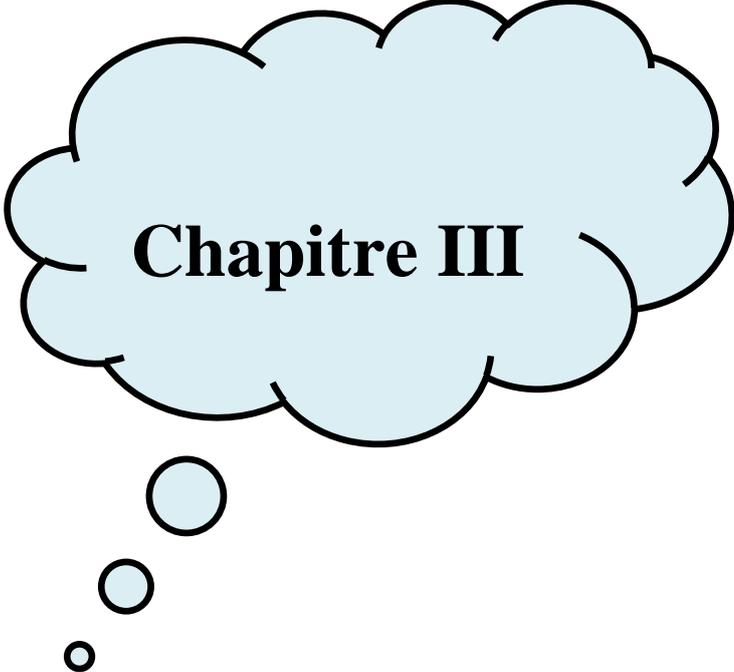
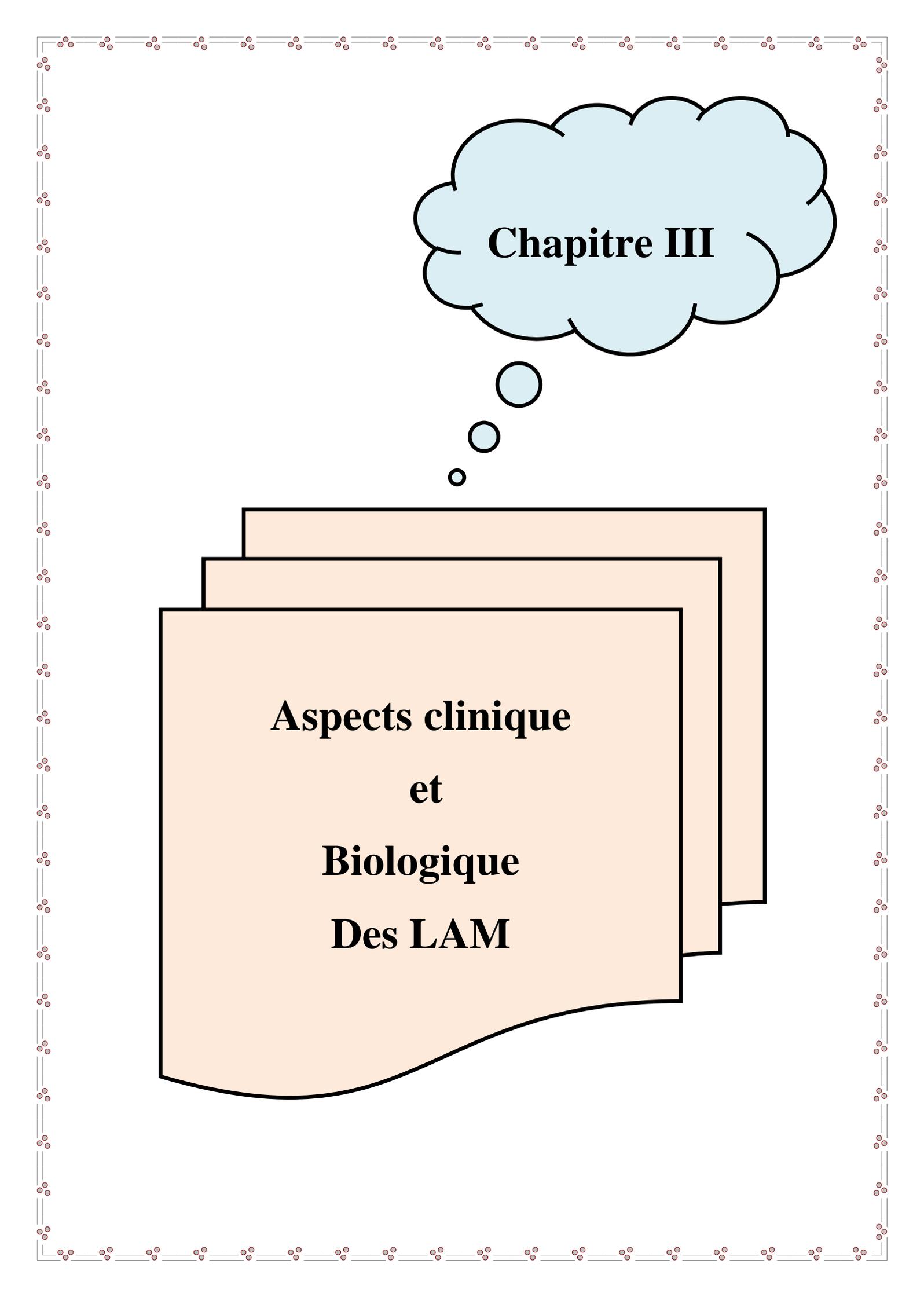


Figure 9 : Prise en compte des anomalies moléculaires pour l'ajustement de la classification cytogénétique des LAM. (*Renneville A et al, 2008*).

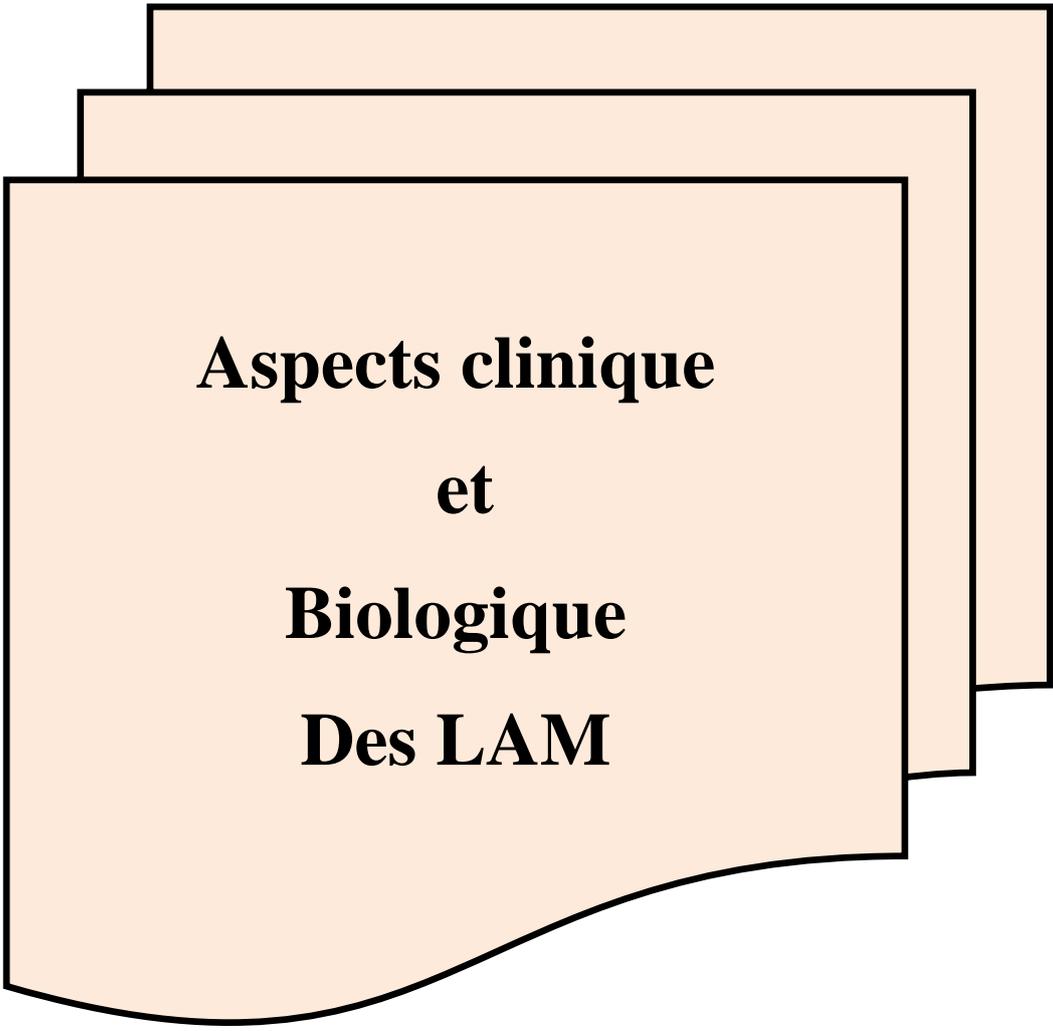
Malgré le développement de nouvelles technologies pour la caractérisation des différentes entités de LA [73, 74 et 75], on continue à utiliser dans beaucoup de pays en voie de développement les recommandations anciennes de la classification FAB, mise au point en 1976 et basée sur des caractéristiques morphologiques et cytochimiques [76].

Cette nouvelle classification OMS est moins une remise en cause de la classification FAB qu'une évolution réaliste dans laquelle la morphologie demeure l'outil central de première intention ; cet outil, s'il reste absolument nécessaire, s'associe aux nouvelles approches complémentaires dont l'importance est maintenant démontrée sur le plan du diagnostic et parfois même plus encore sur celui du pronostic.

Les classifications des LAM sont en pleine évolution du fait de la caractérisation de plus en plus fine des événements cytogénétiques et moléculaires et ainsi de nouvelles classifications vont apparaître [77].



Chapitre III



**Aspects clinique
et
Biologique
Des LAM**

6- Épidémiologie :

Environ 200 registres généraux de cancers, actuellement actifs dans le monde, sont utilisés pour recueillir de nouveaux cas de tumeurs malignes selon les critères de la Classification Internationale des Maladies-Oncologie (CIM-O). Néanmoins, les connaissances sur les hémopathies en générale sont relativement récentes, et évoluent rapidement. Les classifications ont donc été régulièrement modifiées, mais pas toujours avec une acceptation unanime. Cela a créé des difficultés pour les épidémiologistes qui souhaitent enregistrer des données sur les différentes entités. Les hémopathies malignes ont souvent été analysées comme de grandes catégories telles que « la leucémie myéloïde » ou « leucémie non spécifiée » mélange de la leucémie aiguë et d'autres hémopathies myéloïdes [78].

La classification de l'OMS des hémopathies malignes publiée en 2001 et révisée en 2008, intègre des aspects cliniques, biologiques, pathologiques et pronostiques a été largement adoptée dans le monde entier de par sa pertinence. En outre, elle a été élaborée pour permettre la correspondance avec la troisième version de la Classification CIM-O-3, permettant ainsi l'amélioration de la qualité des données enregistrées sur ces maladies [79].

L'un des principaux objectifs d'un registre spécialisé est de recueillir des informations aussi détaillées que possible et de fournir des données épidémiologiques sur les sous-types bien définis de maladies. En hématologie, on dénombre que très peu de ces registres. Le premier registre spécialisé des hémopathies malignes dans le monde a été créé en 1980 en Côte d'Or, dans la région française de Bourgogne [80].

6-1- Données à l'échelle mondiale :

Les leucémies aiguës sont des maladies rares, survenant à une fréquence d'environ 4 à 5 nouveaux cas par an pour 100 000 habitants dont 90 % chez l'adulte. Il existe une légère prédominance masculine (le sex-ratio homme-femme environ 3/2). La LAL survient avec une plus grande fréquence chez l'enfant et l'adolescent (près de 60 % des cas en dessous de 20 ans). La LAM s'observe surtout chez l'adulte (90 % des cas au-delà de 20 ans). Sa fréquence croît avec l'âge, la moitié des cas étant diagnostiqués après l'âge de 60 ans [81].

La LAM est globalement une maladie rare ; au total, 2 à 3 patients sur 100 000 habitants la contractent dans les pays occidentaux, avec toutefois une nette augmentation vers 15 à 25 pour 100 000 au sein du groupe croissant des 70 à 85 ans. L'âge moyen de survenue de la maladie est de 72 ans, près des deux tiers de tous les patients atteints de LAM ont plus de 65 ans. Chez environ un tiers de tous les patients, en particulier les plus âgés, le diagnostic est précédé d'une autre maladie hématologique ou oncologique traitable.

En Suède, dont le nombre d'habitants et la prise en charge médicale sont comparables à ceux de la Suisse, 0,2 % de toutes les hospitalisations et 0,6 % de la totalité des coûts stationnaires d'hôpitaux sont liés au diagnostic de LAM [82].

Les LAM, avec une incidence globale de l'ordre de 3 pour 100 000 habitants par an en France, sont pour la majorité des pathologies de l'adulte ; leur incidence augmente régulièrement avec l'âge ; l'âge médian de survenue est de 65 ans, ce qui rend compte de leur fréquence chez les sujets âgés [63]. Leur pronostic est très variable d'une forme à une autre. En France, en 2005, le nombre de nouveaux cas de leucémies a été de 6 306 (3 513 pour les hommes et 2 793 pour les femmes). La même année, la mortalité par leucémie a été de 3 792 décès (2 035 chez les hommes et 1 757 chez les femmes) [83].

Aux États-Unis. Il y'a environ 10 500 nouveaux cas chaque année, et le taux d'incidence est restée stable de 1995 à 2005. Les LAM représente 1,2 % de tous les décès par cancer aux États-Unis [40]. L'incidence de la LAM augmente avec l'âge ; l'âge médian au moment du diagnostic est de 63 ans. Les LAM représentent environ 90 % de toutes les leucémies aiguës de l'adulte, mais est rare chez les enfants [81]. La LAM est légèrement plus fréquente chez les hommes, avec un ratio mâle-femelle de 1,3-1 [84].

Il y'a une certaine variation géographique de l'incidence de la LAM. Chez les adultes, les taux les plus élevés sont observés en Amérique du Nord, en Europe et en Océanie, alors que les LAM de l'adulte est plus rare en Asie et en Amérique latine [85, 86]. En revanche, la LAM de l'enfant est moins fréquent en Amérique du Nord et en Inde que dans d'autres parties de l'Asie. Ces différences peuvent être dues à la génétique des populations, les facteurs environnementaux, ou une combinaison des deux [87].

6-2- Données relative à la population algérienne :

L'incidence en Algérie des différentes hémopathies a été pendant de nombreuses années impossibles à estimer en raison du nombre insuffisant de structures spécialisées et de l'étendue du pays. Actuellement de nombreux services se sont développés au niveau du territoire national, dont 12 de statut hospitalo-universitaire harmonieusement réparties au Nord du pays, ce qui a permis un meilleur accès des patients au diagnostic et au traitement et par la même une meilleure connaissance épidémiologique [88]. Parmi les hémopathies malignes, les LAM ont une incidence globale de 0,53 pour 100 000 habitants, ce qui est faible par rapport aux pays occidentaux (actuellement de 3/100 000 habitants en France). Cependant on a pu observé un doublement entre 1995 et 2005, avec une incidence qui passe de 0,33 à 0,67. L'âge médian des patients est de 39 ans alors qu'il est de 63 ans dans les pays occidentaux. Cela peut s'expliquer par la " jeunesse " relative de la population Algérienne [88].

L'étude la plus complète jamais réalisée sur l'incidence des LAM est une étude multicentrique, rétrospective, menée sur une période de 11 ans, allant de 1995 à 2005. Mille huit cent soixante-dix-sept (1 877) cas de LAM ont été recensés dans cette étude, au niveau de 10 services d'hématologie (CPMC : 303, Beni Messous : 157, HCA de Ain naadja : 58, Blida : 328, Tizi Ouzou : 107, Oran : 142, Sidi Bel Abbes :69, Annaba :198, Constantine : 159, Sétif : 236), et 3 services de pédiatrie (Sétif : 40, Bab El Oued : 05, Tizi Ouzou : 04). Ces patients se répartissent entre 978 (52,1 %) de sexe masculin et 899 (47,9 %) de sexe féminin avec un sex ratio de 1,08 [89] (voir figure 10).

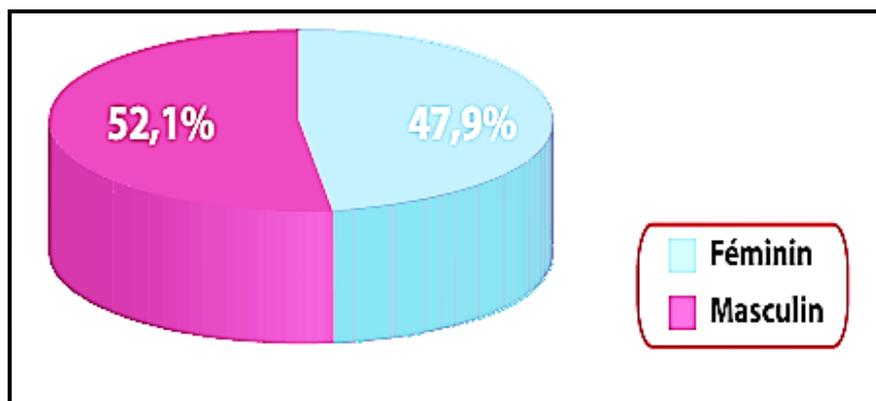


Figure 10 : Répartition selon le sexe de l'incidence des LAM en Algérie. (Revue Algérienne d'Hématologie, 2009).

L'âge médian est de 39 ans (1-89). La répartition par tranches d'âge montre une prédominance du sujet jeune en accord avec la pyramide des âges en Algérie : 685 (36,5 %) ont moins de 20 ans, 1 012 (54 %) entre 20 et 60 ans, 180 (9,5 %) ont plus de 60 ans [89] (voir figure 11).

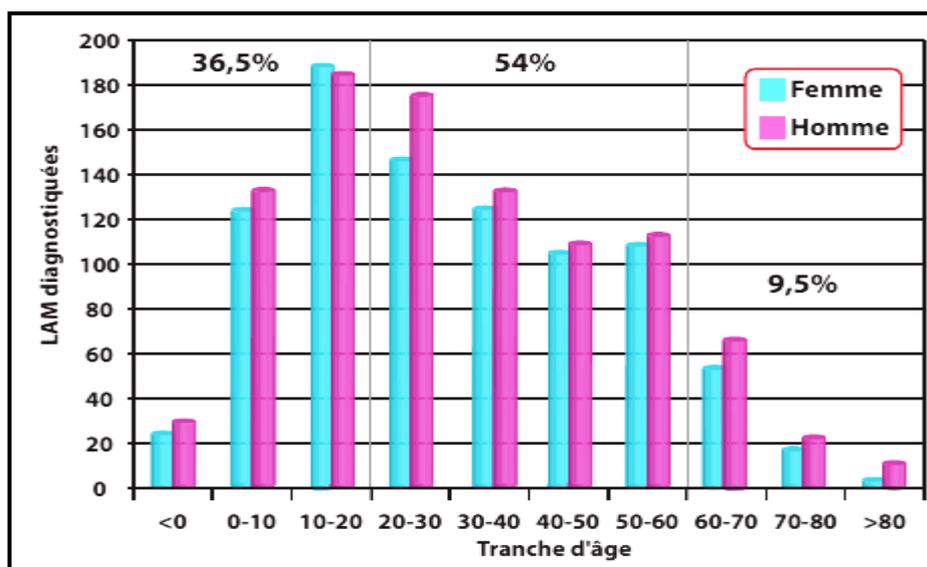


Figure 11 : Répartition par tranches d'âge de l'incidence des LAM en Algérie. (Revue Algérienne d'Hématologie, 2009).

Le recrutement annuel moyen se répartit grossièrement en deux phases : autour de 100 par an avant l'an 2000 et 200 en moyenne par an de 2001 à 2005 [89] (voir figure 12).

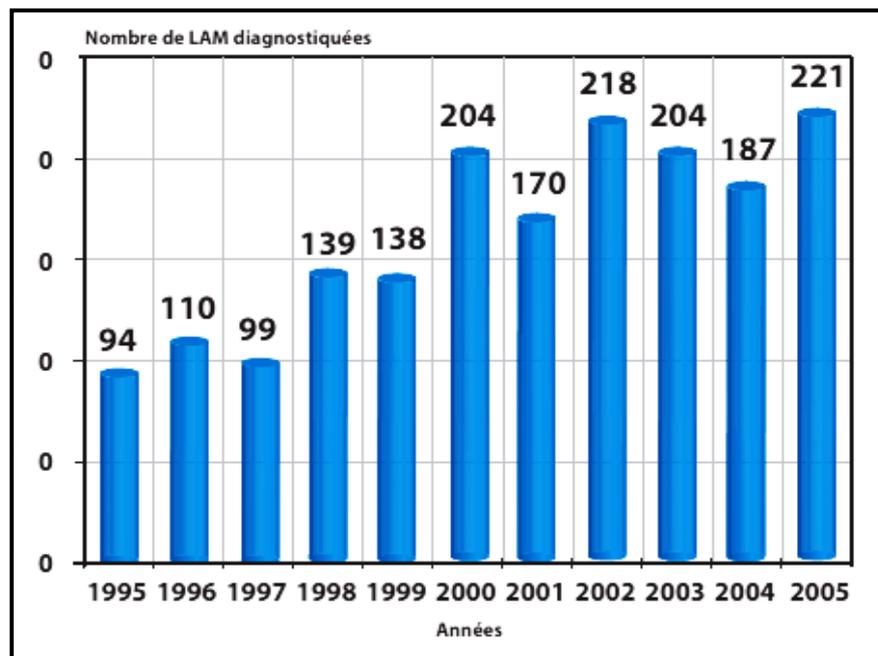


Figure 12 : Évolution par année (1995 - 2005) de l'incidence des LAM en Algérie. (Revue Algérienne d'Hématologie, 2009).

La répartition géographique des patients en fonction de leur lieu de résidence montre une grande majorité d'entre eux originaire du Nord du pays en particulier du centre (42,8 %) et de l'Est (31,5 %). Les patients issus du Sud représentent seulement 6,6 % [89] (voir figure 13).

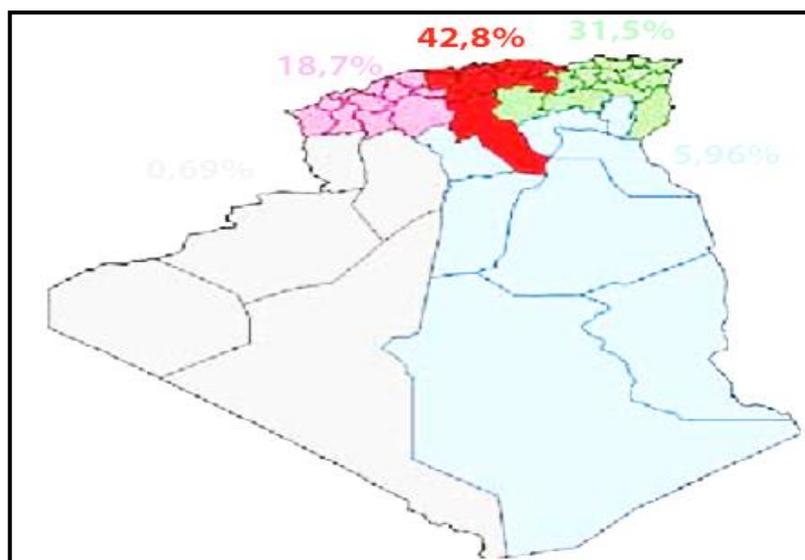


Figure 13 : Répartition géographique de l'incidence des LAM en Algérie. (Revue Algérienne d'Hématologie, 2009).

Le taux d'incidence, calculé en fonction des données de l'Office National des Statistiques (ONS) en Algérie, est de 0.53/100 000 habitants. Ce taux a doublé en l'espace de 10 ans (0,33 en 1995 ; 0,67 en 2005) [89] (voir tableau 3).

Tableau 3 : Incidence annuelle des LAM en Algérie (Revue Algérienne d'Hématologie, 2009).

Année	Nombre	Population	Incidence
1995	94	28074000	0,33482938
1996	110	28602000	0,38458849
1997	99	29152000	0,33959934
1998	139	29726000	0,46760412
1999	138	30321000	0,45513011
2000	204	30417249	0,67067209
2001	170	30871734	0,55066554
2002	218	31332033	0,69577356
2003	204	31795720	0,64159579
2004	187	32261568	0,57963705
2005	221	32728378	0,67525497
Total	1784		0,53321367

En ce qui concerne les moyens mis en place pour le diagnostic, la cytologie a été utilisée chez 1 853 patients (99 %), la cytochimie chez 1 180 patients (62 %), l'immuno-marquage chez 242 patients (11 %). Seuls 8 patients (0,4 %) ont bénéficié d'une étude cytogénétique.

Ces moyens ont permis une répartition des LAM en fonction de la classification FAB basée sur l'aspect morphologique, cytochimique et immunologique. Le type avec maturation (M2) représente un tiers de l'ensemble des LAM [89] (voir tableau 4).

Tableau 4 : Répartition des différents types de LAM en Algérie selon la classification FAB. (Revue Algérienne d'Hématologie, 2009).

Type	Nombre	%
M0	22	1,1
M1	308	16,4
M2	639	34
M3	159	8,4
M4	222	11,8
M5	296	15,7
M6	60	3,1
M7	19	1,0
Indéterminé	152	8,0

7- Étiologie :

L'étiologie des hémopathies malignes en générale et des LAM en particulier demeure, pour la plupart des cas, assez mal définie. Comme toutes les pathologies cancéreuses, il est admis que les LAM ont une origine génétique et environnementale mais la contribution relative de chacun des deux composants de cette équation est assez difficile à estimer [90, 91 et 92]. La littérature rapporte que les facteurs de risque établis des hémopathies malignes à l'heure actuelle opposent les entités myéloïdes (expositions au benzène, aux radiations ionisantes à forte dose et aux chimiothérapies anticancéreuses) [93] et lymphoïdes (déficits immunitaires congénitaux ou acquis, infections virales ou bactériennes) [94]. Aujourd'hui, un certain nombre de facteurs de risque ont pu être clairement identifiés comme augmentant le risque de LAM (l'effet leucémogène du benzène et de certains solvants organiques [94, 95 et 96], des radiations ionisantes à forte dose, est particulièrement bien décrit [97, 98]) alors que d'autres facteurs ne sont que suspectés (radiations électromagnétiques, les pesticides, le radon et le tabac) [99].

En général, dans une approche étiologique des LAM, il faut faire la distinction entre deux types :

- Les LAM *de novo* qui surviennent d'emblée, sans qu'on puisse mettre en évidence un facteur de risque précis. Les facteurs de risque suspectés peuvent être objectivés en trois grands groupes : constitutionnels, acquis et environnementaux [100].
- Les LAM secondaires qui surviennent soit après une exposition à des facteurs prédisposants tels que des agents toxiques [101] ou thérapeutiques soit dans l'évolution d'une autre hémopathie maligne [102].

On connaît de nombreux facteurs favorisants, qu'on différencie classiquement en facteurs génétiques (anomalies constitutionnelle du génome) et acquis (pathologies favorisantes, infections virales ou bactériennes et exposition à des facteurs environnementaux essentiellement chimiques) [103].

7-1- Les facteurs constitutionnels (génétiques) :

Chez les enfants, les troubles génétiques constitutionnels sont des facteurs de risque importants associés avec la LAM [92]

La trisomie 21 constitue le facteur de risque majeur de leucémie chez l'enfant (un risque de 10 à 20 fois supérieur de développer une LA par rapport à la population générale) [104]. Parmi les autres pathologies génétiques constitutionnelles, on peut citer le syndrome de Klinefelter le syndrome de Bloom, l'anémie de Fanconi, le syndrome de Schwachman-Diamond, la maladie de Kostman, le syndrome de Wiskott-Aldrich, l'ataxie-télangiectasie, la neurofibromatose de Recklinghausen, l'ostéogénèse imparfaite et le syndrome de Li- Fraumeni [90, 105].

Les antécédents familiaux sont rarement évoqués dans les LAM. En effet, le risque est augmenté d'un facteur 2 à 4 en cas de leucémie aigüe dans la fratrie. Il devient très élevé pour le jumeau vrai d'un enfant atteint de LA : 20 % si la leucémie aigüe est apparue avant l'âge de 6 ans et 100 % si elle est apparue avant 1 an [106, 107 et 108].

7-2- Les facteurs acquis :

a- Pathologies : La présence d'antécédents d'hémopathie maligne peut être évoquée dans la recherche d'une étiologie des LAM. En effet, les LAM secondaires surviennent parfois à la suite de l'évolution d'un état pré-leucémique (SMP ou SMD) ou de certaines hémopathies chroniques (maladie de Vaquez, thrombocytémie essentielle, splénomégalie myéloïde, leucémie lymphoïde chronique, le myélome, l'hémoglobinurie paroxystique nocturne, les lymphomes non hodgkiniens, mais aussi certaines aplasies médullaires). [106, 107 et 108].

b- Infections : Le rôle des agents infectieux a très souvent été évoqué et parfois confirmé dans l'apparition des LAL (HTLV-1 (Human T-Cell Leukemia Virus-1) et leucémie/lymphome T de l'adulte, le virus d'Epstein-Barr et les lymphomes de Burkitt). Cependant, aucun virus spécifique n'a jamais été mis en cause dans les LAM. Même si une association entre l'exposition à certains virus et le développement des LAM a été suggérée, aucun virus n'a été mis en évidence dans leur étiologie. [106, 107 et 108]. Le parvovirus B19 pourrait jouer un rôle dans la pathogenèse des LAM [103].

c- Facteurs environnementaux : Il a été décrit dès 1928 que l'exposition au benzène peut entraîner diverses hémopathies et notamment des LAM (reconnues comme maladies professionnelles si l'exposition à cette substance s'est produite dans les usines de production de vernis, peintures, émaux, plastiques, encres, pneus, lubrifiants, colorants, détergents, explosifs pour une durée supérieure à un an).

L'exposition aux radiations ionisantes est également reconnue comme facteur étiologique, notamment depuis l'étude de 82 000 personnes suite aux explosions nucléaires d'Hiroshima et Nagasaki.

Il est désormais admis que le tabagisme et l'utilisation de pesticides peuvent être des cofacteurs de la leucémogénèse. L'augmentation du risque de LAM chez les fumeurs, évoquée dès les années 1970, a été récemment confirmée par une étude américaine, avec un risque relatif de 1,4 à 2 selon la consommation de tabac, et une prédominance de certains sous-types cytogénétiques notamment la t(8;21).

Le lien entre utilisation de pesticides et la survenue de lymphomes est bien argumenté ; pour ce qui est des LAM, il semble que le risque soit lié plus précisément à l'usage d'insecticides organochlorés et organophosphorés. Une exposition prénatale à différents pesticides est associée au développement de leucémies avec t(8;21) chez l'enfant, et une étude Belge a mis en évidence une augmentation d'incidence de LAM (avec un sur-risque évalué à plus de 6) chez des agriculteurs utilisateurs de pesticides et plus particulièrement de dibenzodioxines et dibenzofuranes polychlorinés.

Un autre facteur environnemental est l'exposition aux ondes électromagnétiques : une étude montre qu'une exposition supérieure à 0,4 μ Tesla multiplie par deux le risque de survenue d'une leucémie ; une étude Suisse met en évidence une relation directe entre risque leucémique et la quantité d'exposition aux champs électromagnétiques de basse fréquence.

Enfin, un autre facteur favorisant est le niveau socio-économique élevé. Des études ont rapportées qu'un surpoids ou une obésité entraîne un risque relatif de 1,52 [108, 109].

8- Aspects cliniques des LAM :

Les signes cliniques des LAM sont non spécifiques et pour la plupart attribuables à l'envahissement médullaire par les blastes leucémiques. En effet, les anomalies génétiques retrouvées dans ces blastes rendent leur maturation impossible et leur prolifération augmentée. Cette accumulation entraîne une inhibition de la différenciation des progéniteurs sains par un encombrement physique de l'espace médullaire et la production de nombreuses cytokines inhibitrices. Ceci se traduit par une insuffisance médullaire entraînant une anémie, une neutropénie et une thrombopénie avec comme conséquences cliniques une grande fatigue, des infections et des hémorragies. D'autres symptômes peuvent être attribués à l'infiltration par les blastes du foie, de la rate, de la peau, des ganglions, des os, des gencives et du système nerveux central [110].

8-1- Signes liés à l'insuffisance médullaire :

Les signes d'insuffisance médullaire ne sont pas spécifiques des LAM. Le syndrome anémique est d'importance variable et peut associer les symptômes habituels (asthénie, troubles neurosensoriels et cardio-vasculaires) ou des signes physiques (pâleur, signes cardio-vasculaires). Les infections liées à la neutropénie sont souvent révélatrices et font actuellement toute la gravité de ces hémopathies. Les signes hémorragiques liés à la thrombopénie peuvent également être révélateurs. La thrombopénie n'est plus la cause principale de décès à la phase initiale du traitement des LA depuis l'utilisation thérapeutique et prophylactique des transfusions de plaquettes.

Les complications hémorragiques peuvent être dues à d'autres troubles de coagulation, principalement à des syndromes de Coagulation Intra-Vasculaire Disséminée (CIVD). Ces syndromes correspondent à l'activation pathologique de la coagulation par les blastes leucémiques. Ils entraînent une consommation excessive des facteurs de coagulation. Ils sont principalement rencontrés dans les leucémies aiguës à promyélocytes [81].

8-2- Signes liés à l'invasion tumorale :

Les manifestations tumorales sont moins fréquentes que dans les leucémies aiguës lymphoblastiques [63]. Il peut s'agir :

- D'une hypertrophie des organes hématopoïétiques : la splénomégalie est la plus fréquente, de volume modéré, parfois associée à une hépatomégalie, les adénopathies sont plus rares surtout superficielles.
- D'une hyperplasie gingivale et l'atteinte cutanée (infiltrats ou nodules enchâssés dans le derme, indolores, rouge violacé) qui sont inconstantes mais très évocatrices.
- D'une atteinte neuro-méningée est rare au début, c'est une méningite leucémique découverte par ponction lombaire en présence de signes méningés ou de la paralysie d'un nerf crânien.
- D'autres atteintes sont plus rares (signes pulmonaires) [110].

9- Aspects biologiques des LAM :

Le diagnostic des LAM se base sur les caractéristiques des blastes leucémiques. Il nécessite un examen des frottis sanguins et médullaires par des cytologistes entraînés. Le bilan minimal doit comporter une étude morphologique (critères FAB et signes de dysplasie) et cytochimique (peroxydases), une étude cytogénétique de la moelle (classique et moléculaire), une étude en biologie moléculaire (réarrangements géniques résultants des anomalies chromosomiques) [81].

9-1- Hémogramme :

L'anémie est constante, normochrome, normocytaire. Non régénérative, souvent importante, la leucocytose est variable, souvent augmentée (de 15 à $40 \times 10^9/L$) mais il existe des formes très hyper-leucocytaires ou, au contraire, leucopéniques, la neutropénie est constante. La formule leucocytaire montre la présence de cellules blastiques, circulantes, en proportion d'autant plus importante que la leucocytose est élevée. Il n'y a pas de formes intermédiaires entre les blastes et les polynucléaires (hiatus leucémique). Une thrombopénie est présente dans 90 % des cas [110].

9-2- Myélogramme :

Le diagnostic de LAM repose sur l'analyse cytologique des cellules blastiques. Cette analyse microscopique nécessite donc la réalisation d'un myélogramme qui permet de confirmer le diagnostic de LA (moelle riche avec diminution voire disparition des lignées normales et présence de cellules blastiques par définition > à 30 %) et de préciser la nature myéloblastique de la prolifération et son type selon la classification FAB. L'analyse d'un frottis sanguin est toujours couplée au myélogramme :

- Elle permet d'apprécier l'importance de la blastose périphérique et des cytopénies,
- Elle permet aussi de détecter la présence éventuelle d'une monocytose, d'une myélémie, d'une hyper-basophilie, d'une hyper-éosinophilie ou d'une érythroblastose permettant d'orienter vers certains sous-types cytologiques ou pronostiques [63].

9-3- Cytochimie :

Cette analyse réalisée après coloration au MGG, des frottis et complétée par une étude cytochimique est utile en cas de diagnostic cytologique difficile en permettant :

- D'affirmer le diagnostic de LAM de par la présence de myéloperoxydase dans le cytoplasme d'au moins 3 % des cellules blastiques),
- De confirmer la présence d'un contingent monoblastique (LAM4 ou LAM5) par la positivité de la recherche d'estérases, inhibée par le fluorure de sodium. De même l'augmentation du lysozyme sanguin et/ou urinaire s'observe dans ces formes de LAM avec un contingent monoblastique [63].

9-4- Immunophénotypage :

Son principe repose sur l'étude de la présence de marqueurs de surface révélés par des anticorps monoclonaux. Ces marqueurs sont aussi appelés antigènes de différenciation ou CD car leur expression (ou leur absence d'expression) correspond à des étapes données de la différenciation des progéniteurs hématopoïétiques. La technique utilisée est la cytométrie de flux qui permet de déterminer le pourcentage de cellules exprimant un marqueur donné [111].

Le phénotype des cellules leucémiques est hétérogène dans les LAM, il est rarement indispensable au diagnostic, mais il permet de préciser la différenciation des blastes. Les marqueurs de surface les plus fréquemment retrouvés sont : CD117 (récepteur pour le c-Kit), CD34, HLA-DR, CD33, CD13, CD11. On peut trouver (10 % des cas) l'expression aberrante de certains marqueurs lymphoïdes (CD2, CD7, CD19) ou plus rarement, l'association de marqueurs myéloïdes et lymphoïdes (LA bi-phénotypique). Les marqueurs CD33, CD13, CD117, et MPO intra-cytoplasmique sont les plus importants pour affirmer l'origine myéloïde [110].

9-5- Cytogénétique :

L'analyse cytogénétique est aujourd'hui une part entière du diagnostic des LAM. En effet, 55 % des patients ont des anomalies caryotypiques et 7 translocations et inversions chromosomiques récurrentes sont répertoriées dans la catégorie LAM avec anomalies génétiques récurrentes par la classification de l'OMS 2008. Cette caractérisation permet de déterminer les facteurs pronostiques des patients. Un minimum de 20 cellules en métaphase doit être analysé pour établir un diagnostic de LAM avec caryotype normal ou un caryotype avec une anomalie récurrente. Le caryotype, effectué sur cellules médullaires par examen direct des mitoses ou après culture courte montre des anomalies dans 75 à 100 % des cas selon les types cytologiques ; ces anomalies sont acquises et clonales. Elles constituent un marqueur des cellules leucémiques et témoignent d'un remaniement du matériel génétique. Ce sont des anomalies de nombre et/ou de structure. Certaines sont spécifiques d'un sous-type cytologique particulier de LAM.

- Les anomalies de nombre les plus fréquentes sont la trisomie 8 (25 % des cas), isolée ou associée à une anomalie spécifiques : t(8;21) et LAM2, isolée ou associée à la perte d'un chromosome sexuel, t(15;17) et LAM3, réarrangements du chromosome 11 et un autre partenaire et l'inversion du chromosome 16 et LAMeo.
- Des anomalies récurrentes non spécifiques peuvent aussi s'observer : anomalies du chromosome 3 et dys-mégacaryopoïèse, t(6;9) et LAM2 ou LAM4 avec basophiles. La t(9;22) est rare dans les LAM (2 %), se rencontre le plus souvent dans les LAM1. Des anomalies complexes (au moins 3 anomalies) sont habituelles dans les LAM secondaires.

De nombreuses anomalies cytogénétiques peuvent échapper au caryotype classique et n'être mise en évidence que par cytogénétique moléculaire, hybridation in situ ou peinture chromosomique [110].

9-6- Biologie moléculaire :

L'hybridation de fluorescence in situ (FISH) permet de détecter des anomalies génétiques qui ne sont pas révélées par l'analyse caryotypique standard. Les techniques de PCR (Polymerase Chain Reaction) permettent de détecter les mutations ponctuelles retrouvées dans les LAM notamment *NPM1* et *CEBP α* (entités provisoires dans la classification OMS 2008) et les mutations *FLT3*. Ces mutations ne sont pas répertoriées dans la classification de l'OMS mais leur détection est recommandée au vu de leur valeur pronostique. Ces caractéristiques cliniques des LAM découlent des caractéristiques biologiques des clones leucémiques.

La biologie moléculaire est complémentaire à l'étude cytogénétique. Elle permet de détecter par RT-PCR (Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction) l'existence de transcrits de fusions correspondants à certaines translocations qui peuvent échapper à l'analyse cytogénétique. Il s'agit des transcrits PML/RAR α (équivalent de la t(15;17)), AML1/ETO (équivalent de la t(8;21)), CBF β /MYH11 (équivalent de l'inv(16)), BCR/ABL (équivalent de la t(9;22)). De plus, en raison de la grande sensibilité de ces techniques, leur utilisation comme outils de suivi de la maladie résiduelle chez les patients en rémission complète après traitement est envisagée [111].

10- Pronostic :

Le pronostic est l'acte par lequel le médecin évalue le mieux comment le cancer affectera un individu et comment il réagira au traitement. Un facteur pronostique est un aspect du cancer ou une caractéristique de la personne que le médecin prend en considération lorsqu'il fait un pronostic. Un facteur prédictif influence la façon dont le cancer répond à un certain traitement. On aborde souvent les facteurs pronostiques et les facteurs prédictifs ensemble, et ils jouent tous les deux un rôle dans le choix du plan de traitement et dans l'établissement du pronostic [112]. Il y'a plusieurs facteurs qui déterminent les perspectives possibles de patients atteints de LAM. Certains des facteurs pronostiques comprennent :

- Certaines des anomalies chromosomiques prédisent un bon pronostic. Il s'agit notamment de la translocation entre les chromosomes 8 et 21 (plus souvent chez les patients atteints M2), la translocation entre les chromosomes 15 et 17 (plus souvent chez les patients atteints M3) et l'inversion du chromosome 16 (vu le plus souvent chez les patients atteints M4). D'autres anomalies sont signes d'un pronostic défavorables et comprennent la suppression ou de la perte d'une partie du chromosome 5 ou 7 (pas de type LAM spécifique) et des changements complexes impliquant plusieurs chromosomes [65].
- Certaines formes sont corrélées à un bon pronostic notamment la forme M3 promyélocytaire et la forme M4Eo. A l'opposé, les formes M7 et non classables dans la FAB sont considérées comme de très mauvais pronostic et l'obtention de RC (Rémission Complète) est difficile dans ces cas. L'existence de corps d'Auer est globalement associée à un pronostic meilleur.
- De nombreux auteurs considèrent que l'expression du marqueur CD34 (marqueur de cellules souches hématopoïétiques) est corrélée à un mauvais pronostic. L'expression de MDR est plus fréquente dans les LAM de mauvais pronostic notamment les LAM secondaires et en rechute [81].

11- Traitement :

En l'absence de tout traitement, la LAM est mortelle en quelques semaines essentiellement par complications hémorragiques et/ou infectieuses. Ce délai peut cependant être nettement prolongé dans certains cas, par un traitement symptomatique (transfusions et traitement des complications infectieuses) [113]. Le traitement des LAM de l'adulte a généralement deux phases, qui sont les suivants :

- **Traitement d'induction (première phase) :** Le but est de tuer les cellules leucémiques dans le sang et la moelle osseuse. Cela met la leucémie en phase de rémission.
- **Traitement post- rémission (deuxième phase) :** Il commence après la rémission. L'objectif est de tuer les cellules leucémiques restantes qui peuvent ne pas être actives, mais pourraient commencer à régénérer le pool de cellules cancéreuses et provoquer une rechute [114].

Quatre types de traitements standards sont utilisés :

11-1- Chimiothérapie :

Il s'agit d'un traitement qui vise à tuer les cellules cancéreuses (cytotoxique) ou à empêcher de se diviser (cytostatique). Le traitement peut être administré par voie systémique, intrathécale ou régionale. La façon dont la chimiothérapie est administrée dépend du sous-type de LAM à traiter et du bilan d'extension tumoral [114].

Différents médicaments sont utilisés, toujours associés de façon à bénéficier de différents mécanismes d'action et à empêcher certaines résistances. Les anthracyclines et la cytosine arabinoside sont la base du traitement des LAM. On les utilise aussi dans les LAL, avec ou non d'autres drogues plus spécifiques de la LAM comme la vincristine, l'asparaginase, le méthotrexate et les corticoïdes [113].

11-2- Radiothérapie :

La radiothérapie utilise les rayons X à haute énergie ou d'autres types de rayonnement pour tuer les cellules cancéreuses ou les empêcher de se diviser. Il existe deux types de radiothérapie. La radiothérapie externe utilise une machine à l'extérieur du corps pour envoyer les rayonnements vers la localisation cancéreuse. La radiothérapie interne utilise une substance radioactive scellée dans des aiguilles, des graines, des fils, ou des cathéters qui sont placés directement dans ou à proximité de la localisation cancéreuse. Le choix du type de radiothérapie est du stade de LAM [114].

La radiothérapie n'est utilisée que dans deux indications : irradiation prophylactique ou curative des localisations neuro-méningées (LAL de l'adulte et leucémies aiguës monoblastiques), et irradiation corporelle totale utilisée en préparation aux greffes de CSH [113].

11-3- Greffe de cellules souches hématopoïétique :

Une greffe de cellules souches est une méthode de remplacement des CSH anormaux (à l'origine de la LAM) détruits préalablement par chimio et /ou radiothérapie [114]. Cette greffe peut être :

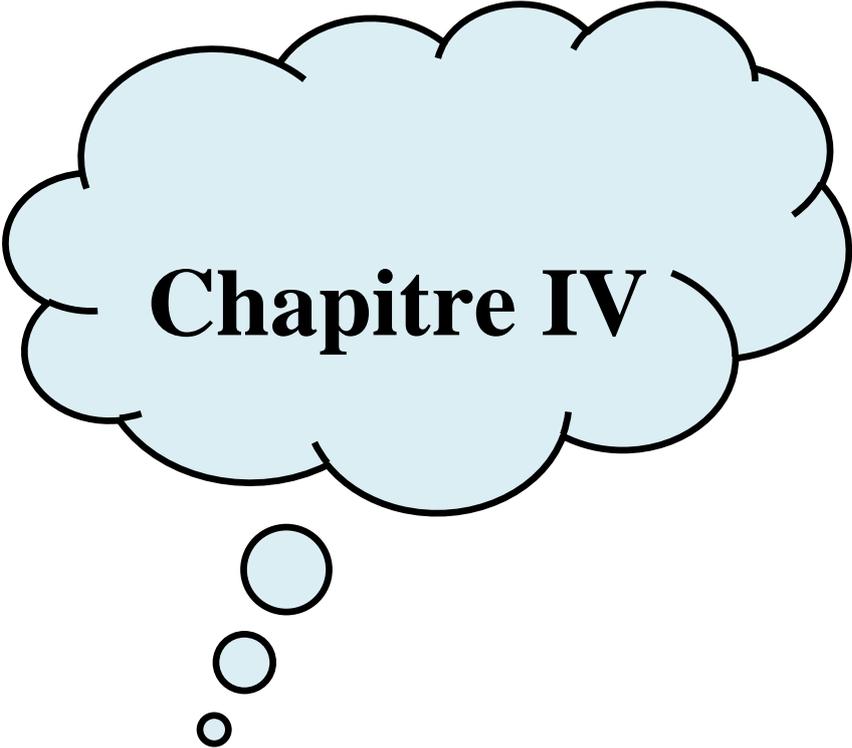
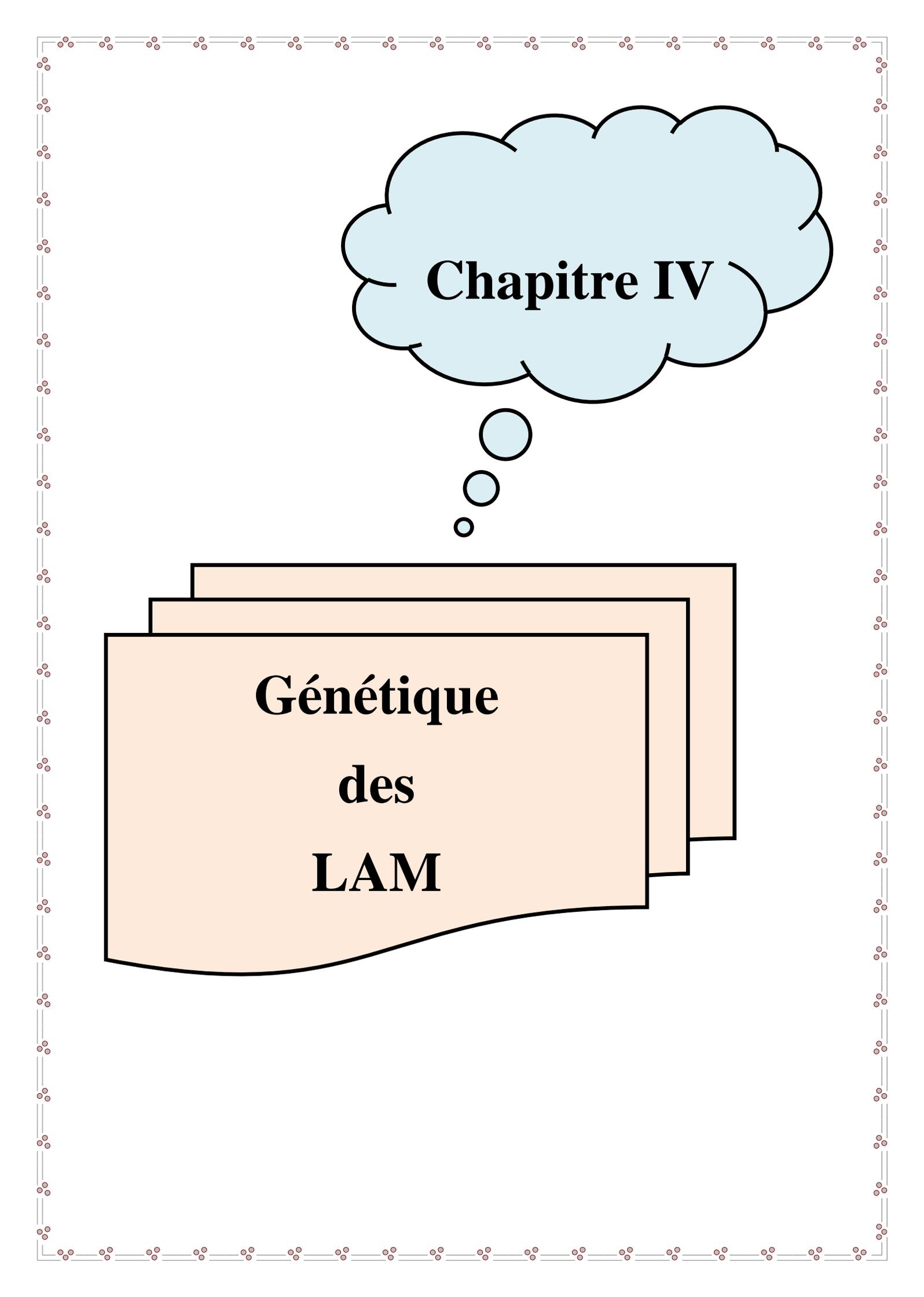
- **Allogénique** ; les cellules sont prélevées chez un donneur sain, HLA identique (ou compatible), familial ou non. L'allogreffe est précédée par une préparation chimio-et/ou radiothérapeutique à visée cytotoxique, mais elle a également un effet curatif propre du fait de la réaction immunitaire anti-leucémique du greffon. Par contre, elle est responsable d'une mortalité toxique élevée (autour de 15 %) et ne peut pas être proposée aux sujets âgés.
- **Autogreffe** ; les cellules sont prélevées chez la malade en rémission. Dans ce cas, on ne bénéficie pas d'effet immunitaire anti-leucémique et le seul intérêt de l'autogreffe est de pouvoir réaliser une préparation à une chimio/radiothérapie intensive [113].

11-4- Thérapeutiques ciblées :

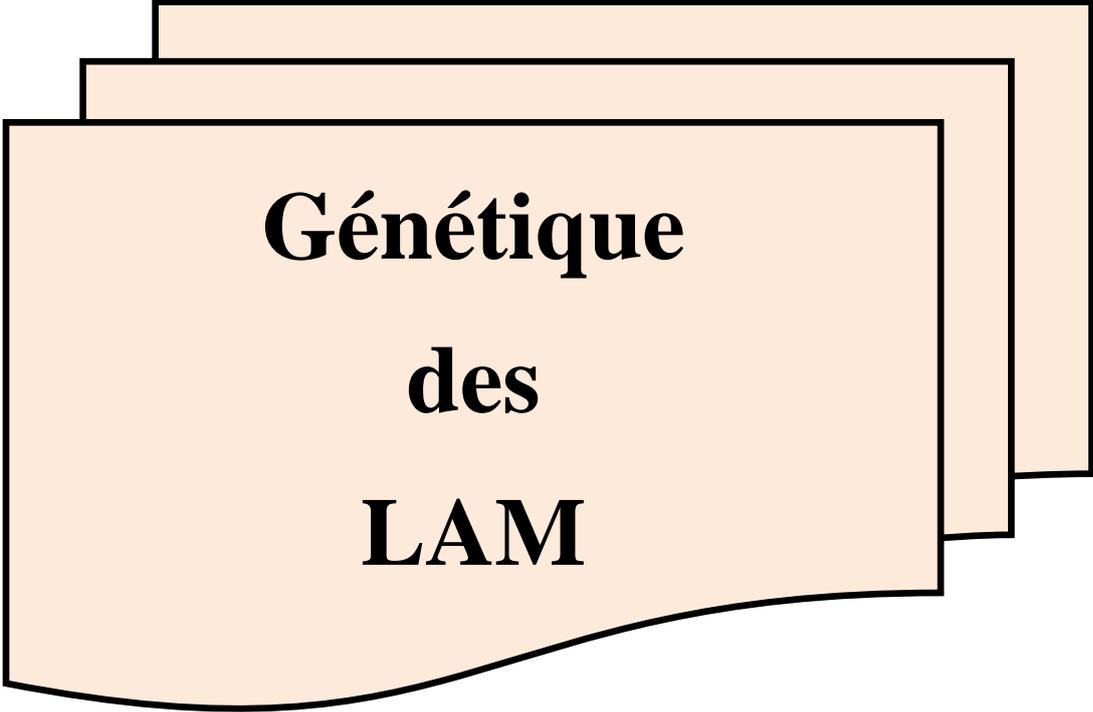
Ces stratégies thérapeutiques ont pour objectif d'attaquer les cellules cancéreuses sans nuire aux cellules normales et constituent aujourd'hui une alternative prometteuse aux traitements classiques (chimio et radiothérapie) souvent agressifs et non exempts d'effets secondaires [113].

La compréhension des mécanismes de la leucémogénèse myéloïde, mais également de résistance aux traitements, a amené le développement de thérapeutiques plus ciblées qui peuvent trouver leur place en complément des stratégies conventionnelles. Dans un modèle de leucémogénèse à deux événements, il a été démontré qu'il existe une coopération entre des anomalies moléculaires responsables d'un arrêt de la différenciation des progéniteurs hématopoïétiques et d'autres anomalies conduisant à un excès de prolifération (**voir chapitre 4**).

Les nouvelles thérapeutiques ciblant ces mécanismes d'oncogénèse ont pour objectif de rétablir cette différenciation (agents différentiant) ou d'inhiber le signal de prolifération et de rétablir l'apoptose. D'autres nouvelles molécules ciblent les molécules de surface, les récepteurs et les voies de signalisation cellulaires [114].



Chapitre IV



Génétique des LAM

12- Mécanismes moléculaires de la leucémogénèse des LAM :

Le cancer est une pathologie caractérisée par une prolifération cellulaire anormale dans un tissu sain de l'organisme. Il est généralement admis que la progression tumorale est un processus initié à partir d'une seule cellule (cancer monoclonal).

L'élément moteur de la transformation cancéreuse est l'accumulation progressive d'altérations génétiques et épigénétiques qui vont conférer à la cellule un avantage sélectif de croissance. L'accumulation de ces altérations se fait dans les cellules issues du premier clone transformé. Les tumeurs ont donc une constitution cellulaire très hétérogène. La cellule à l'origine de la tumeur doit être une cellule capable de pouvoir réaliser un grand nombre de divisions et doit être capable d'acquérir des propriétés permettant la survie et la croissance, d'où l'hypothèse que, dans certains cas, la cellule à l'origine de la tumeur puisse être une cellule souche appelée Cellule Souche Cancéreuse (CSC) [115, 116].

L'hypothèse selon laquelle les tumeurs seraient issues, dans certains cas, d'une CSC, est toujours controversée. La CSC possède des propriétés de CS normales, comme la rareté, l'auto-renouveaulement, la quiescence ainsi que la capacité à pouvoir redonner tous les types cellulaires du tissu à l'origine de la prolifération tumorale. Les CSC présentant, à priori, les mêmes propriétés des CS normales en termes de rareté et de cycle cellulaire. Du fait de leurs quiescence, elles constituent une population intrinsèquement résistante aux chimiothérapies utilisées couramment dont le but est de tuer les cellules en cycle. De plus, les CS sont localisées dans des niches ce qui les rend difficilement accessibles aux traitements. Le premier modèle dans lequel la preuve de l'existence des CSC a été apportée fut l'étude sur la LAM entreprise par *Dick E* et *Bonnet D* en 1997 [117].

Les LAM sont caractérisées par l'expansion clonale de cellules malignes issues d'un des différents lignages myéloïdes bloqués à des stades variables de la différenciation. Cette population clonale leucémique dérive de la transformation maligne d'une cellule souche ou d'un progéniteur myéloïde plus différencié ayant réacquis des propriétés d'auto-renouveaulement. L'hématopoïèse leucémique conserve des caractéristiques comparables à celle de l'hématopoïèse normale. Le clone leucémique est en effet organisé de façon hiérarchique en trois compartiments distincts :

- Un compartiment minoritaire de CSL de phénotype immature (Lin- CD34+ CD38- CD33+ CD96+ CD123+) pour la plupart quiescentes mais capables d'auto-renouveaulement ou d'engagement dans un processus de prolifération / différenciation.
- Un compartiment plus mature de progéniteurs leucémiques nommées CFU-L ayant perdu la capacité d'auto-renouveaulement mais hautement proliférant et ayant des propriétés clonogènes et de différenciation limitée.

- Un compartiment majoritaire de cellules leucémiques appelé blastes ayant des capacités de différenciation limitées et bloquées à un stade donné de maturation granulo-monocytaire [118, 119 et 120].

L'hématopoïèse leucémique est associée à une inhibition de l'hématopoïèse normale par des mécanismes mal connus conduisant à un état d'insuffisance médullaire majeure qui fait la gravité de cette maladie. De plus, une dissémination sanguine (plus ou moins importante) des blastes qui vont envahir d'autres organes hématopoïétiques (rate, ganglions et foie) et non-hématopoïétiques (peau, système nerveux central et testicule) est assez constante.

D'un point de vue moléculaire, deux événements mutationnels seraient nécessaires et suffisants pour induire la leucémie selon la théorie du "two hits model" proposée par *Warner et al* en 2005.

Selon cette hypothèse, le développement de la LAM est la conséquence directe de deux événements mutationnels distincts mais complémentaires. Dans un premier temps, des mutations de classe II consistant en un remaniement de facteurs de transcription dans des translocations chromosomiques récurrentes, comme *AML1-ETO*, *CBFβ/MYH11* ou *PML-RARα*, vont bloquer le processus de différenciation myéloïde en réprimant la transcription de gènes cibles, constituant ainsi un événement nécessaire à la leucémogénèse. Dans un second temps, des mutations de classe I de gènes impliqués dans les voies de signalisation intracellulaire, comme *FLT3*, *Ras* ou *c-Kit*, vont conférer aux cellules des avantages de survie et de prolifération [121, 122].

Toutefois, ce modèle paraît incomplet car il n'intègre pas d'autres caractéristiques des processus néoplasiques comme l'instabilité génétique, l'échappement à la réponse immune, la néo-angiogenèse ou les interactions avec le micro-environnement médullaire qui jouent également un rôle important dans la leucémogénèse et la réponse aux agents génotoxiques [123, 124].

Les études des voies de signalisation ont été principalement réalisées sur l'ensemble de la population leucémique, et les données portant sur l'activation de ces voies dans les CSL commencent à être décrites de même que quelques notions pharmacologiques. La plupart des modèles de leucémogénèse ont montré que l'introduction de Tyrosines Kinases (TK) activées seules (*FLT3-ITD*, *TEL-PDGFRα*, *BCR-ABL*) dans des CSH de souris ne permet pas l'induction d'un phénotype leucémique. La transformation leucémique n'est observée que lorsque ces mutations des protéines à activité TK (dites mutations de classe I) sont associées à des mutations de facteurs de transcription (mutations de classe II). Les mutations des TK aboutissent à une activation constitutive des voies de signalisation en aval des processus de survie / prolifération comme les *MAPK*, *PI3K/AKT*, *STAT*. Des inhibiteurs pharmacologiques ciblant ces voies sont en cours d'évaluation dans des protocoles cliniques, seule l'association de ces inhibiteurs avec des agents chimio-thérapeutiques semble prometteuse [121].

13- Altération géniques rencontrées dans les LAM :

Dès le début du siècle, il a été observé une relation entre anomalies chromosomiques et cancers. Dans les années 1970, de nombreuses études ont montré que les cellules tumorales possédaient des formules chromosomiques différentes des cellules normales.

Gilliland et al ont proposés en 2001 que le mécanisme de leucémogénèse se fait en plusieurs étapes par l'accumulation de mutations de type 1, apportant un avantage prolifératif, et de type 2, bloquant le processus de différenciation des cellules myéloïdes. Les deux types de mutations forment des groupes de complémentation et il est rare de trouver deux mutations du même groupe dans une LAM (excepté le cas particulier pour *AML1 (RUNX1)* et *MLL* qui appartiennent au même groupe de complémentation mais dont la co-occurrence est observée) [125].

Les mutations de type 1 seules entraînent une maladie ressemblant à une LMC caractérisée par une prolifération accrue de globules blancs mais ces cellules sont matures et fonctionnelles. L'apparition de mutations de type II en plus de ces mutations de type 1 entraîne une LAM. Les mutations de type 2 concernent les capacités de différenciation et d'apoptose et entraînent, seules en absence de mutation de type 1, une hémopathie de type SMD [126].

Certaines mutations récemment identifiées ne sont pas encore classées dans l'un ou l'autre des groupes puisque leurs conséquences ne sont pas encore bien identifiées. Par ailleurs, 55 % des patients ont des anomalies au niveau chromosomique et 45 % ont un caryotype normal mais une très grande variabilité de mutations au niveau génomique. L'identification de ces anomalies est importante pour la compréhension de la physiopathologie, l'identification de facteurs pronostiques et le développement de traitements plus ciblés [127].

Les anomalies génétiques retrouvées dans les LAM sont diverses et concernent à la fois des translocations chromosomiques, des mutations ponctuelles, des duplications et des inversions. On remarque également l'implication de mécanismes épigénétiques dans la leucémogénèse.

L'apparition d'un si grand nombre d'anomalies est très probablement reliée à des instabilités dans le génome des blastes et ces perturbations pourraient résulter de dérégulations de gènes impliqués dans le maintien de l'intégrité du génome et dans sa réparation [128].

13-1- Les mutations de type 1 :

Les mutations de type 1 sont des mutations apportant 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*.

a- *N-RAS* et *K-RAS* (Neuroblastoma- et Kirsten-RAS) : les voies de signalisation impliquant RAS sont activées par une large gamme de cytokines et jouent un rôle important dans la prolifération et la survie de progéniteurs hématopoïétiques en activant la voie des MAP kinases. Des mutations activatrices de RAS sont retrouvées dans différents types de tumeurs et dans 15 à 25 % des LAM. Ces mutations ne sont pas associées à des anomalies caryotypiques particulières, ni aux caractéristiques cliniques ou au pronostic de la LAM [129].

b- *FLT3* : le gène *FLT3* code pour un récepteur de type tyrosine kinase exprimé à la surface des progéniteurs hématopoïétiques normaux de la moelle osseuse et notamment des CSH. Son ligand est exprimé et sécrété par les cellules du microenvironnement de la moelle osseuse entraînant son activation et ainsi la stimulation de la croissance et la survie des cellules progénitrices dans la moelle et dans le sang. *FLT3* est exprimé de façon importante dans les LAM (entre 70 % et 100 % des LAM de tous types de FAB) et cette surexpression joue un rôle dans la survie et la prolifération des blastes leucémiques. De plus, il existe deux types de mutations activatrices de ce récepteur retrouvées dans les LAM ; des duplications internes en tandem d'une séquence palindromique présente dans la région juxta-membranaire du récepteur (*FLT3-ITD* : *FLT3-Internal Tandem Duplication*), et des mutations ponctuelles au niveau de la boucle d'activation du domaine kinase (*FLT3-TKD* : *FLT3-Tyrosine Kinase Domain*) [130]. La mutation du gène *FLT3* est l'altération la plus fréquente dans les LAM.

➤ ***FLT3-ITD* :** mutations retrouvées entre 25 et 30 % des cas, les duplications retrouvées sont très variables, mais toujours dans le cadre de lecture et entraînent une perte de fonction du domaine inhibiteur. Ces mutations sont associées à un mauvais pronostic [131].

➤ ***FLT3-TKD* :** mutations ponctuelles retrouvées chez 7 % des patients qui entraînent une conformation active de la boucle et donc une meilleure fixation de l'ATP et du substrat. La relation entre ces mutations et l'incidence au niveau du pronostic reste encore en débat [131].

Les deux types de mutations conduisent à la dimérisation, à l'activation et l'autophosphorylation du récepteur de façon constitutive. Cette altération se traduit par une activation des voies PI3K/AKT, PLC γ (Phospho Lipase C gamma), STAT5 et les voies RAS/ERK (Extra-cellular signal Regulated Kinase) impliquées dans la prolifération et la survie cellulaires [132].

c- *c-KIT* : le gène *KIT* code pour un récepteur de type tyrosine kinase qui a pour ligand le SCF. Des mutations activatrices dans le domaine extracellulaire ou la boucle d'activation sont retrouvées dans 20 à 30 % des patients ayant des aberrations chromosomiques spécifiques telles que t(8;21) et inv(16). Ces mutations entraînent une hyperactivation des voies MAPK et PI3K en aval du récepteur [133].

- d- *CBL* (Casitas B-cell Lymphoma) :** le gène *CBL* code pour une ubiquitine ligase qui cible une grande variété de tyrosine kinases et entraîne leur dégradation. Les mutations de ce gène entraînent l'inhibition de l'internalisation et l'ubiquitination de FLT3 et ainsi augmente l'amplitude et la durée du signal de ce récepteur [134].
- e- *PTPN11* (Protein Tyrosine standard Phosphatase Non récepteur 11) :** le gène de *PTPN11* code pour une phosphatase cytoplasmique appelée SHP-2 (Src Homology Phosphatase 2). Cette phosphatase, très exprimée dans les cellules hématopoïétiques, participe à la transduction du signal en aval des facteurs de croissance, des cytokines, des hormones et des molécules d'adhérence en partie via la voie RAS/MAPK. Ces mutations entraînent une anomalie dans la transition forme active/forme inactive de la phosphatase mais leurs rôles dans la pathogénicité des LAM reste à déterminer. Elles ne semblent pas avoir de valeur pronostique [133].
- f- *JAK2* (JAnus Kinase 2) :** il s'agit d'une tyrosine kinase cytoplasmique impliquée dans la transduction de signaux initiés par plusieurs récepteurs de facteurs de croissance et de cytokines, requis pour l'hématopoïèse. Les mutations de ce récepteur entraînent une augmentation de son activité kinase et l'activation de voies en aval telles que STAT5, PI3K/AKT et ERK. La mutation de *JAK2* est retrouvée chez 70 % des patients ayant une LAM précédée d'une maladie myéloproliférative mais est rare dans les LAM *de novo* [135].

13-2- Les mutations de type 2 :

Ces mutations correspondent essentiellement à des aberrations chromosomiques de type translocations. De nombreuses translocations chromosomiques sont retrouvées dans les LAM ; elles conduisent à la formation de protéines chimériques impliquées dans la pathologie. Certaines anomalies chromosomiques ont été identifiées comme entités à part entière, au vu de leurs caractéristiques cliniques et biologiques spécifiques, dans le sous-groupe LAM avec anomalies génétiques récurrentes dans le classement de l'OMS en 2008. Les plus fréquentes sont les suivantes :

- a- Translocation concernant CBF :** CBF est un facteur de transcription avec deux sous-unités, CBF α (appelé aussi AML1 ou encore RUNX1) et CBF β . RUNX1 interagit directement avec l'ADN et CBF β interagit avec RUNX1 et permet l'activation de la transcription. CBF régule l'expression de nombreux gènes impliqués dans la différenciation hématopoïétique tels que les gènes codant pour IL-3, GM-CSF et des gènes importants pour la maturation des lymphocytes T et B [125]. CBF est critique pour l'hématopoïèse normale et est la cible de plusieurs remaniements dans les LAM, deux sous-groupes sont caractérisés dans la classification OMS (2008) : *RUNX1/ETO* et *CBF β /MYH11*. Ces translocations concernent 10 % à 15 % des LAM [136] et sont de bon pronostic [131].

- ***RUNX1/ETO* (nommé aussi *AML1/ETO*, *AML1*)** : correspond à la translocation t(8;21). *RUNX1* est un des gènes les plus fréquemment dérégulés dans les LAM à la fois par des remaniements chromosomiques mais aussi par des mutations ponctuelles ou des amplifications. *ETO* est un répresseur de la transcription. Ainsi la protéine chimérique *RUNX1/ETO* recrute des co-répresseurs et inhibe l'expression des gènes normalement régulés par *RUNX1* [137].
- ***CBFβ/MYH11* (nommé aussi *CBFβ/SMMHC*, *SMMHC* : Smooth Muscle Myosin Heavy Chain)** : correspond à la translocation chromosomique inv(16)/t(16;16) qui fusionne les 165 premiers acides aminés de *CBFβ* avec la région C-terminale de la chaîne lourde de la myosine musculaire. La protéine chimérique interagit avec *RUNX1* et inhibe la transcription des gènes cibles de ce dernier en recrutant des co-répresseurs [138]. Ces *CBF/AML* sont fréquemment associées à des mutations dans les gènes *KIT*, *N-RAS*, *K-RAS* et *FLT3* [139].
- b- *PML/RARα*** : correspond à la translocation t(15;17) caractéristique des LAP (sous-type M3 dans la classification FAB). Cette translocation donne une protéine chimérique entre *RARα*, un récepteur nucléaire aux hormones et *PML* une protéine nucléaire avec doigt de zinc. En absence de l'acide rétinoïque, *RARα* interagit avec *RXR* (Retinoid X Receptor), lie ses gènes cibles impliqués dans la différenciation, l'apoptose et l'auto-renouvellement et inhibe leur expression en recrutant des corépresseurs. Cette inhibition est renversée par la présence de l'acide tous-trans rétinoïque (ATRA ou All-Trans Retinoic Acid) qui induit un changement de conformation et entraîne la dissociation des co-répresseurs et le recrutement de co-activateurs. La protéine chimérique *PML/RARα* est insensible à la présence d'ATRA dans les concentrations physiologiques ; elle recrute de façon anormale des corépresseurs de la transcription et agit ainsi continuellement en répresseur. Des doses pharmacologiques d'ATRA sont utilisées pour le traitement des patients présentant cette translocation [138].
- c- *MLL*** : le gène *MLL*, situé en 11q23, code pour un facteur de transcription de 431 kDa et qui présente de nombreux modules : trois domaines de fixation et de courbure de l'ADN, un domaine d'homologie aux méthyltransférases et plusieurs domaines d'activation ou de répression de la transcription. Il est exprimé dans toutes les cellules hématopoïétiques notamment dans les CSH et impliqué dans l'activation de plusieurs promoteurs notamment ceux régulant l'expression des gènes *HOX*. Ces gènes codent pour des facteurs de transcription qui participent au développement de multiples tissus et notamment du système hématopoïétique. *MLL* est une des plus fréquentes cibles dans les leucémies aussi bien dans les LAM que dans les LAL et les LA bi phénotypiques. En effet, il existe plus de 50 translocations affectant ce gène et ces translocations sont retrouvées dans environ 10 % des LAM [140].

13-3- Les mutations non classées :

La liste des gènes probablement impliqués dans les LAM s'étoffe de plus en plus grâce à de nouvelles technologies telles que le criblage de gènes haut débit. Voici quelques-uns de ces nouveaux gènes candidats.

- a- ***DNMT* (DNA Méthyl Transférases)** : des mutations de ce gène sont retrouvées chez 22 % des patients atteints de LAM [141]. Les Dnmt sont des enzymes qui catalysent l'addition d'un groupement méthyle sur les cytosines des îlots CpG. Les mutations Dnmt n'altèrent pas de façon très importante la méthylation globale de l'ADN mais la méthylation de certains gènes, tels que les gènes *HOX*. Ces mutations sont associées avec celles de *FLT3*, *NPM1* et *IDH* et confèrent un mauvais pronostic [142].
- b- ***TET2* (TET oncogene family member 2)** : il s'agit d'un gène candidat en tant que suppresseur de tumeur implique dans la cancérogenèse des SMD, SMP et dans les LAM. Les mutations de ce gène ont été retrouvées chez 27 % des patients atteints de LAM. Les protéines TET sont impliquées dans la régulation épigénétique [143]. Elles sont capables de convertir des méthyl-cytosines en hydroxy-méthyl-cytosines, formes intermédiaires de déméthylation des cytosines, et ainsi ont un rôle dans la déméthylation de l'ADN. Les mutations de *TET2* dans les LAM entraînent un taux moindre d'hydroxy-méthyl-cytosine ainsi ce gène pourrait être associé à la leucémogenèse en participant à l'hyper-méthylation. Ces mutations sont mutuellement exclusives avec les mutations *IDH1/IDH2* (Isocitrate DésHydrogénase 1/2) et leur implication pronostique n'est pas encore claire [142].
- c- ***IDH1/IDH2*** : ce gène a été identifié par séquençage du génome entier de patients atteints de LAM dont les mutations n'avaient jamais été observées. De plus, les IDH sont une nouvelle classe de protéines mutées dans la leucémogenèse puisqu'il s'agit d'enzymes métaboliques [144]. Ces protéines catalysent la décarboxylation oxydative de l'isocitrate en α -cétoglutarate avec formation de NADP(H) (Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate(H)). Elles sont impliquées dans le métabolisme cellulaire au niveau de la synthèse lipidique, la protection contre le stress oxydant et la transduction du signal médiée par l'oxygène. Les patients ayant des mutations dans ces gènes ont des hyper-méthylations aberrantes de leur génome, cela s'explique par une production d'un métabolite anormal : 2- hydroxyglutarate qui inhibe la déméthylation amorcée par TET2. Deux études ont analysé la fréquence et la valeur pronostique de ces mutations. Ces études montrent qu'elles touchent entre 11 % et 16 % des patients, qu'elles sont associées très souvent avec un caryotype normal et avec des mutations *NPM1* et *MLL* et enfin qu'elles sont corrélées à un haut risque de rechute et une survie moindre [145, 146].

d- *NPM1* : la nucléophosmine est une phosphoprotéine ubiquitaire qui transite entre le noyau et le cytoplasme avec une localisation nucléaire prédominante. Des mutations de ce gène sont retrouvées chez 46 % à 62 % des patients atteints de LAM avec un caryotype normal [147] et 25 % à 35 % de toutes les LAM [142]. Ces mutations entraînent l'apparition d'une séquence d'export vers le cytoplasme et entraîne une localisation cytoplasmique aberrante [148]. Toutes les mutations de ce gène entraînent une altération de sa distribution cellulaire laissant penser que celle-ci a un rôle dans la leucémogénèse et qu'elle interfère probablement avec les fonctions de la nucléophosmine [149]. Cette dernière joue un rôle de protéine chaperonne dans le noyau permettant d'établir de multiples interactions protéine-protéine. Elle empêche l'agrégation des protéines nucléaires, elle régule l'assemblage des protéines ribosomales et est nécessaire pour la transcription, la réplication et la réparation de l'ADN. Elle est aussi impliquée dans la régulation de nombreuses voies de signalisation telles qu'ARF (ADP Ribosylation Factor) et p53 [150].

La façon dont la nucléoplasmine contribue à la leucémogénèse est encore floue mais de plus en plus d'éléments suggèrent que les LAM mutées pour *NPM1* pourraient constituer un sous-type distinct de LAM avec des caractéristiques pathologiques, immunologiques et pronostiques spécifiques (Ajoutées comme entité provisoire dans le classement OMS de 2008). De plus, les mutations dans *NPM1* sont mutuellement exclusives avec d'autres anomalies récurrentes classées dans la catégorie LAM avec anomalies génétiques récurrentes mais sont significativement retrouvées avec la mutation FLT3-ITD. Cela suggère que *NPM1* pourrait faire partie des mutations de type 2 [135].

Les mutations *NPM1* sans anomalie FLT3-ITD sont classées dans le groupe des anomalies génétiques avec pronostic favorable [144].

e- *ASX1* (Additional SeX comb-Like) : ce gène code pour une protéine impliquée dans la régulation du remodelage de la chromatine. La fonction de cette protéine dans les LAM est inconnue mais une étude a révélé une fréquence de 10 % de mutations de ce gène chez les patients testés atteints de LAM [151].

f- *WT1* (Wilms Tumor 1) : ce gène code pour un facteur de transcription exprimé dans les progéniteurs CD34+ mais pas dans les leucocytes matures. Du fait qu'il est fortement exprimé dans les LAM, son implication dans la leucémogénèse a donc été largement étudiée. Jusqu'à ce jour, son rôle dans l'hématopoïèse normale et maligne n'a pas été clairement défini.

Les mutations de *WT1* sont retrouvées dans 10 % à 13 % des LAM avec caryotype normal mais son impact pronostic n'est pas établi (certaines études rapportent un pronostic défavorable tandis que d'autres ne rapportent pas d'impact) [152].

- g- **BAALC (Brain And Acute Leukemia Cytoplasmatic)** : il s'agit d'une protéine de fonction inconnue mais qui a pu être détectée à un taux d'expression particulièrement haut chez certains patients atteints de LAM. Plusieurs études ont démontré sa valeur pronostique avec une baisse de la survie globale pour ces patients [133].
- h- **ERG (Ets-Related Gene), EVI1 (Ecotropic viral integration 1) et MNI (MeNingioma1)** : une expression augmentée de ces trois gènes implique un pronostic défavorable selon plusieurs études. ERG est un effecteur en aval de plusieurs voies de régulation concernant la prolifération, l'apoptose et la différenciation. EVI1 entraîne des néoplasmes hématopoïétiques chez des modèles murins et enfin MN1 est un activateur de la transcription. Leurs rôles précis dans la leucémogénèse sont inconnus [131].
- i- **P53** : le gène *P53* est un gène suppresseur de tumeur qui code pour une protéine impliquée dans la surveillance de l'intégrité du génome. En effet, un dommage à l'ADN active ce facteur de transcription qui à son tour active la transcription de gènes impliqués dans l'arrêt du cycle cellulaire, la réparation de l'ADN et l'apoptose. *P53* est inactivé dans les LAM par des délétions et des mutations ponctuelles. Ces mutations entraînent une instabilité du génome et une inhibition de l'apoptose. Elles sont retrouvées dans moins de 10 % de LAM *de novo* [133].

13-4- L'expression des miARN (microARN) :

Les micro Acide Ribo-Nucléique (miARN) sont capables de réprimer des centaines de gènes et ainsi de réguler les processus cellulaires normaux. Leurs expressions aberrantes ou leurs dérégulations contribuent donc à la transformation maligne en interférant avec les voies de prolifération, de survie, de différenciation et d'apoptose. Il a d'ailleurs été montré que des profils particuliers d'expression de ces miARNs étaient retrouvés selon les cancers [153].

Une étude en 2007 [154], a réussi à distinguer une LAL d'une LAM uniquement sur le profil d'expression des miARN. La plupart des miARNs dérégulés joueraient un rôle dans la différenciation myéloïde et dans ses fonctions spécifiques. En ce qui concerne les LAM, on peut même discriminer entre plusieurs LAM avec anomalies caryotypiques uniquement par le profil miARN [155].

Les mêmes altérations géniques qui modifient l'activité des gènes codant pour des protéines, sont responsables des modifications d'activité des miARN. En effet, l'expression des miARN est corrélée à la présence de plusieurs anomalies récurrentes dans les LAM (association de mutations dans *NPM1* et l'augmentation de miR-10a, miR-10b et miR196a. Également l'association entre la mutation *FLT3-ITD* et l'hyper-expression de miR-155) [155].

14-Cytogénétique des LAM :

Si des anomalies de la mitose et des variations du nombre de chromosomes étaient connues depuis le XIX^{ème} siècle, la nomenclature des chromosomes humains fut fixée vers 1960, période à laquelle la recherche d'anomalies chromosomiques dans les leucémies débuta [156, 157]. La cytogénétique des leucémies a pris rapidement deux directions, celle de l'étude de la fréquence des leucémies dans les maladies chromosomiques (lien entre leucémies et mongolisme [158] ou syndrome de Klinefelter), et celle de la recherche d'anomalies dans les chromosomes des patients leucémiques (découverte concomitante d'anomalies chromosomiques dans les LA et dans la LMC) [159]. L'introduction en cytogénétique des techniques de bandes chromosomiques au début des années 1970 permit d'identifier précisément chaque chromosome et de caractériser des remaniements chromosomiques présents dans les cellules leucémiques [159].

Les anomalies chromosomiques représentent aujourd'hui un indice précieux dans le diagnostic et le pronostic des différents types de leucémies. Bon nombre de ces anomalies sont uniquement associés à des sous-types histologiques ou immunologiques spécifiques d'hémopathies malignes [160]. Cependant, l'utilisation de la cytogénétique et ses résultats sont largement reconnus comme l'un des déterminants les plus importants pour la prise en charge de ces hémopathies [161]. Au cours des deux dernières décennies l'importance clinique de la cytogénétique, de l'analyse génétique et moléculaire est devenue de plus en plus évidente dans le diagnostic, le pronostic, le choix et le suivi thérapeutique des leucémies en général et des LA en particulier. L'identification d'anomalies chromosomiques spécifiques et leurs corrélations avec des caractéristiques cliniques, cytomorphologiques et immunophénotypiques ont conduit à une nouvelle compréhension de ces maladies hétérogènes. Récemment dans la nouvelle classification OMS des hémopathies malignes, des anomalies cytogénétiques spécifiques ont été utilisées pour aider à définir les entités morbides distinctes dans les pathologies myéloïdes et lymphoïdes [162].

Les techniques cytogénétiques contribuant au diagnostic des entités les plus fréquentes de LAM identifient des anomalies cytogénétiques récurrentes telles les hyper-diploïdies > 50 chromosomes, la t(12;21) (p13;q22) / *TEL-AML1* (*ETV6-CBFA2*), la t(9;22) (q34;q11) / *BCR-ABL*, 11q23/*MLL*, la t(15;17) (q22;q12-21) / *PML-RAR α* , la t (8;21) (q22;q22) /*AML1-ETO* et l'inv(16) (p13;q22) / *CBF β /MYH11* sont développées [163]. La signification clinique de ces aberrations chromosomiques est devenue de plus en plus appréciée. Certains changements sont fortement corrélés avec des sous-groupes particuliers de LAM, comme respectivement les t(8;21) et M2, t(15;17) et M3, inv16 et M4Eo, t(9;11) et M5a ainsi que la t(1;22) et M7 [164].

Ces anomalies récurrentes ont un impact important et indépendant sur le pronostic, et elles peuvent influencer la gestion de la maladie. Les différentes techniques de la cytogénétique et de biologie moléculaire utilisées telles que la FISH, le Southern Blot, la PCR et la CGH (Comparative Genome Hybridization) ont également ajouté des informations importantes pour le regroupement plus sophistiqué des différents types d'hémopathies malignes [165]. Avec une application optimale de ces techniques dans le diagnostic des leucémies, les stratégies de traitement peuvent être plus spécifiquement orientées et de nouvelles approches thérapeutiques plus efficace. L'étude des anomalies chromosomiques associées aux LAM possède un triple intérêt :

- **Intérêt diagnostique :** Lié au fait que les anomalies primaires sont très spécifiquement liées à chaque type d'hémopathie ;
- **Intérêt pronostique :** Lié au fait que la présence de certaines anomalies primaires ou secondaires est étroitement liée à la probabilité de survie des patients ;
- **Intérêt fondamental :** Lié au fait que l'identification d'un réarrangement chromosomique représente souvent la première et irremplaçable étape de l'identification des gènes impliqués par ce réarrangement [166].

Les outils de biologie moléculaire, de plus en plus performants, sont venus s'ajouter aux outils de cytogénétique classique et moléculaire, et le recours raisonné à cet ensemble de techniques permet aujourd'hui une meilleure prise en charge des patients porteurs d'une hémopathie maligne [164].

14-1- Réalisation d'une analyse cytogénétique :

Le prélèvement contenant des blastes est mis en culture et traité pour obtenir un nombre suffisant de cellules mitotiques qui seront analysées en cytogénétique conventionnelle. Dans la plupart des cas, cette étape suffit pour mettre en évidence et caractériser une anomalie cytogénétique. Dans un caryotype, la définition du caractère clonal d'une anomalie repose sur la présence de deux mitoses au moins possédant le même gain chromosomique (même chromosome surnuméraire) ou la même anomalie de structure, et par la présence de trois mitoses présentant la même perte chromosomique. Pour être interprétable, le caryotype doit être réalisé sur un minimum de 20 métaphases, même s'il est admis que 15 mitoses peuvent être suffisantes en cas de clonalité.

Dans les LAM, les anomalies sont acquises et non aléatoires. Elles peuvent être spécifiques ou récurrentes d'un type d'hémopathie, et on distingue les anomalies primaires (présentes dans toutes les cellules du clone leucémique) des anomalies secondaires (qui leur sont surajoutées et présentes dans un ou plusieurs sous-clones). Des anomalies cytogénétiques clonales acquises sont observées chez 50 à 60 % des patients présentant une LAM *de novo*, 59 % chez les enfants [167] et 52 % chez les adultes [168].

14-2- Anomalies cytogénétiques rencontrées dans les LAM :

La LAM est caractérisée par un haut degré d'hétérogénéité en ce qui concerne les anomalies chromosomiques, mutations génétiques, et des changements dans l'expression de multiples gènes et les micros ARN. Des anomalies cytogénétiques peuvent être détectées chez environ 50 % à 60 % des patients atteints de LAM nouvellement diagnostiqués [169]. La majorité des cas de LAM sont associés à des translocations chromosomiques non aléatoires qui se traduisent souvent par des arrangements de gènes. La cytogénétique est le facteur pronostique le plus important pour prédire le taux de rémission, la rechute et la survie globale [169]. Plusieurs anomalies chromosomiques telles que les monosomies, les délétions d'une partie des chromosomes 5 ou 7 et la trisomie 8 sont courantes dans LAM [168]. Ces anomalies chromosomiques implique également le bras long du chromosome 11 (11q) ; translocations équilibrées entre les chromosomes 15 et 17 (t(15;17)); les chromosomes 8 et 21 (t (8, 21)); d'autres tels que (q22;q22), (q31;q22), et t (9;11); et l'inversion du chromosome 16 ou inv(16) [170]. La translocation t(15;17) est toujours associée avec la LAP et conduit à l'expression de la protéine de fusion PML-RAR α dans les cellules myéloïdes hématopoïétiques [171]. Généralement, les patients atteints de LAP avec t(15;17) représentent un groupe unique présentant des caractéristiques biologiques distinctes. Ce groupe est de bon pronostic, en particulier lorsque l'ATRA est utilisé dans le cadre d'induction de la rémission (voir tableau 5).

Tableau 5 : Translocations rencontrées dans les LAM et associées à la production d'une protéine de fusion (*Kumar et al, 2011*).

Translocation	Protéine de fusion	Fréquence de l'événement (% des LAM)
t(8;21)	AML1-ETO	10 %
t(15;17)	PML-RAR α	10 %
inv(16)	CBF β -MYH11	5 %
der(11q23)	MLL-fusions	4 %
t(9;22)	BCR-ABL1	2 %
t(6;9)	DEK-CAN	< 1 %
t(1;22)	OTT-MAL	< 1 %
t(8;16)	MOZ-CBP	< 1 %
t(7;11)	NUP98-HOXA9	< 1 %
t(12;22)	MN1-TEL	< 1 %
inv(3)	RPN1-EVI1	< 1 %
t(16;21)	FUS-ERG	< 1 %

Aujourd'hui, environ 749 aberrations chromosomiques (Base de donnée en ligne : *Atlas of Genetics and Cytogenetic in Oncology and Hematology*) ont été cataloguées dans les LAM [172]. Les fréquences des quatre translocations les plus courantes sont entre 3 % et 10 %, tandis que pour d'autres, la prévalence est nettement inférieure. Les protéines de fusion les plus fréquentes sont : *PML-RAR α* , *AML1-ETO*, *CBF β -MYH11* et les fusions *MLL* (partenaires multiples), sont décrits ci-dessous :

a- t(15;17)(q22;q12) (*PML-RAR α*) : cette translocation est retrouvée chez environ 95 % des individus atteints d'un sous-type spécifique de LAM (LAM3). Elle implique le gène *PML* (15q22) et *RAR α* (17q12). Cette LAM est de bon pronostic. La protéine de fusion *PML-RAR α* agit comme un répresseur de la transcription qui interfère avec l'expression des gènes impliqués dans la différenciation, l'apoptose, et l'auto-renouveau [173] (voir figure 14).

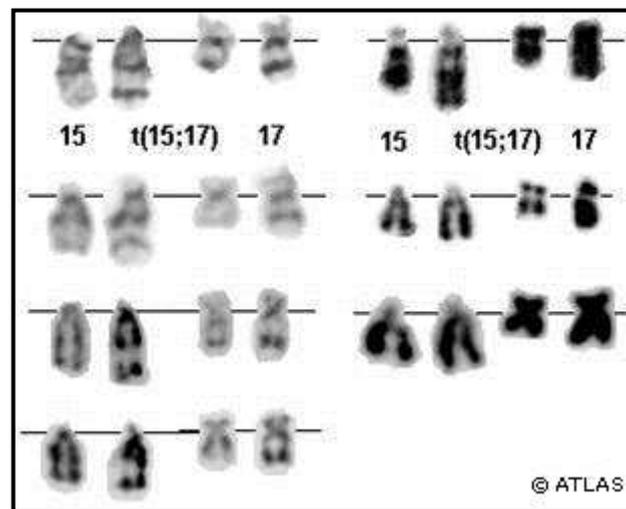


Figure 14 : Caryotype d'un individu atteint de LAM et porteur de la t(15;17)(q22;q12) (RHG) (*Atlas of Genetics and Cytogenetic in Oncology and Hematology*, 2014).

b- t(8;21)(q22;q22) (*AML1-ETO*) : environ 10 % des cas de LAM portent cette translocation associée le plus souvent avec une LAM2 et représente l'anomalie la plus fréquente dans les LAM de l'enfant mais peut être retrouvée chez l'adulte d'âge moyen. Relativement de bon pronostic, une RC est observée dans 90 % des cas, mais les rechutes sont fréquentes. La médiane de survie de 1,5 an chez l'adulte et 2 ans chez l'enfant. Le gène *AML1* code pour un facteur de transcription essentiel pour la différenciation hématopoïétique [174, 175]. Tandis qu'ETO agit comme répresseurs transcriptionnel [176]. La protéine de fusion *AML1-ETO* semble fonctionner comme un répresseur transcriptionnel qui bloque la trans-activation *AML1* dépendante de divers promoteurs de gènes impliqués dans la différenciation et maturation de précurseurs hématopoïétique [177, 178] (voir figure 15).

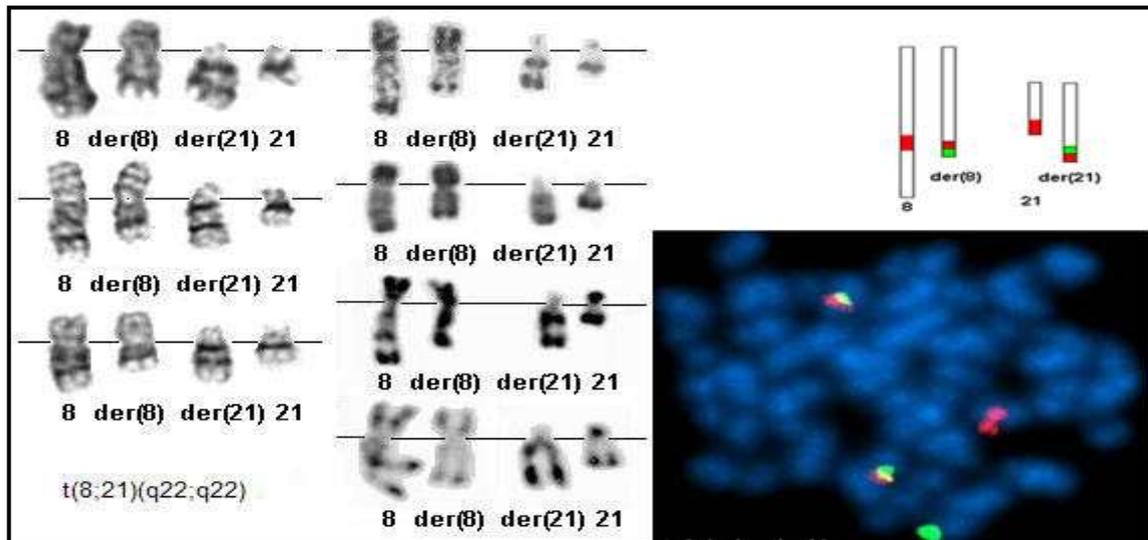


Figure 15 : Caryotype d'un individu atteint de LAM et porteur de la $t(8;21)(q22;q22)$ (RHG)/(FISH) (Atlas of Genetics and Cytogenetic in Oncology and Hematology, 2014).

c- $inv(16)(p13q22)$ ($CBF\beta$ - $MYH11$) : Cette inversion du chromosome 16 dans environ 8 % des cas de LAM est quasi-spécifique du sous-type M4 à éosinophiles. Elle est associée avec un bon pronostic et une médiane de survie de 5 ans. Ce remaniement chromosomique conduit à la production de la protéine de fusion $CBF\beta$ - $MYH11$ qui semble coopérer avec $AML1$ pour réprimer la transcription de gènes impliqués dans la différenciation hématopoïétique [179, 180] (voir figure 16).

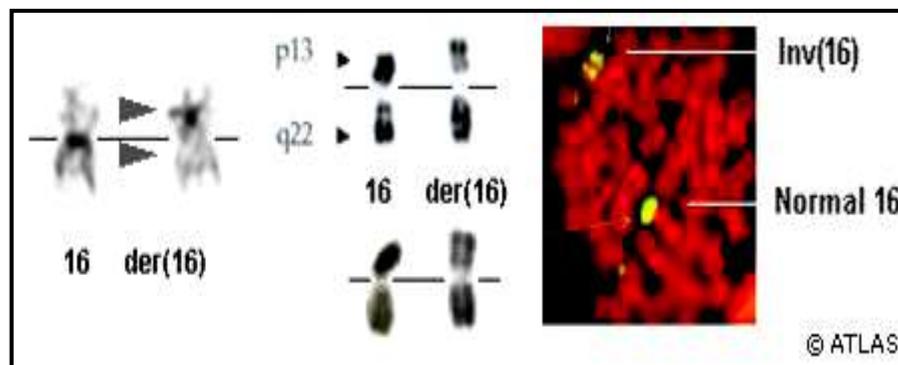


Figure 16 : Caryotype d'un individu atteint de LAM et porteur de l' $inv(16)(p13q22)$ (RHG)/(FISH) (Atlas of Genetics and Cytogenetic in Oncology and Hematology, 2014).

d- Réarrangements 11q23 (MLL) : les réarrangements de ce gène sont rencontrés dans au moins 10 % des LAM de divers types (en particulier les LAM4, LAM5 et bi-phénotypiques). Ces remaniements sont associés en général à un très mauvais pronostic [181]. On répertorie plus 50 gènes partenaires du réarrangement avec MLL ; le résultat est la production d'une protéine de fusion qui agit comme oncogène puissant [182].

e- **t(9;11)(p22;q23)**: anomalie cytogénétique associée le plus souvent au phénotype M5 (surtout M5a) et M4. Il s'agit d'une translocation rencontrée dans les LAM primaire ou secondaire à un traitement avec anti-topoisomérase II (épipodophylotoxines et anthracyclines) [130] (voir figure 17).

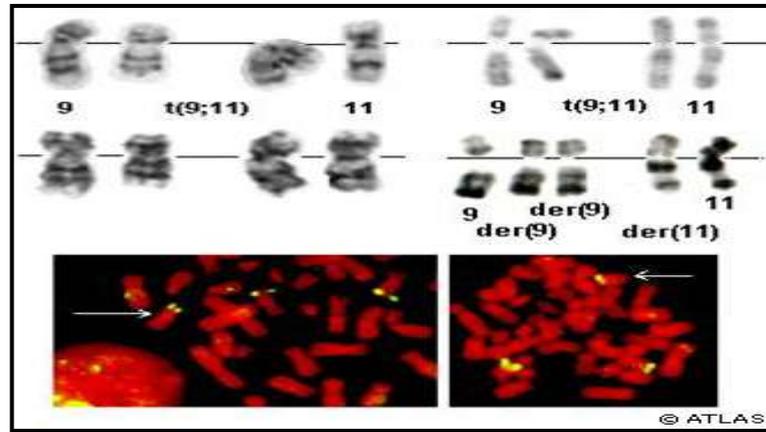


Figure 17 : Caryotype d'un individu atteint de LAM et porteur de la t(9;11)(p22;q23) (RHG)/(FISH) (Atlas of Genetics and Cytogenetic in Oncology and Hematology, 2014)

14-3- Valeur pronostique de la cytogénétique :

La relation entre la présence d'anomalies cytogénétiques et l'évolution des LAM était pressentie dès 1982 par *Fraisse et al* [183] qui ont pu le démontrer pour la première fois sur une large étude prospective multicentrique lors du 4^{ème} Workshop International sur les Chromosomes dans la Leucémie (IWCL 1982). Entre 1987 et 1992, plusieurs études ont prospecté la valeur pronostique de ces anomalies et ont montré que les LAM avec anomalies cytogénétiques avaient un pronostic moins favorable que celles à caryotype normal, de façon indépendante des autres facteurs pronostiques tels que l'âge, le taux de leucocytes au diagnostic et la réponse au traitement d'induction. Ces études mettent en évidence que certaines anomalies peuvent avoir un meilleur pronostic que les caryotypes normaux, telles l'inversion du 16, la translocation t(8;21) ou la translocation t(15;17), mais les résultats, à l'époque, sont restés discordants [184, 185 et 186].

Le groupe BGMT (Bordeaux Grenoble Marseille Toulouse) a analysé en 1995 la cytogénétique de 201 patients porteurs d'une LAM *de novo* et a distingué trois groupes de pronostics différents : le groupe dont l'évolution était la plus favorable comportait les LAM avec t(8;21), t(15;17) ou inv(16) avec une survie médiane à 5 ans entre 43 et 50 %, un groupe intermédiaire défini notamment par les trisomies 8 avait une survie médiane à 5 ans de 27 % et une évolution très péjorative était mise en évidence pour les patients porteurs de LAM avec délétion 5q ou monosomie 5, réarrangements de la région 11q23, délétion 7q ou monosomie 7 [187]. Ces résultats ont été confirmés par de plus larges séries de patients [188, 168].

Ainsi une stratification des patients en fonction de la cytogénétique permet de distinguer trois groupes de pronostics différents avec une influence sur la survie sans rechute mais également sur la survie globale (**voir tableau 6**).

Tableau 6 : Classifications Anglaise et Française des LAM en groupes de pronostics (en tenant compte du résultat de l'analyse cytogénétique) (*Byrd J et al, 2002*).

Groupe pronostique	Classification anglaise (MRC AML10)	Survie à 10 ans	Rechute à 10 ans	Classification GOELAMS	Survie à 5 ans	DFS à 5 ans
Bon pronostic	t(8;21) inv(16) t(15;17)	66 %	35 %	t(8;21) inv(16) t(15;17)	62,5 %	58 %
Pronostic intermédiaire	caryotype normal autres anomalies, y compris les anomalies en 11q23	41 %	51 %	caryotype normal autres anomalies, y compris t(9;11)	50 %	48 %
Mauvais pronostic	anomalies 3q -7 del5q/-5 t(9;22) t(6;9) caryotype complexe (>5 anomalies)	14 %	76 %	anomalies 3q del7q /-7 del5q /-5 t(9;22) t(6;9) caryotype complexe (≥ 3 anomalies) anomalies en 11q23 sauf t(9;11)	19 %	11,6 %

Les résultats de cette stratification cytogénétique ont permis d'étudier l'impact pronostique des différentes modalités thérapeutiques notamment de consolidation au sein de chaque groupe. Cette stratification cytogénétique a été mise au point par l'analyse de patients jeunes, de moins de 60 ans, et peu d'études se sont intéressées à la validité de cette classification chez les sujets âgés [189]. Les quelques études qui ont évalué l'impact de la cytogénétique sur la réponse thérapeutique et la survie patients âgés de plus de 60 ans, ont montré que la cytogénétique au diagnostic est un facteur pronostique indépendant en analyse multi-variée, associé à l'âge et l'hyperleucocytose [190].

En analyse multi-variée également, des études ont démontré que 2 seuls facteurs pronostiques, qui sont la leucocytose et le caryotype, influencent en grande partie la survie globale des patients âgés atteints de LAM. Cependant, l'impact pronostique majeur de la cytogénétique au diagnostic persiste donc chez les sujets âgés [191, 192] (**voir annexe 3**).

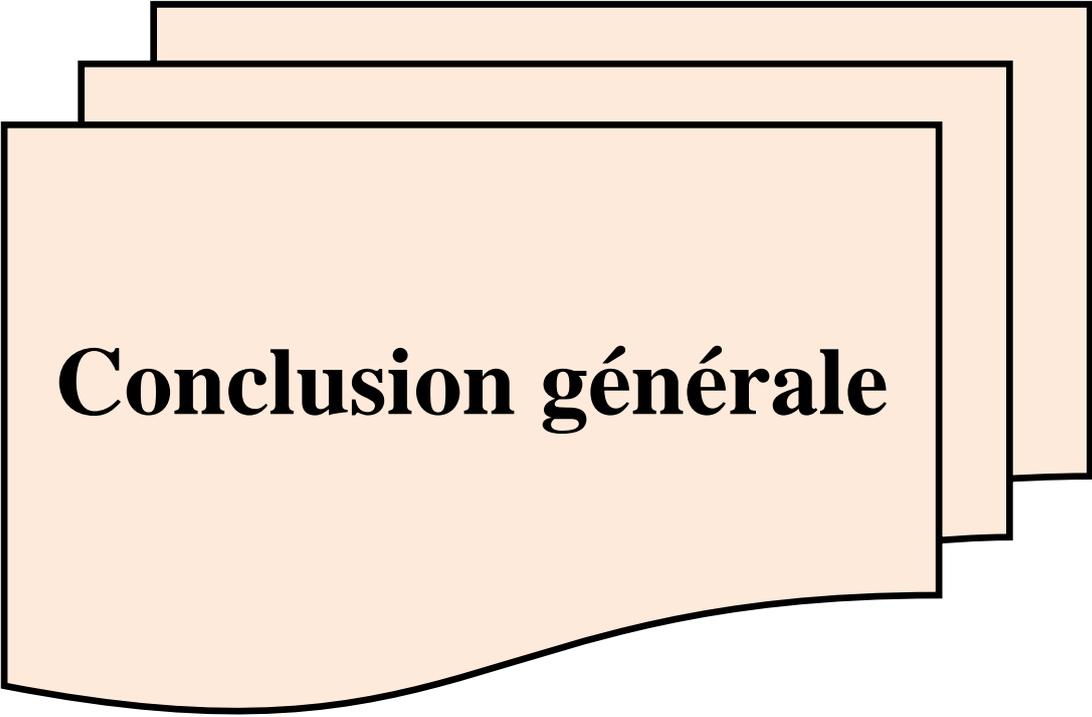
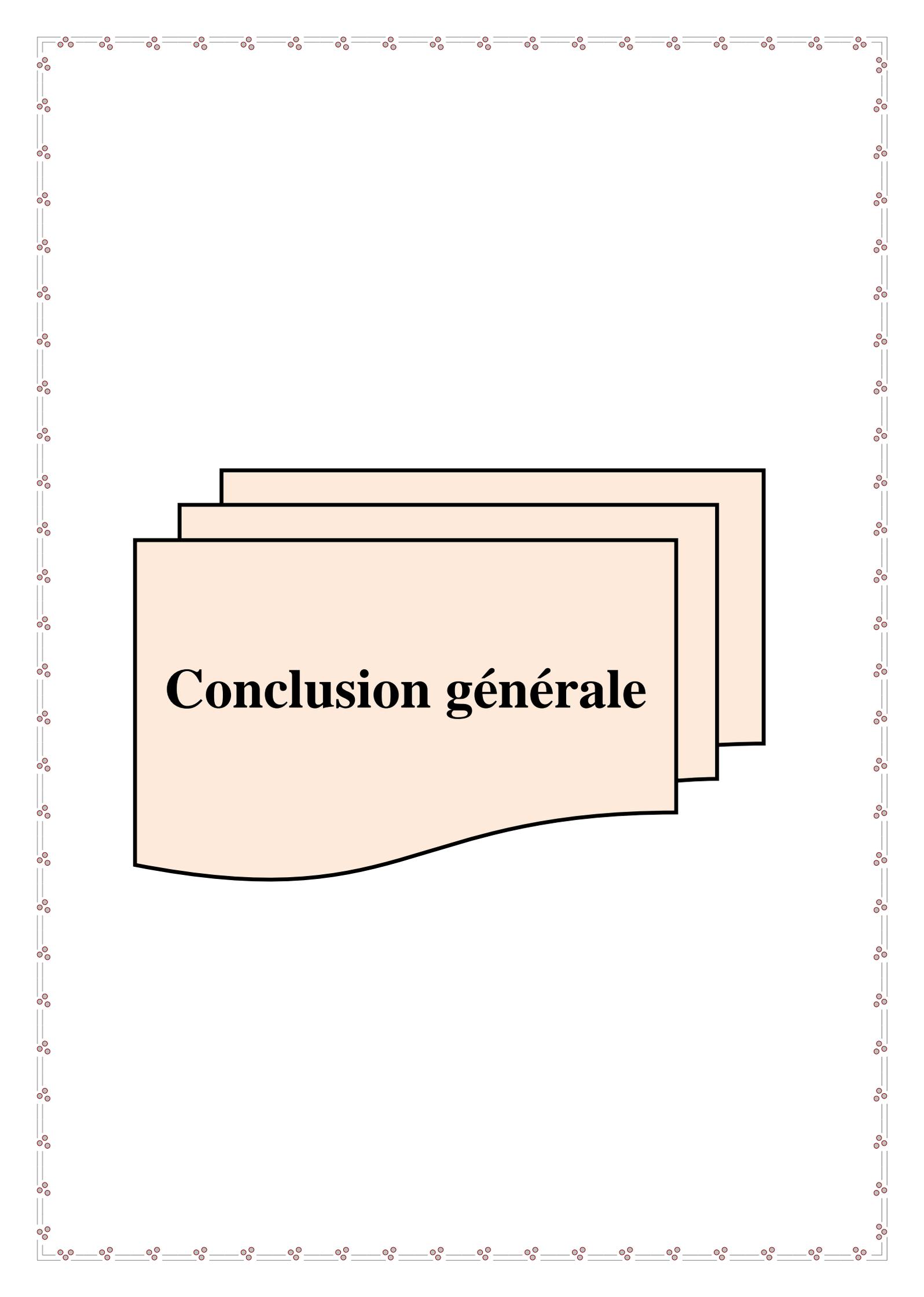
15-Biologie Moléculaire des LAM :

En complément de la cytogénétique conventionnelle, les progrès récents et continus de la biologie moléculaire (par FISH, PCR et/ou RT-PCR) permettent actuellement de démembrer les différentes anomalies moléculaire définissant pour certaines des entités particulières de LAM et ayant un fort impact dans la détermination du pronostic pour d'autres.

Dans le groupe de cytogénétique favorable, la FISH permet de confirmer les remaniements *PML-RAR α* , *CBF α -ETO* et *CBF β -MYH11*, dont la présence est parfois difficile à affirmer en cytogénétique conventionnelle. La biologie moléculaire sur sang ou sur moelle met en évidence les transcrits de fusion : il n'y en a qu'un seul type pour *CBF α -ETO* alors que 10 transcrits *CBF β -MYH11* différents ont été décrits. Le type de transcrit n'a pas d'impact pronostique, l'intérêt de la biologie moléculaire dans ce groupe cytogénétique comporte donc la confirmation diagnostique et l'évaluation de la maladie résiduelle après traitement.

C'est sans aucun doute le groupe des LAM à caryotype normal qui a le plus bénéficié des avancées moléculaires récentes, puisque la caractérisation d'une LAM à caryotype normal est désormais décisionnelle. Les anomalies moléculaires recherchées sont :

- Les mutations du récepteur tyrosine kinase *FLT3* qui peuvent être la duplication interne en tandem (*FLT3-ITD*) ou la mutation D835, identifiées respectivement dans 30 et 7 % des LAM à caryotype normal : la valeur pronostique péjorative de la mutation de *FLT3-ITD* a été mise en évidence par plusieurs études rétrospectives [192], puisque associée à une augmentation du taux de rechute. Son rôle pronostique dans un contexte thérapeutique (auto- ou allogreffe) est en cours d'évaluation [193].
- Les mutations de l'exon 12 du gène *NPM1*, à l'origine d'une expression cytoplasmique aberrante de la protéine correspondante, sont présentes dans environ 50 % des LAM à caryotype normal. Il a été démontré que les mutations de *NPM1* constituent un facteur de bon pronostic indépendant sur la survie globale et la survie sans événement [194, 195]. Cependant, d'autres études ne retrouvent sa valeur pronostique favorable sur la survie globale que pour les patients n'exprimant pas la mutation ITD de *FLT3* [196, 197].
- Les mutations de *CEBP α* présentes dans 9 % des LAM, et associées à une meilleure survie sans rechute et une meilleure survie globale [198]. La recherche de ces anomalies permet actuellement de réserver les indications d'allogreffe des patients avec LAM à caryotype normal aux formes associant deux facteurs péjoratifs sur les trois (*NPM1*-, *FLT3*+ et *CEBP α*).
- D'autres anomalies étudiées non actuellement décisionnelles sont en cours d'évaluation. Ces anomalies sont l'hyper-expression de *BAALC* qui serait un facteur de mauvais pronostic en terme de rechute et de survie globale dans les LAM à caryotype normal [199], l'hyper-expression de *WT1* présente dans 90 % des LAM et utilisée comme marqueur de maladie résiduelle, et l'hyper-expression de *ERG* qui serait un facteur indépendant de mauvais pronostic en terme de rechute et de survie globale [200].



Conclusion générale

Les LAM sont des pathologies cancéreuses graves réparties en un certain nombre d'entités clinico-biologiques associées à des conséquences pronostiques et thérapeutiques particulières. Les LAM requièrent une prise en charge rapide dans des structures de santé adaptées. La surveillance clinique doit s'exercer pendant la période de traitement et longtemps après celle-ci, afin de déceler à la fois les complications à court ou long terme des traitements et les éventuelles rechutes. Les traitements actuels sont basés sur une poly-chimiothérapie. Pour les patients ne pouvant pas supporter ces traitements lourds, le recours à des thérapeutiques innovantes est fortement recommandé. Les progrès de la recherche au cours des dernières années ont permis de mieux cerner les différents sous-types de LAM et de proposer des traitements adaptés incluant des thérapeutiques ciblées (l'exemple de l'acide rétinoïque dans les LAP).

Les techniques de cytogénétique conventionnelle et moléculaire occupent aujourd'hui une place croissante dans l'étude des LAM, tant dans la pratique hématologique que dans la recherche clinique et fondamentale. En effet, l'analyse cytogénétique des LAM révèle des anomalies chromosomiques non aléatoires dans 50 à 70 % des caryotypes. De nombreux sous-types sont caractérisés par une anomalie chromosomique, et la corrélation est parfois si étroite que la définition même de certains types de leucémie repose sur la présence de l'anomalie chromosomique. L'impact pronostique de ces anomalies justifie l'intégration du caryotype dans les critères de choix thérapeutiques des protocoles actuellement développés. Le caryotype reste un élément de base car il donne une image globale du génome. Il faut souligner que les anomalies les plus fréquentes et les plus spécifiques sont répertoriées depuis plusieurs années mais que les techniques cytogénétiques permettent encore aujourd'hui d'isoler de nouvelles entités. Chaque nouvelle anomalie chromosomique identifiée contribue à une meilleure compréhension de l'hématopoïèse et des mécanismes de leucémogénèse. Il paraît évident que les techniques de cytogénétique doivent être intégrées dans le panel d'analyses indispensables au diagnostic et le suivi des LAM.

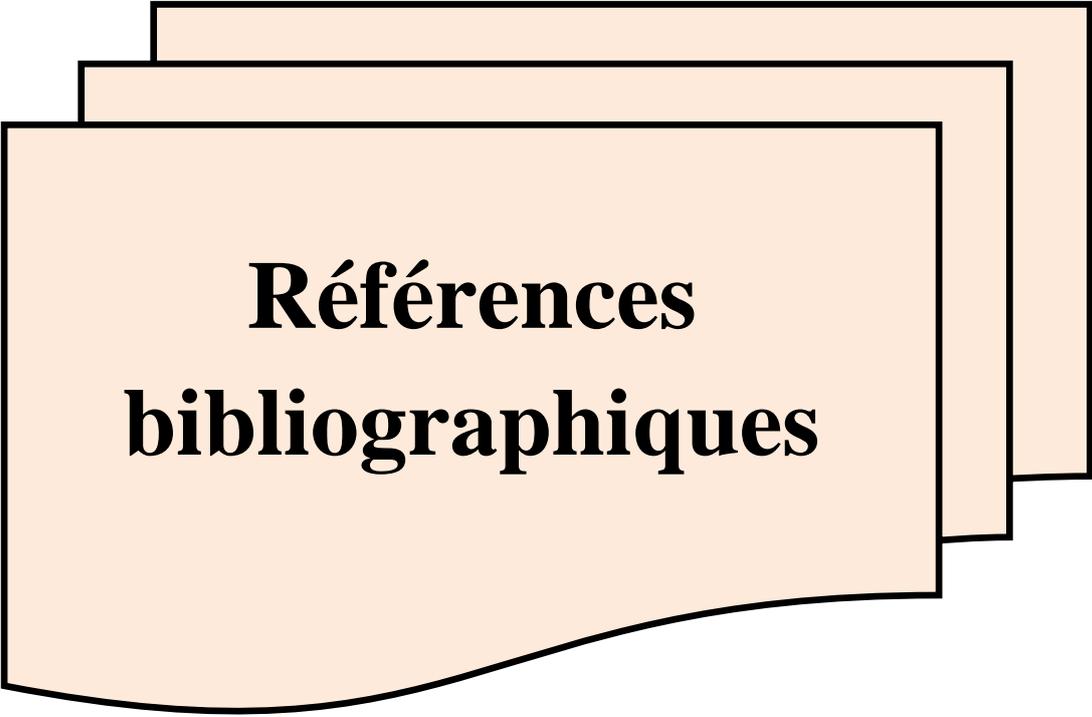
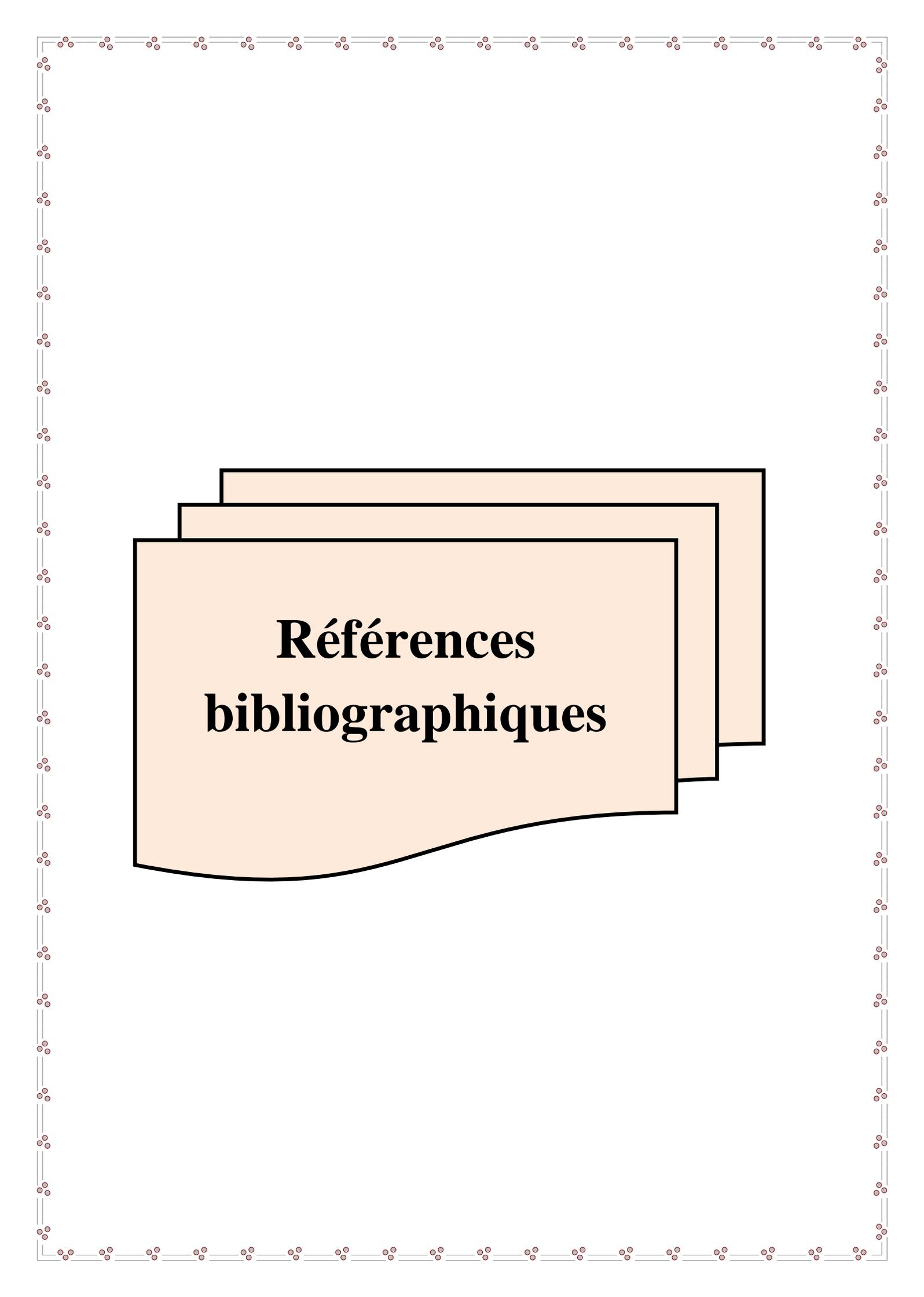
Dans l'approche des pathologies onco-hématologiques, et ce depuis plusieurs années, la biologie moléculaire est de plus en plus utilisée. Si le recours à la cytogénétique standard reste indispensable, les patients présentant un caryotype normal constituent le sous-groupe le plus vaste dans la classification cytogénétique (environ 50 %). Les grandes études qui se sont intéressées à l'impact clinique des anomalies cytogénétiques dans les LAM ont classé les LAM avec caryotype normal dans un groupe de pronostic intermédiaire. Mais il est maintenant clair que ce groupe est très hétérogène sur le plan moléculaire, avec des devenir cliniques variables selon la présence ou l'absence d'anomalies moléculaires, ou encore selon le profil d'expression génique.

Il est maintenant admis que des altérations des gènes *NPM1* et *FLT3* sont à rechercher pour toute LAM avec caryotype normal, en sachant que seul les patients *NPM* muté / *FLT3-ITD* négatif présentent un pronostic favorable. Si ces deux altérations sont absentes, il convient de faire un dépistage des mutations du gène *CEBPa* pour stratifier le risque de rechute. Enfin, la valeur potentiellement péjorative des mutations du gène *WT1*, *MLL-PTD* ou de l'hyper-expression de *EVII*, *BAALC* ou *MNI* pourrait affiner le pronostic et permettre de mieux comprendre l'implication de ces gènes.

D'autre part, certaines mutations, affectant notamment les voies de prolifération cellulaire, représentent des cibles potentielles pour le développement de nouvelles drogues, qu'elles soient utilisées seules ou en combinaison avec une chimiothérapie standard. Ainsi, les patients présentant une mutation de type *FLT3-ITD* pourraient bénéficier d'un traitement par inhibiteur de tyrosine kinase. Ces molécules, en phase plus ou moins avancée d'évaluation clinique, semblent prometteuses.

Le dépistage d'un panel complet d'anomalies génétiques de LAM au diagnostic est donc indispensable, non seulement pour la sous-stratification de groupes de pronostic de plus en plus étroits et pour le suivi de la maladie résiduelle, mais aussi pour déterminer un éventuel recours aux nouvelles thérapies spécifiques. Ainsi, le traitement des LAM, qui a peu changé ces dernières années, vise à être de plus en plus adapté à chaque profil de patients. Enfin, les nouvelles anomalies découvertes ainsi que la diversité des réponses rencontrées nous aident encore à mieux comprendre la complexité des mécanismes physiopathologiques mis en jeu.

D'après notre recherche bibliographique menée, l'étude moléculaire des LAM s'est révélée être un outil de premier choix pour la prise en charge des LAM. Les examens hématologiques et cytologiques représentent l'essentiel des investigations biologiques utilisées en routine au niveau des structures hospitalières du pays. Ces analyses montrent rapidement leurs limites (détermination difficile du sous-type exacte de LAM) et le recours aux analyses cytogénétique et/ou moléculaire se révèle indispensable. Malheureusement, ni les structures hospitalières Algériennes, ni les laboratoires d'analyses biologiques (publiques ou privés) n'offrent la possibilité de réaliser, en routine, des analyses cytogénétiques et/ou moléculaires de patients atteints de LAM. De plus, l'absence de données épidémiologiques exactes concernant les LAM (à l'instar des registres spécialisés dans les pays développés) vient compliquer la réalisation d'études d'ordre étiologiques propres à la population Algérienne. La seule source d'informations disponible reste les dossiers des malades qui sont souvent incomplets.



Références bibliographiques

- 1- **Achouria B.** (2012). La cytogénétique et classification des hémopathies malignes. Université d'Oran - Algérie - Diplôme des études supérieures en génétique.
- 2- **Morse H, Anver M, Fredrickson T, et al.** (2002). Bethesda proposal for classification of lymphoid neoplasm's in mice. *Blood*. 100(1): 246-258.
- 3- **Derrac Louis.** (2013). La leucémie aigue lymphoblastique (Introduction). Disponible sur : <http://heaven06.free.fr/TPE/TPE/introduction.htm>.
- 4- **Bernardi R, Grisendi S, Pandolfi P.** (2002). Modeling hematopoietic malignancies in the mouse and therapeutically implication. *Oncogene*. 21(21): 3445-3458.
- 5- **Bernard J, Lévy P, Varet B, et al.** (1998). Hématologie. 9^{ème} édition. Paris (France) : Abrégé Masson : 352p.
- 6- **Harison T.** (1993). Principe de médecine interne. Médecine-sciences. Flammarion. 5^{ème} édition. Paris (France).
- 7- **Boissel N.** (2003-2005). La Collection Hippocrate, Épreuves Classantes Nationales. Hématologie, leucémie aigüe, (1-10-162,17p). Paris: Servier.
- 8- **Flandrin G.** (2001). La nouvelle classification OMS des hémopathies malignes, John Libbey Eurotext, l'essentiel de l'information scientifique et médical, Vol 7, Numéro 2, pp136-41.
- 9- **Zandecki M.** (2007). Leucémies aigues myéloïdes, Hématologie biologique, Faculté de Médecine - CHU Angers France, MAJ, 10p.
- 10- **Czene K, Lichtenstein P, Hemminki K.** (2002). Environmental and heritable causes of cancer among 9.6 million individuals in the Swedish Family-Cancer Database. *Int J Cancer*, 99: 260-266.
- 11- **Balmain A, Gray J, Ponder B.** (2003). The genetics and genomics of cancer. *Nature Genet*, 33 (Suppl): 238-244.
- 12- **Elaine T. Marie B.** (1999). Anatomie et Physiologie Humaines, 8^{ème} Édition en français, page 732.
- 13- **Leblanc C.** (2011). Le sang. Cours en ligne. IFSI. Disponible sur : www.fichier-pdf.fr/2011/10/19/cours-ifs...sang.../cours-ifs-le-sang.pdf.
- 14- **Kathrtn C.** (1997). Center for biologics evaluation and research food and drug administration department of health and human services. Disponible sur: <http://www.bloodbook.com/plasma-pool.html>.
- 15- **Yoshikawa H, Rapoport S.** (1974). Cellular and molecular biology of erythrocytes, Baltimore/ Tokyo, University Park Press/ University of Tokyo.
- 16- **Chantal K.** (2011). Les cellules sanguines, le Campus d'histologie et embryologie médicales, CHEC, Université médicale virtuelle francophone.
- 17- **Drouet F, Lagrange J.** (2010). Dose de tolérance à l'irradiation des tissus sains : la moelle osseuse. *Cancer/Radiothérapies*, 14, P. 392-404.
- 18- **Benbahouche N.** (2011). Études et examens biologiques et génétiques appliquées au diagnostic des leucémies dans la région de Constantine. Mémoire de Master en Génétique Moléculaire. Constantine : Université Mentouri Constantine.
- 19- **Allen T, Dexter T.** (1995). The biology of haematopoiesis. In *Oxford Textbook of Oncology* (ed. M Peckham, H Pinedo and U Veronesi). 1593-1600.
- 20- **Bryon P.** (1998). Anatomie et histologie de la moelle osseuse. Encyclopédie Médico-chirurgicale. Hématologie (Elsevier, Paris) 1998; 13-000-M-80:1-10.
- 21- **Ferrant A.** (2004). Hématologie. Tome 1. Faculté de Médecine de Renne. Unité d'hématologie.

- 22- **Lévy P, Clauvel P, Varet B, et al.** (2008). Hématologie et transfusion. Pagination multiple. Masson. Paris.
- 23- **Fliedner T, Graessle D, Paulsen C, et al.** (2002). Structure and function of bone marrow hematopoiesis: mechanisms of response to ionizing radiation exposure. *Cancer Biotherapy Radiopharmacology*, 17:405-26.
- 24- **Mauch P, Constine L, Greenberger J, et al.** (1995). Hematopoietic stem cell compartment: acute and late effects of radiation therapy and chemotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 31:1319-39.
- 25- **Charfi C.** (2006). Étude des gènes différentiellement exprimés dans les leucémies lymphoïdes induites par le rétrovirus murin, mémoire présenté comme exigence partielle de la maîtrise en biologie, université du Québec à Montréal.
- 26- **Choquet S.** (2002). Hématologie. Paris: Ellipses, (Réussir l'internat).
- 27- **Chabannon C, Mannouni P.** (1995). Les cellules souches hématopoïétiques du sang périphérique chez l'homme, *Médecine/Science II* (1):17-27.
- 28- **Lane S, Scadden D, Gilliland G.** (2009). The leukemic stem cell niche: current concepts and therapeutic opportunities. *Blood*, 114, 1150-1157.
- 29- **Dittel B, Mccarthy J, Wayner E, et al.** (1993). Regulation of human B-cell precursor adhesion to bone marrow stromal cells by cytokines that exert opposing effects on the expression of vascular cell adhesion molecule-1. *Blood*. 81(9):2272-82.
- 30- **Dahmani O, Belcaid A, El Azzouzi O, et al.** (2010). Facteurs de régulation de l'hématopoïèse.
- 31- **Brown J, Jawad M, Twigg S, et al.** (2002). A cryptic t(5;11)(q35;p15.5) in 2 children with acute myeloid leukemia with apparently normal karyotypes, identified by a multiplex fluorescence in situ hybridization telomere assay. *Blood*, 99, 2526-2531.
- 32- **Waterstrat A, Van Zant G.** (2009). Effects of aging on hematopoietic stem and progenitor cells. *Current Opinion Immunology*, 21, 408-413.
- 33- **Leger-Silvestre I, Caffrey J, Dawaliby R, et al.** (2005). Specific Role for yeast homolog of the Blackfan-Diamond anemia-associated Rps19 protein in ribosome Synthesis. *Journal of Biology and Chemistry*, 280: 38177 38185.
- 34- **Beyne-Rauzy O, Recher C, Dastugue N, et al.** (2004). Tumor necrosis factor alpha induces senescence and chromosomal instability in human leukemic cells *Oncogene*, 23(45):7507-16.
- 35- **Akashi K, Traver D, Miyamoto T, et al.** (2000). A clonogenic common myeloid progenitor that gives rise to all myeloid lineages. *Nature* 404, 193-197.
- 36- **Hu M, Krause D, Greaves M, et al.** (1997). Multi-lineage gene expression precedes commitment in the hemopoietic system. *Genes Development* 11, 774-785.
- 37- **Miyamoto T, Iwasaki H, Reizis B, et al.** (2002). Myeloid or lymphoid promiscuity as a critical step in hematopoietic lineage commitment. *Development Cell* 3, 137-147.
- 38- **Singh H.** (1996). Gene targeting reveals a hierarchy of transcription factors regulating specification of lymphoid cell fates. *Current Opinion Immunology* 8, 160-165.
- 39- **Etienne C.** (2011). Caractérisation des réarrangements de *PAX5* dans les leucémies aiguës lymphoblastiques B. Thèse en ligne. Université de Toulouse.
- 40- **Igarashi H, Gregory S, Yokota T, et al.** (2002). Transcription from the *RAG1* locus marks the earliest lymphocyte progenitors in bone marrow. *Immunity* 17, 117-130.

- 41- **Adolfsson J, Borge O, Bryder D, et al.** (2001). Up-regulation of *FLT3* expression within the bone marrow Lin(-)Sca1(+)c-kit(+) stem cell compartment is accompanied by loss of self-renewal capacity. *Immunity* 15, 659-669.
- 42- **Lai A, Kondo M.** (2006). Asymmetrical lymphoid and myeloid lineage commitment in multi-potent hematopoietic progenitors. *Journal of Experimental Medicine* 203, 1867-1873.
- 43- **Nerlov C, Querfurth E, Kulesa H, et al.** (2000). *GATA-1* interacts with the myeloid PU.1 transcription factor and represses PU.1-dependent transcription. *Blood* 95, 2543-2551.
- 44- **Dias S, Mansson R, Gurbuxani S, et al.** (2008). E2A proteins promote development of lymphoid-primed multi-potent progenitors. *Immunity* 29, 217-227.
- 45- **Weissman I, Anderson D, Gage F.** (2001). Stem and progenitor cells: origins, phenotypes, lineage commitments, and trans-differentiations. *Annual Review of Cell Development Biology* 17, 387-403.
- 46- **Burke Z, Thowfequ S, Peran M, et al.** (2007). Stem cells in the adult pancreas and liver. *Biochemistry Journal* 404, 169-178.
- 47- **Passegue E, Jamieson C, Ailles L, et al.** (2003). Normal and leukemic hematopoiesis: are leukemia's a stem cell disorder or a reacquisition of stem cell characteristics? *Proc National Academy of Science (USA)* 100 Suppl 1, 11842-11849.
- 48- **Wilson A, Trumpp A.** (2006). Bone-marrow hematopoietic-stem-cell niches. *National Review of Immunology* 6, 93-106.
- 49- **Chen W, Xu P, Gottlob K, et al.** (2001). Growth retardation and increased apoptosis in mice with homozygous disruption of the *Akt1* gene. *Genes Development* 15, 2203-2208.
- 50- **Hess D, Meyerrose T, Wirthlin L, et al.** (2004). Functional characterization of highly purified human hematopoietic repopulating cells isolated according to aldehyde dehydrogenase activity. *Blood* 104, 1648-1655.
- 51- **Chaudhary P, Roninson I.** (1991). Expression and activity of P-glycoprotein, a multidrug efflux pump, in human hematopoietic stem cells. *Cell* 66, 85-94.
- 52- **Morrison S, Weissman I.** (1994). The long-term repopulating subset of hematopoietic stem cells is deterministic and isolatable by phenotype. *Immunity* 1, 661-673.
- 53- **Huntly B, Gilliland D.** (2005). Leukemia stem cells and the evolution of cancer stem-cell research. *National Review Cancer* 5, 311-321.
- 54- **Stéphane J, Talom F.** (2005). Profil de l'hémogramme chez les sujets VIH/SIDA. Université de Bamako - Doctorat en médecine.
- 55- **Olson J.** (2009), Hématopoïèse : les facteurs de régulation. medmatiq Forum Index Médecine 1er cycle "1ère + 2ème année", Biologie. Disponible sur: <http://medmatiq.vraiforum.com>.
- 56- **Beyne-Rauzy O, Prade-Houdellier N, Demur C, et al.** (2005). Tumor necrosis factor-alpha inhibits hTERT gene expression in human myeloid normal and leukemic cells. *Blood* 106, 3200-3205.
- 57- **Rosenbauer F, Tenen D.** (2007). Transcription factors in myeloid development: balancing differentiation with transformation. *National Review of Immunology* 7, 105-117.
- 58- **Nardi N, Alfonso Z.** (1999). The hematopoietic stroma. *Brazilian Journal Medicine Biology Research* 32, 601-609.
- 59- **Wright D, Bowman E, Wagers A, et al.** (2002). Hematopoietic stem cells are uniquely selective in their migratory response to chimiokines. *Journal of Experimental Medicine* 195, 1145-1154.

- 60- **Bonnet D, Dick J.** (1997). Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nature Medicine* 3, 730-737.
- 61- **Carole M.** (2008). Leucémie myéloïde aiguë. Brochure publiée par la société de Leucémies & Lymphomes du Canada. Dernière mise à jour 2012. Disponible sur : <http://www.sllcanada.org/centrederessources/materielsgratuites/leucemie/lma>.
- 62- **Janetta B.** (2007). Comprendre la leucémie. Brochure publiée par la société de Leucémies & Lymphome du Canada. Dernière mise à jour 2012. Disponible sur : <http://www.sllcanada.org/centrederessources/materielsgratuites/leucemie/comprendrelaleucemie>.
- 63- **Martine D.** (2003). Service d'Oncologie Médicale - CHU Tours leucémies aiguës myéloblastique (LAM). Disponible sur : <http://fmc.med.univ-tours.fr/Pages/Hemato/LA/LA.html>
- 64- **André C.** (2009). La leucémie aiguë myéloïde. Fédération Leucémie-Espoir. Fiche d'information rédigée par les médecins de la Société Française d'Hématologie, disponible sur : sfh.hematologie.net/hematolo/UserFiles/.../Leucemieaigue_myeloide.pdf.
- 65- **Mandal A.** (2013). Classification des leucémies. À partir de : <http://www.news-medical.net>
- 66- **Karen S, Harris J, Christopher D.** (2011). Acute Myeloid Leukemia Staging, American Association for Cancer Research, American College of Physicians, and American Society of Hematology.
- 67- **Duchayne E, Demur C, Rubie H, et al.** (1999). Le diagnostic de leucémie à basophiles aiguë. *Leukemia-Lymphoma* 32 (3-4): 269-78.
- 68- **Vardiman J, Harris N, Brunning R.** (2002). The World Health Organization (WHO) classification of the myeloid neoplasm's. *Blood*, 100(7), p.2292-2302.
- 69- **Leymarie V, et al.** (2004). Diagnosis of myeloid hematologic malignancies: contributions of the 2001 World Health Organization (WHO) classification. *Annales de Biologie Clinique*, 62(5), p.513-520.
- 70- **Vardiman J, et al.** (2009). The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasm's and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood*, 114(5), p.937-951.
- 71- **Vardiman J.** (2010). The World Health Organization (WHO) classification of tumors of the hematopoietic and lymphoid tissues: an overview with emphasis on the myeloid neoplasms. *Chemical-Biological Interactions*, 184(1-2), p.16-20.
- 72- **Flandrin G.** (2002). Classification of acute myeloid leukemia's, Atlas of Genetics and Cytogenetic in Oncology and Hematology. Laboratoire d'hématologie, Hôpital Necker Enfants-Malades, Paris, France .URL: <http://AtlasGeneticsOncology.org/Anomalies/ClassifAMLID1238.html>.
- 73- **Jouault H.** (2002). Place de la cytométrie en flux pour le diagnostic et le suivi des leucémies aiguës. *Revue Française des Laboratoires*, 344: 25-30.
- 74- **Dastugue N.** (2000). Place de la cytogénétique conventionnelle et moléculaire dans l'étude des leucémies aiguës. *Pathologie Biologie (Paris)* ,51: 337- 45.
- 75- **Gallagher R.** (2003). Prime time for real-time Q-RT-PCR in good prognosis AML. *Blood*, 102 : 2709-10.
- 76- **Bennett J, Catovsky D, Daniel M, et al.** (1976). Proposals for the classification of the acute leukemia's. French-American-British FAB cooperative group. *British Journal Hematology*, 47:451-8.
- 77- **Vardiman J, Thiele J, Arber D, et al.** (2009). The 2008 revision of the WHO classification of myeloid neoplasm's and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood* 114, 937-951.
- 78- **Sciences.** (2002). L'incidence du cancer dans les cinq continents CIRC, VIII (155):1-781.

- 79- **Jaffe E, Harris N, Stein H, et al.** (2001). Étude de pathologie et génétique des tumeurs des tissus hématopoïétiques et lymphoïdes. Lyon: Agence internationale pour la recherche sur le cancer.
- 80- **Carli P, Milan C, Lange A, et al.** (1986). Les tumeurs malignes Faivre J. hématopoïétiques en Côte d'Or (France): Une étude basée sur la population British Journal of Cancer; 53(6): 811-5.
- 81- **Andrieu J, Colonna E.** (1997). Leucémies aiguës de l'adulte, ESTEM, Paris. Document Med-espace - 1999 Source: Cancers: évaluation, traitement et surveillance.
- 82- **Jana M, Bernhard G, et al.** (2013). Diagnostic et traitement de la leucémie myéloïde aiguë. Hôpital universitaire de Zurich, clinique d'hématologie, Forum Med Suisse; 13(6):1 12-1 19.
- 83- **Ligue Nationale Contre le Cancer.** (2009), 14 rue Corvisart - 75013 Paris - Tél. : 01 53 55 24 00: www.ligue-cancer.ne.
- 84- **Greenlee R, Hill-Harmon M, Murray T, et al.** (2001). Cancer statistics, 2001. CA Cancer Journal Clinique 51 (1): 15-36.
- 85- **Linnet M.** (1985). Leukemia's: epidemiologic aspects. Monographs in Epidemiology and Biostatistics. New York: Oxford University Press. ISBN 0-19-503448-1.
- 86- **Aoki K, Kurihara M, Hayakawa N.** (1992). Death rates for malignant neoplasm are for selected sites by sex and five-year age group in 33 countries 1953-57 to 1983-87. Nagoya, Japan: University of Nagoya Press, International union against Cancer.
- 87- **Bhatia S, Neglia J.** (1995). Epidemiology of childhood acute myelogenous leukemia. Journal of Pediatric Hematology-Oncology. 17 (2): 94-100.
- 88- **Hamladji M, et al.** (2009). Approches épidémiologiques d'hémopathies malignes, Revue Algérienne d'hématologie, sous l'égide de la société Algérienne d'hématologie et de transfusion sanguine.
- 89- **Benakli M et al.** (2009). Approches épidémiologiques des leucémies aiguës myéloïdes en Algérie, travail coopératif et multicentrique sur 1877 cas (1995-2005). Revue Algérienne d'hématologie, sous l'égide de la société Algérienne d'hématologie et de transfusion sanguine.
- 90- **Aquino V.** (2002). Acute myelogenous leukemia. Current problem of Pediatric Adolescence Health Care.; 32:50-58.
- 91- **Pogoda J, Preston-Martin S, Nichols P, et al.** (2002). Smoking and risk of acute myeloid leukemia: results from a Los Angeles County case-control study. American Journal of Epidemiology; 155: 546-553.
- 92- **Pui C.H.** (1995). Medical Progress: Childhood Leukemia's. New England Journal of Medicine. Vol. 333. No. 5; 332:1618-1630.
- 93- **Crane M, Strom S, Halabi S, et al.** (1996). Correlation between selected environmental exposures and karyotype in acute myelocytic leukemia. Cancer Epidemiology Biomarkers Preview; 5:639-644.
- 94- **ESMO.** (2011), Qu'est-ce qui provoque la LAM, un guide pour les patients - basé sur les recommandations de L'ESMO (Européen Society for Medical Oncology).
- 95- **Alavanja M, Baron J A, Brownson RC, et al.** (2004). Tobacco Smoke and Involuntary Smoking, IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. International agency for research on cancer. World Health Organization. ISBN: 92-832-1283-5; ISSN 1017-1606; 1470 pages.
- 96- **Barrett J C, Bond J A, Beane-Freeman L, et al.** (2012). A review of human carcinogens: Chemical agents and related occupations. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. International agency for research on cancer. World Health Organization. ISBN 978 92 832 1323 9; ISSN 1017-160; 599 pages.

- 97- **Lebeau M, Albain K, Larson R, et al.** (1986). Clinical and cytogenetic correlations in 63 patients with therapy-related myelodysplasia syndrome and acute non-lymphocytic leukemia: further evidence for characteristic abnormalities of chromosomes no. 5 and 7. *Journal of Clinical Oncology*; 4:325-345.
- 98- **Pui C, Ribeiro R, Hancock M, et al.** (1991). Acute myeloid leukemia in children treated with épipodophyllotoxines for acute lymphoblastic leukemia. *New England Journal of Medicine*; 325: 1682-1687.
- 99- **Sanctis V, Mazzucconi M, Spadea A, et al.** (2003). Long-term evaluation of 164 patients with essential thrombocythaemia treated with pipobroman: occurrence of leukemic evolution. *British Journal of Hematology*; 123:517-521.
- 100- **Preston D, Kusumi S, Tomonaga M, et al.** (1994). Cancer incidence in atomic bomb survivors. Part III. Leukemia, lymphoma and multiple myeloma, 1950-1987. *Radiotherapy Research*; 137(2 Suppl): S68-97.
- 101- **Kossman E, Weiss A.** (2000). Acute myelogenous leukemia after exposure to strontium-89 for the treatment of adenoid-carcinoma of the prostate. *Cancer*; 88:620-624.
- 102- **Ben-David Y, Bernstein A.** (1991). Friend virus-induced érythro-leukemia and the multistage nature of cancer. *Cell*; 66:831-834.
- 103- **Kerr JR, Barah F, Cunniffe V, et al.** (2003). Association of acute parvovirus B19 infection with new onset of acute lymphoblastic and myeloblastic leukemia. *Journal of Clinical Pathology*; 56: 873-875.
- 104- **Fong C, Brodeur G.** (1987). Down's syndrome and leukemia: epidemiology, genetics, cytogenetic and mechanisms of leukemogenesis. *Cancer Genetic and Cytogenetic*; 28:55-76.
- 105- **Potzsch C, Voigtlander T, Lubbert M.** (2002). *P53* germline mutation in a patient with Li-Fraumeni Syndrome and three meta-chronous malignancies. *Journal of Cancer Research Clinical Oncology*.
- 106- **Leonard T. Heffner J.** (2007). Epidemiology, risk factors and classification (Acute Myeloid Leukemia). *Clinical Malignant Hematology*. New York: McGraw Hill Medical. 1: pp 1-8.
- 107- **Linnet M, Devesa S, Morgan G.** (2006). The leukemia's. *Cancer Epidemiology and Prevention*. (3rd Edition). New York: Oxford University Press. 44: pp. 841-871.
- 108- **IARC.** (2011). A review of human carcinogens - pharmaceuticals. International Agency for Research on Cancer (IARC). IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyon, France: World Health Organization. Volume 100A.
- 109- **Barbara D, Michael L.** (2006). Acute Myeloid Leukemia: Epidemiology and Etiology. Department of Hematology/Oncology, University of Freiburg, Freiburg, Germany. Volume 107/9.
- 110- **Gérard S.** (2005). *Hématologie clinique et biologique, leucémie myéloïde aigue*, 2^{ième} édition. 2005. page 159.
- 111- **Blaise D, Vey N, Mohty M.** (2005). Les leucémies aiguës (162).
- 112- **Disperati P, Suarez-Saiz F, Khoury H, et al.** (2006). *Prognostic Factors in Cancer*. (3rd Edition). Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, Inc. 42: pp. 291-300.
- 113- **Mauvieux L, Lessard M, Lioure B.** (2010). Leucémies aiguës. Cours de l'université médicale virtuelle francophone, Item 162, Disponible sur : umvf.univ-nantes.fr/hematologie/poly-hematologie.pdf.

- 114- Cheson BD, Cassileth PA, Head DR, et al.** (2013). Adult Acute Myeloid Leukemia Treatment; Report of the National Cancer Institute. *Journal of clinical oncology*, 8(5):813-9. Disponible sur : <http://www.cancer.gov/cancertopics/pdq/treatment/adultAML/Patient/page3>.
- 115- Foucar K, McKenna R, Bloomfield D, et al.** (1979). Therapy-related leukemia. *Cancer* 43:1285-1296.
- 116- Foulds L, et al.** (1969). Neoplastic development. New-York Academic Press. Vol 1; 439 pp.
- 117- Linheng Li, Tong Yin.** (2006). The stem cell niches in bone marrow. *American Society for Clinical Investigation*. Vol 116, Issue (5):1195–1201.10.1172/JCI28568.
- 118- Bonnet D, Dick J.** (1997). Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nature Medicine* 3: 730-7.
- 119- Passegue E, Jamieson C, Ailles L, et al.** (2003). Normal and leukemic hematopoiesis: are leukemia's a stem cell disorder or a reacquisition of stem cell characteristics ?. *Proc National Academy of Science (USA)* 100 Suppl 1: 11842-9.
- 120- Taussig D, Pearce D, Simpson C, et al.** (2005). Hematopoietic stem cells express multiple myeloid markers: implications for the origin and targeted therapy of acute myeloid leukemia. *Blood* 106: 4086-92. 2005.
- 121- Dick J.** (2008). Stem-cell concepts renew cancer research. *Blood*; 112: 4793-807.
- 122- Gilliland D.** (2002). Molecular genetics of human leukemia's: new insights into therapy. *Seminar of Hematology*; 39: 6-11.
- 123- Estey E, Dohner H.** (2006). Acute myeloid leukemia. *Lancet*; 368: 1894-907.
- 124- Agnes F, Shamon B, Dina C, et al.** (1994). Genomic structure of the downstream part of the human *FLT3* gene: exon-intron structure conservation among genes encoding receptor tyrosine-kinases (RTK) of subclass III. *Gene*; 145: 283-8.
- 125- Dash A, Gilliland D.** (2001). Molecular genetics of acute myeloid leukemia. *Best Practice & Research. Clinical Hematology*, 14(1), p.49-64.
- 126- Kelly L, Gilliland D.** (2002). Genetics of myeloid leukemia's. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 3, p.179-198.
- 127- Fröhling S et al.** (2005). Genetics of Myeloid Malignancies: Pathogenic and Clinical Implications. *Journal of Clinical Oncology*, 23(26), p.6285-6295.
- 128- Renneville A et al.** (2008). Cooperating gene mutations in acute myeloid leukemia: a review of the literature. *Leukemia: Official Journal of the Leukemia Society of America, Leukemia Research Fund, U.K.*, 22(5), p.915-931.
- 129- Thomas X, Elhamri M.** (2005). Farnesyl-transferase inhibitors: preliminary results in acute myeloid leukemia. *Bulletin Du Cancer*, 92(3), p.227-238.
- 130- Gilliland D, Griffin J.** (2002). The roles of *FLT3* in hematopoiesis and leukemia. *Blood*, 100(5), p.1532-1542.
- 131- Scholl S. et al.** (2009). Clinical implications of molecular genetics aberrations in acute myeloid leukemia. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 135(4), p.491-505.
- 132- Mrózek K, et al.** (2007). Clinical relevance of mutations and gene-expression changes in adult acute myeloid leukemia with normal cytogenetic: are we ready for a prognostically prioritized molecular classification? *Blood*, 109(2), p.431-448.
- 133- Takahashi S.** (2011). Current findings for recurring mutations in acute myeloid leukemia. *Journal of Hematology & Oncology*, 4, p.36.

- 134- Sargin B, et al.** (2007). Flt3-dependent transformation by inactivating *c-CBL* mutations in AML. *Blood*, 110(3), p.1004-1012.
- 135- Renneville A et al.** (2008). Cooperating gene mutations in acute myeloid leukemia: a review of the literature. *Leukemia: Official Journal of the Leukemia Society of America, Leukemia Research Fund, U.K.*, 22(5), p.915-931.
- 136- Döhner K, Döhner H.** (2008). Molecular characterization of acute myeloid leukemia. *Haematologica*, 93(7), p.976-982.
- 137- Licht J.** (2001). AML1 and the AML1-ETO fusion protein in the pathogenesis of t(8;21) AML. *Oncogene*, 20(40), p.5660-5679.
- 138- Martens J, Stunnenberg H.** (2010). The Molecular signature of onco-fusion proteins in acute myeloid leukemia. *FEBS Letters*, 584(12), p.2662-2669.
- 139- Goyama S, Mulloy J.** (2011). Molecular pathogenesis of core binding factor leukemia: current knowledge and future prospects. *International Journal of Hematology*, 94(2), p.126-133.
- 140- Krivtsov A, Armstrong S.** (2007). *MLL* translocations, histone modifications and leukemia stem-cell development. *Nature Reviews Cancer*, 7(11), p.823-833.
- 141- Ley T, et al.** (2010). *DNMT3A* mutations in acute myeloid leukemia. *The New England Journal of Medicine*, 363(25), p.2424-2433.
- 142- Döhner H, Gaidzik V.** (2011). Impact of genetic features on treatment decisions in AML. *Hematology / the Education Program of the American Society of Hematology. American Society of Hematology. Education Program*, 2011, p.36-42.
- 143- Delhommeau F, et al.** (2009). Mutation in *TET2* in myeloid cancers. *The New England Journal of Medicine*, 360(22), p.2289-2301.
- 144- Marcucci G, et al.** (2003). Phase one and pharmaco-dynamics studies of G3139, a *BCL-2* antisense oligonucleotid, in combination with chemotherapy in refractory or relapsed acute leukemia. *Blood*, 101(2), p.425-432.
- 145- Boissel N, et al.** (2010). Prognostic impact of isocitrate dehydrogenase enzyme isoforms 1 and 2 mutations in acute myeloid leukemia: a study by the Acute Leukemia French Association group. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 28(23), p.3717-3723.
- 146- Paschka P, et al.** (2010). *IDH1* and *IDH2* mutations are frequent genetic alterations in acute myeloid leukemia and confer adverse prognosis in cytogenetically normal acute myeloid leukemia with *NPM1* mutation without *FLT3* internal tandem duplication. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 28(22), p.3636-3643.
- 147- Mrózek K, Bloomfield C.** (2006). Chromosome aberrations, gene mutations and expression changes, and prognosis in adult acute myeloid leukemia. *Hematology / the Education Program of the American Society of Hematology. American Society of Hematology. Education Program*, p.169-177.
- 148- Falini B, et al.** (2005). Cytoplasmic nucleophosmin in acute myelogenous leukemia with a normal karyotype. *The New England Journal of Medicine*, 352(3), p.254-266.
- 149- Falini B, et al.** (2011). Acute myeloid leukemia with mutated nucleophosmin (*NPM1*): is it a distinct entity ? *Blood*, 117(4), p.1109-1120.
- 150- Colombo E, Alcalay M, Pelicci P.** (2011). Nucleophosmin and its complex network: a possible therapeutic target in hematological diseases. *Oncogene*, 30(23), p.2595-2609.

- 151- Chou W.** (2011). Distinct clinical and biological features of de novo acute myeloid leukemia with additional sex comb-like 1 (*ASXL1*) mutations. *Blood*, 116:4086-4094.
- 152- Owen C, Fitzgibbon J, Paschka P.** (2010). The clinical relevance of Wilms Tumors 1 (*WT1*) gene mutations in acute leukemia. *Hematological Oncology*, 28(1), p.13-19.
- 153- Lujambio A, Lowe S.** (2012). The micro-cosmos of cancer. *Nature*, 482(7385), p.347-355.
- 154- Murray M, Rushworth S, McEwan D.** (2012). Micro RNAs as a new therapeutic target towards leukemia signaling. *Cellular Signaling*, 24(2), p.363-368.
- 155- Mrozek K, et al.** (2009). Molecular signatures in acute myeloid leukemia. *Current Opinion in Hematology*, 16(2), p.64-69.
- 156- Baikie A.G, Court Brown W, Jacobs P.A.** (1960). Chromosome studies in leukemia. *Lancet Vol 1*; (168).
- 157- Ford C.E.** (1961). Chromosomes et leucémie. *Nouvelle revue française d'hématologie*. Vol 1 Issue (2): p ; 165-171.
- 158- Wald N, Li C, Turner J, et al.** (1961). Leukemia associated with mongolism. *Lancet*; 1: 1228.
- 159- Baikie A, Court Brown W, Buckton K, et al.** (1960). A possible specific chromosome abnormality in human chronic myeloid leukemia. *Nature*; 188: 1165.
- 160- Lévy J, Clauvel J, Varet B, et al.** (2008). *Hématologie et transfusion*. Masson. Paris: pagination multiple.
- 161- Limpens J, et al.** (1995). Lymphoma-associated translocation t(14;18) in blood B cells of normal individuals. *Blood* 85: 2528-2536.
- 162- Lister A, Abrey E, Sandlund T.** (2002). Central nervous system lymphoma. *Hematology American Society of Hematology Education Program*: 283-96.
- 163- Döhner H, Estey E, Amadori S, et al.** (2010). Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European Leukemia Net. *Blood*, Vol 115, No 3, 453-74.
- 164- Mann R, Berard C.** (1983). Criteria for the cytological sub-classification of follicular lymphomas: a proposed alternative method. *Hematology/Oncology*; 1(2):187-92.
- 165- Marechal V, Dehée A, Nicolas J.** (1997). Virus Epstein-Barr et immortalisation cellulaire. *Annales de Médecine Interne* 148: 367-371.
- 166- Limpens J, et al.** (1995). Lymphoma-associated translocation t(14;18) in blood B cells of normal individuals. *Blood* 85: 2528-2536.
- 167- Raimondi S, Chang M, Ravindranath Y, et al.** (1999). Chromosomal abnormalities in 478 children with acute myeloid leukemia: clinical characteristics and treatment outcome in a cooperative pediatric oncology group study-POG 8821. *Blood*; 94 (11): 3707-16.
- 168- Byrd J, Mrozek K, Dodge R, et al.** (2002). Pretreatment cytogenetic abnormalities are predictive of induction success, cumulative incidence of relapse, and overall survival in adult patients with de novo acute myeloid leukemia: results from Cancer and Leukemia Group B (CALGB 8461). *Blood*; 100 (13): 4325-36.
- 169- Martens J, Stunnenberg H.** (2010). L'signature moléculaire de protéines onco-fusion dans la leucémie myéloïde aiguë. *FEBS Letter* ; 584:2662-9.
- 170- Mrozek K, Radmacher M, Bloomfield C, et al.** (2009). Signatures moléculaires de la leucémie myéloïde aiguë. *Current Opinion Hematology*; 16: 64-9.

- 171- Melnick A, Licht JD.** (1999). Déconstruire une maladie: *RAR α* , ses partenaires de fusion, et leur rôle dans la pathogenèse de la leucémie aiguë promyélocytaire. *Hématologie* ; 93:3167-215.
- 172- Mitelman F, Johansson B, Mertens F.** (2010). Éditeurs. Base de données Mitelman des aberrations chromosomiques et génétiques Fusions dans le cancer. Disponible à partir de: <http://cgap.nci.nih.gov/Chromosomes/Mitelman>.
- 173- Licht J.** (2006). Reconstruire une maladie: ce que les caractéristiques essentielles des oncoprotéines de fusion du récepteur de l'acide rétinoïque génèrent leucémie promyélocytaire aiguë ? *Cancer Cell*; 9 :73-4.
- 174- Cameron E, Neil J.** (2004). Les gènes *RUNX*: oncogènes spécifique de la lignée et de suppresseurs de tumeurs. *oncogènes* ; 23. : 4308-14.
- 175- Bruijn M.** (2004). Facteurs de bases contraignantes dans l'hématopoïèse et la fonction immunitaire. *Oncogène*; 23. : 4238-48.
- 176- Davis JN, McGhee L, Meyers S.** (2003). The *ETO (MTG8)* gene family. *Gene*; 303:1-10. PMID: 12559562.
- 177- Meyers S, Lenny H.** (1995). La t(8;21) protéine de fusion interfère avec l'activation de la transcription AML-1B-dépendant. *Molecular Cell Biology*; 15:1974-82.
- 178- Frank R, Zhang J, Uchida H, et al.** (1995). L'*AML1/ETO* fusion des blocs de protéines trans-activation du promoteur GM-CSF par AML1B. *Oncogène*; 11: 2667-74.
- 179- Lutterbach B, Hiebert S.** (2000). Rôle du facteur de transcription AML-1 dans la leucémie aiguë et différenciation hématopoïétique. *Gene*; 245: 223-35.
- 180- Lutterbach B, Y Hou, Durst KL, et al.** (1999). L'inv(16) code pour une leucémie myéloïde aiguë 1 corépresseur transcription. *Proc National Academy of Science (USA)*; 96. :12822-7.
- 181- Eguchi M, Eguchi-Ishimae M, Greaves M.** (2005). Pathogenèse moléculaire des leucémies MLL-associé. *International Journal of Hematology*; 82: 9-20.
- 182- Krivtsov A, Armstrong S.** (2007). Les translocations *MLL*, modifications des histones et la leucémie développement de cellules souches. *National Review of Cancer*; 7: 823-33.
- 183- Fraisse J, Jaubert J, Goure D.** (1982). Chromosome anomalies in acute granular leukemia or acute non-lymphoid leukemia's. *Pathologie Biologie (Paris)*; 30 (9): 769-74.
- 184- Berger R, Bernheim A, Ochoa-Noguera M, et al.** (1987). Prognostic significance of chromosomal abnormalities in acute non-lymphocytic leukemia: a study of 343 patients. *Cancer Genetic/Cytogenetic*; 28 (2): 293-9.
- 185- Fenaux P, Preudhomme C, Lai J, et al.** (1989). Cytogenetic and their prognostic value in *de novo* acute myeloid leukemia: a report on 283 cases. *Br J Hematology*; 73 (1): 61-7.
- 186- Keating M, Smith T, Kantarjian H, et al.** (1988). Cytogenetic pattern in acute myelogenous leukemia: a major reproducible determinant of outcome. *Leukemia*; 2(7): 403-12.
- 187- Dastugue N, Payen C, Bernard P, et al.** (1995). Prognostic significance of karyotype in *de novo* adult acute myeloid leukemia. The BGMT group. *Leukemia*; 9(9): 1491-8.
- 188- Slovak M, Kopecky K, Cassileth P, et al.** (2000). Karyotype analysis predicts outcome of pre-remission and post-remission therapy in adult acute myeloid leukemia: a Southwest Oncology Group/Eastern Cooperative Oncology Group Study. *Blood*; 96 (13): 4075-83.

- 189- Grimwade D, Walker H, and Harrison G, et al.** (2001). The predictive value of hierarchical cytogenetic classification in older adults with acute myeloid leukemia (AML): analysis of 1065 patients entered into the United Kingdom Medical Research Council AML11 trial. *Blood*; 98 (5): 1312-20.
- 190- Farag S, Archer K, Mrozek K, et al.** (2006). Pretreatment cytogenetic add to other prognostic factors predicting complete remission and long-term outcome in patients 60 years of age or older with acute myeloid leukemia: results from Cancer and Leukemia Group B 8461. *Blood*; 108 (1): 63-73.
- 191- Wheatley K, Brookes C, Howman A, et al.** (2009). Prognostic factor analysis of the survival of elderly patients with AML in the MRC AML11 and LRF AML14 trials. *British Journal of Hematology*.
- 192- Kottaridis P, Gale R, Linch D.** (2003). *FLT3* mutations and leukemia. *British Journal of Hematology*; 122 (4): 523-38.
- 193- Gale R, Hills R, Kottaridis P, et al.** (2005). No evidence that *FLT3* status should be considered as an indicator for transplantation in acute myeloid leukemia (AML): an analysis of 1135 patients, excluding acute promyelocytic leukemia, from the UK MRC AML10 and 12 trials. *Blood*; 106 (10): 3658-65.
- 194- Schnittger S, Schoch C, Kern W, et al.** (2005). Nucleophosmin gene mutations are predictors of favorable prognosis in acute myelogenous leukemia with a normal karyotype. *Blood*; 106(12): 3733-9.
- 195- Verhaak R, Goudswaard C, van Putten W, et al.** (2005). Mutations in nucleophosmin (*NPM1*) in acute myeloid leukemia (AML): association with other gene abnormalities and previously established gene expression signatures and their favorable prognostic significance. *Blood*; 106 (12): 3747-54.
- 196- Dohner K, Schlenk R, Habdank M, et al.** (2005). Mutant nucleophosmin (*NPM1*) predicts favorable prognosis in younger adults with acute myeloid leukemia and normal cytogenetic: interaction with other gene mutations. *Blood*; 106 (12): 3740-6.
- 197- Thiede C, Koch S, Creutzig E, et al.** Prevalence and prognostic impact of *NPM1* mutations in 1485 adult patients with acute myeloid leukemia (AML). *Blood*, 2006; 107 (10): 4011-20.
- 198- Leroy H, Roumier C, Huyghe P, et al.** (2005). *CEBPα* point mutations in hematological malignancies. *Leukemia*; 19 (3): 329-34.
- 199- Baldus C, Thiede C, Soucek S, et al.** (2006). *BAALC* expression and *FLT3* internal tandem duplication mutations in acute myeloid leukemia patients with normal cytogenetic: prognostic implications. *Journal of Clinical Oncology*; 24 (5): 790-7.
- 200- Marcucci G, Baldus C, Ruppert A, et al.** (2005). Over-expression of the *ETS*-related gene, *ERG*, predicts a worse outcome in acute myeloid leukemia with normal karyotype: a Cancer and Leukemia Group B study. *Journal of Clinical Oncology*; 23 (36): 9234-42.

Annexes I

Tableau 1 : La classification FAB des LAM (*Bennet J et al, 1976*), (*Bennet J et al, 1985*).

Sous-type	Caractéristiques
LAM0	Les blastes ne sont pas classables sur les seuls critères morphologiques et la MPO est négative. Seul, le phénotype permet de classer les blastes dans cette catégorie en montrant, en l'absence de marqueurs lymphoïdes, la présence de marqueurs myéloïdes.
LAM1	Blastose médullaire de type myéloblastique avec moins de 10 % de la maturation granuleuse.
LAM2	Blastose médullaire de type myéloblastique avec plus de 10 % de maturation granuleuse présentant ou non des signes de dysgranulopoïèse.
LAM3 (Promyélocytaire)	<p>Leucémie aiguë.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Forme classique : Les blastes sont de taille variable avec un noyau réniforme. Le cytoplasme est basophile et comporte soit de nombreuses granulations azurophiles, soit de volumineuses granulations foncées soit de nombreux corps d'Auer en fagots. • Forme variante : Les blastes sont peu ou agranulaires à noyau en bissac ; quelques blastes à corps d'Auer ou à grosses granulations sont présents en nombre variable.
LAM4	<p>Elle se définit par la présence conjointe de blastes appartenant à la lignée granuleuse et à la lignée monocytaire (supérieur à 20 % de blastes). Il existe comme dans la LAM2 une maturation granuleuse de plus de 10 % de morphologie normale ou dysplasique.</p> <p>LAM4éosino : se caractérise par une maturation granuleuse constituée par des éosinophiles anormaux ; elle est corrélée à l'existence d'une anomalie cytogénétique caractéristique.</p>
LAM5	Plus de 90 % des blastes appartiennent à la lignée monocytaire. Ce sont soit des éléments peu différenciés dans LAM5a (monoblastes) soit des éléments plus différenciés dans le LAM5b (promonocytes, monocytes).
LAM6 (Erythroleucémie)	Elle se définit par une hyperplasie érythroblastique dépassant 50 % et la présence d'au moins 30 % de blastes myéloïdes parmi les cellules granuleuses.
LAM7	La moelle est souvent hypocellulaire avec des signes de myélofibrose. Les blastes sont parfois identifiables par leur morphologie rappelant la lignée mégacaryocytaire mais souvent, ils présentent un aspect indifférencié ou lymphoïde. Le phénotype est indispensable pour affirmer cette catégorie.

Annexes II

Tableau 1: Classification OMS des LAM (2001) (*Ferrant A et al, 2004*).

Type	Sous-type
LAM avec anomalies cytogénétiques récurrentes	LAM avec t (8;21)(q22;q22)
	LAM avec t(15;17) (q22;q12) et ses variants.
	LAM avec éosinophiles médullaires anormaux et anomalies sur le chromosome 16 : inv (16) (p13q22) ou t (16;16) (p13;q22)
	LAM avec anomalie chromosomique 11q23
LAM avec dysplasie multi-lignées	Faisant suite à un syndrome myélodysplasique ou un syndrome myéloprolifératif/dysplasique
	Sans antécédent de myélodysplasie
LAM post chimiothérapie	Liée aux agents alkylants
	Liée aux inhibiteurs de topoisomérase type II (quelques-unes pouvant être lymphoïdes)
	Liées à d'autres composants
LAM sans catégorisation particulière	LAM avec différenciation minimale
	LAM sans maturation
	LAM avec maturation
	LA myélo-monocytaire
	LA monoblastique ou monocytaire
	LA érythroïde
	LA mégacaryo-blastique
	LAM à composante basophile
	LA avec myélofibrose
	Sarcome granulocyttaire

Tableau 2: Classification OMS des LAM révisée en 2008 (*Weinberg O et al., 2009*).

Type	Sous-type
LAM avec anomalies cytogénétiques récurrentes	LAM avec t(8;21)(q22;q22); <i>RUNX1-RUNX1T1</i>
	LAM avec inv(16)(p13.1q22) ou t((16;16)(p13.1;q22); <i>CBFB-MYH11</i>
	leucémie aiguë promyélocytaire avec t(15;17)(q22;q12); <i>PML-RARA</i>
	LAM avec t(9;11)(p22;q23); <i>MLLT3-MLL</i>
	LAM avec t(6;9)(p23;q34); <i>DEK-NUP214</i>
	LAM avec inv(3)(q21q26.2) ou t(3;3)(q21;q26.2); <i>RPN1-EVII</i>
	LAM (megacaryoblastique) avec t(1;22)(p13;q13); <i>RBM15-MKLI</i>
	LAM avec mutation <i>NPM1</i> *
	LAM avec mutation <i>CEBPA</i> *
LAM avec caractéristiques myélodysplasiques	
Hémopathies myéloïdes induites par une thérapeutique	
LAM sans spécification	LAM avec différenciation minimale (LAM0)
	LAM sans maturation (LAM1)
	LAM avec maturation (LAM2)
	Leucémie aiguë myélo-monocytaire (LAM4)
	Leucémie aiguë monoblastique/monocytaire (LAM5a et 5b)
	Leucémie aiguë érythroblastique (LAM6)
	Leucémie érythroblastique pure (LAM6a)
	Erythroleucémie, érythroïde/myéloïde (LAM6b)
	Leucémie aiguë mégacaryo-blastique
	Leucémie aiguë à basophiles
Panmyélose aiguë avec myélofibrose	
Sarcome granulocyttaire	
Myélo-proliférations des trisomies 21 constitutionnelles	Myélopoïèse transitoirement anormale
	LAM associée aux trisomies 21 constitutionnelles
Leucémie aiguë à cellules dendritiques plasmocytoïdes	

* Entités provisoires.

Annexes III

Tableau 1 : Impact (sur le diagnostic et le suivi) des mutations majeures rencontrées dans les LAM ; matériel biologique et techniques utilisées (Liste non exhaustive) (Liopis L et al, 2009).

	Fréquence d'apparition		Dépistage		Analyse	
	Adultes (%)	Enfants (%)	Au diagnostic	Au suivi	Matériel	Technique
Mutations						
FLT3-ITD	28-33	15	Indispensable dans les LAM intermédiaires, LAM CBF	En MRD si absence d'autres marqueurs	MO (sang si pas de MO)	Analyse de l'ADN Analyse de fragments
FLT3-D835	5-10	5-10	Protocolaire	-	MO (sang si pas de MO)	RFLP
NPM1	25-35 (50 dans LAM-CN)	2-6	Indispensable dans les LAM intermédiaires (LAM-CN +++)	En MRD si absence de transcrit de fusion	MO (sang si pas de MO)	Analyse de fragments
C/EBP α	4-9	6	Indispensable dans les LAM CN si NPM1-/FLT3-ITD-	-	MO (sang si pas de MO)	Séquençage
WT1	5 (7-12,6 dans les LAM-CN)	8-12	Protocolaire dans les LAM intermédiaires	-	Sang (MO si pas de sang)	Analyse de fragments
c-KIT	2 (40 % dans inv(16); 15-50 dans t(8;21)	ND	Indispensable dans les LAM CBF	-	MO (sang si pas de MO)	Séquençage + RFLP
Hyperexpression						
WT1	80	80	Recommandé	En MRD si absence de transcrit de fusion	Sang (au diagnostic) Sang et MO (pour le suivi)	Analyse de l'ARN RT-PCR + Q-PCR
EVI1	10-15	ND	Recommandé	-	Sang (MO si pas de sang)	RT-PCR + Q-PCR

Résumé

Les LAM sont des hémopathies malignes caractérisées par la prolifération anarchique de cellules tumorales dérivées de progéniteurs hématopoïétiques dans la moelle osseuse. Ce sont des maladies principalement rencontrées chez l'adulte et associées à un pronostic péjoratif (une survie de 30 % à 5 ans chez le sujet jeune et de 10 % à 5 ans chez le sujet âgé). Les LAM restent des pathologies au pronostic sombre en raison d'une incidence fréquente de rechutes.

Les symptômes sont essentiellement non spécifiques, comprenant fièvre, malaise, pâleur, hémorragies, bien qu'un tiers des patients présentent aussi des symptômes spécifiques dus à des atteintes extra-médullaires. Les tests biologiques (myélogramme et NFS) révèlent principalement une leucopénie ou une leucocytose avec des blastes périphériques, une anémie et une thrombopénie. Huit sous-types morphologiques de LAM (M0-M7) associés à des caractéristiques et des évolutions différentes ont été définis d'après les critères de la classification internationale FAB (basée sur la cyto-morphologie et la cytochimie). Cependant l'introduction de l'analyse cytogénétique et moléculaire a permis une meilleure distinction (OMS, 2008) des LAM en entités plus pertinentes ce qui a conduit à une meilleure classification (plus pratique et plus pertinente).

L'étiologie des LAM demeure assez inconnue. Cependant, certains facteurs de risque sont maintenant bien établis alors que d'autres ne sont que suspectés. Certains syndromes constitutionnels, dont le plus important étant la trisomie 21, augmentent fortement le risque de développer une LAM chez les enfants. Certaines substances toxiques et médicamenteuses (principalement anti-néoplasiques) sont fortement impliquées dans le développement de LAM dites « secondaires ».

La mise en évidence de plusieurs altérations géniques acquises, clonales et spécifiques (essentiellement des mutations ponctuelles et des translocations) susceptibles de jouer un rôle majeur dans la transformation et la prolifération leucémique par activation d'oncogène et inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs à améliorer notre connaissances sur cette pathologie cancéreuse.

Ces altérations permettent de confirmer le diagnostic, assurer le suivi thérapeutique et constituent un facteur pronostique très fiable et indépendant. Le recours à l'analyse cytogénétique (classique, FISH et CGH) et moléculaire (PCR et RT-PCR) peut grandement contribuer à l'amélioration de la prise en charge des patients au niveau des structures de santé spécialisées.

Mots clés : LAM, cytogénétique, biologie moléculaire.

سرطان الدم النخاعي الحاد (LAM) من بين سرطانات الدم التي تتميز بالانتشار غير المنضبط للخلايا السرطانية المستمدة من الأسلاف المكونة للدم في نخاع العظام وهو مرض يعرف أساساً عند البالغين، ويرتبط بسوء التشخيص (البقاء على قيد الحياة في 30 % لمدة 5 سنوات للمرضى الصغار في السن و في 10 % لمدة 5 سنوات عند المسنين). ويبقى هذا المرض يتميز بسوء التشخيص و الحوادث المتكررة من الانتكاس.

أعراض سرطان الدم النخاعي الحاد هي أساساً غير محددة، بما في ذلك الحمى، التوعك، الشحوب، والنزيف، على الرغم من أن ثلث المرضى لديهم أيضاً أعراض محددة تعود لسبب انتهاكات خارج النخاع للخلايا السرطانية. الاختبارات البيولوجية (تصوير وعد كريات النخاع و الدم، NFS، (Myélogramme)، تظهر بشكل رئيسي قلة أو زيادة في عدد الكريات البيضاء مع فقر الدم ونقص الصفائح الدموية، وقد تم تحديد ثمانية أنواع فرعية مورفولوجية (M0-M7) مرتبطة بخصائص مختلفة وفقاً لمعايير التصنيف الدولي FAB (تستند إلى المورفولوجيا والكيمياء الخلوية)، ومع ذلك، فإن إدخال التحليل الوراثي الخلوي والجزئي (حسب معايير منظمة الصحة العالمية (OMS) ، 2008) يؤدي إلى تصنيف أفضل (أكثر عملية وذات صلة).

أسباب هذا المرض لا تزال غير معروفة نسبياً، غير أن بعض عوامل الخطر معترف بها الآن، في حين أن أخرى لا تزال قيد الشك، بعض الاختلالات الجينية، وأهمها تثلاث الصبغي 21، يزيد خطر الإصابة بهذا المرض بنسبة كبيرة عند الأطفال، بعض الأدوية (مضادات الأورام في المقام الأول) والمواد السامة تساهم بشكل كبير في تطوير سرطان الدم النخاعي الحاد الثانوي.

يسلط الضوء على العديد من التعديلات الوراثية المكتسبة (خاصة الطفرات و الانكسارات الصبغية) التي من المحتمل أن تلعب دوراً رئيسياً في تحول وانتشار اللوكيميا، عن طريق تفعيل الجينات المتسرطنة وتنشيط الجينات القامعة للأورام ، لتحسين معرفتنا بهذا المرض الخبيث.

يمكن لهذه التعديلات تأكيد التشخيص، وضمان المراقبة العلاجية، وتشكيل عوامل تنبأ مستقلة و موثوق بها، كما أن استخدام التحليل الوراثي الخلوي (الكلاسيكي، FISH، CGH) والجزئي (PCR، و-RT PCR) يمكن أن يساهم إلى حد كبير في تحسين رعاية المرضى على مستوى المرافق الصحية المتخصصة.

الكلمات المفتاحية : سرطان الدم النخاعي الحاد، علم الوراثة الخلوية، البيولوجيا الجزيئية.

AML are hematological malignancies characterized by the uncontrolled proliferation of hematopoietic progenitors derived from the bone marrow tumor cells. These diseases are mainly encountered in adults and associated with a poor prognosis (a survival from 30 % for 5 years in younger patients and 10 % for 5 years in the aged). AML pathologies remain poor prognosis due to frequent incidence of decline.

The symptoms are mainly non-specific, including fever, disquiet, pallor, bleeding, although third parts of patients also have specific symptoms due to extra-medullar reached. Bioassays (bone marrow count and NFS) show mainly leucopenia or leukocytosis with peripheral blasts, anemia and thrombocytopenia. Eight morphological subtypes of AML (M0-M7) associated with different characteristics and trends were defined according to the criteria of the international classification FAB (based on the cyto-morphology and cyto-chemistry). However, the introduction of cytogenetic and molecular analysis allowed a better distinction (WHO, 2008) of AML more relevant, which leads to better classification (more practical and more relevant) entities.

The etiology of AML remains relatively unknown. However, some risk factors are now well established, while others are only suspected. Some constitutional syndromes, which the most important being trisomy 21, significantly increase the risk of developing AML in children. Some drugs (mainly anti-neoplastic) and chemical toxic and highly involved in the development of AML called "secondary".

The identification of several genetic alterations acquired clonally and specific (essentially point mutations and translocations) may play a major role in leukemic transformation and proliferation by activating oncogene and inactivation of tumor suppressor genes to improve our knowledge of this malignancy.

These alterations can confirm the diagnosis, allow the therapeutic monitoring and be a very reliable and independent prognosis factor. The use of cytogenetic analysis (classic, FISH and CGH) and molecular (PCR and RT-PCR) can greatly contribute to improving the care of patients at specialized health structures.

Keywords: AML, cytogenetic, molecular biology.

Étude bibliographique sur la génétique des leucémies aiguës myéloïdes ; État des lieux et perspectives.

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de **Master en Génétique Moléculaire** (filière de Biologie Animale, domaine des Sciences de la Nature et de la Vie).

Les LAM sont des hémopathies malignes caractérisées par la prolifération anarchique de cellules tumorales dérivées de progéniteurs hématopoïétiques dans la moelle osseuse. Ce sont des maladies principalement rencontrées chez l'adulte et associées à un pronostic péjoratif (une survie de 30 % à 5 ans chez le sujet jeune et de 10 % à 5 ans chez le sujet âgé). Les LAM restent des pathologies au pronostic sombre en raison d'une incidence fréquente de rechutes.

Les symptômes sont essentiellement non spécifiques, comprenant fièvre, malaise, pâleur, hémorragies, bien qu'un tiers des patients présentent aussi des symptômes spécifiques dus à des atteintes extra-médullaires. Les tests biologiques (myélogramme et NFS) révèlent principalement une leucopénie ou une leucocytose avec des blastes périphériques, une anémie et une thrombopénie. Huit sous-types morphologiques de LAM (M0-M7) associés à des caractéristiques et des évolutions différentes ont été définis d'après les critères de la classification internationale FAB (basée sur la cyto-morphologie et la cytochimie). Cependant l'introduction de l'analyse cytogénétique et moléculaire a permis une meilleure distinction (OMS, 2008) des LAM en entités plus pertinentes ce qui a conduit à une meilleure classification (plus pratique et plus pertinente).

L'étiologie des LAM demeure assez inconnue. Cependant, certains facteurs de risque sont maintenant bien établis alors que d'autres ne sont que suspectés. Certains syndromes constitutionnels, dont le plus important étant la trisomie 21, augmentent fortement le risque de développer une LAM chez les enfants. Certaines substances toxiques et médicamenteuses (principalement anti-néoplasiques) sont fortement impliquées dans le développement de LAM dites " secondaires ".

La mise en évidence de plusieurs altérations géniques acquises, clonales et spécifiques (essentiellement des mutations ponctuelles et des translocations) susceptibles de jouer un rôle majeur dans la transformation et la prolifération leucémique par activation d'oncogène et inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs à améliorer notre connaissances sur cette pathologie cancéreuse.

Ces altérations permettent de confirmer le diagnostic, assurer le suivi thérapeutique et constituent un facteur pronostique très fiable et indépendant. Le recours à l'analyse cytogénétique (classique, FISH et CGH) et moléculaire (PCR et RT-PCR) peut grandement contribuer à l'amélioration de la prise en charge des patients au niveau des structures de santé spécialisées.

Mots clés : LAM, cytogénétique, biologie moléculaire.

Jury d'évaluation :

Président du jury : *Satta Dalila* (Professeur - Université Constantine I).
Rapporteur : *Rezgoune Mohamed Larbi* (MA.A - Université Constantine I).
Examineurs : *Chaoui Naouel* (MC.B - Université Constantine I),
Rezgoune-Chellat Djalila (MC.B - Université Constantine I).

Soutenu publiquement le : Mercredi 18/06/2014.