

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

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



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

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية الطبيعة والحياة
بيولوجيا يوان

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

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

N° d'ordre :
N° de série :

Intitulé :

**Analyse cytogénétique des Leucémies Myéloïdes Chroniques (LMC)
dans la région de Constantine.**

Présenté et soutenu par : DEMBRI Moncef
DREBIN Nesrine
MERABET Abdelkader.

Le 01/07/2018

Jury d'évaluation :

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

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

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

**Année universitaire
2017 - 2018**

Remerciements

Nous remercions le bon Dieu tout puissant qui nous a donné la force et la volonté de réaliser ce projet et nous lui rendons grâce...

*Au professeur **SATTA D**, honorable maître, nous avons eu la chance de bénéficier de votre enseignement et esprit scientifique, vos qualités, votre disponibilité et surtout votre dévouement forcent l'admiration et le respect. Veuillez bien, au-delà de nos insuffisances et de nos lacunes, considérer ce modeste travail comme un hommage, très faible à notre gré, à votre personnalité.*

*À monsieur **REZGOUNE ML**, Nous avons, pendant longtemps, bénéficié de votre savoir, votre manière d'enseigner et votre bienveillance. Merci d'avoir accepté la lourde charge qui incombe aux encadreurs, merci pour votre patience et vos conseils avisés. Veuillez trouver ici, l'expression de notre profond respect et notre grande reconnaissance.*

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

*À Mme **NINI A**, la responsable du laboratoire de la cytogénétique du centre de la recherche en biotechnologie (CRBT): Nous avons été très touchés par l'accueil chaleureux que vous nous avez réservé. Vos qualités professionnelles et humaines, votre ardeur et lucide compréhension sont pour nous un exemple à suivre. Et merci Pour la liberté que vous nous avez laissé pendant tout ce temps, et sans qui, la réalisation de ce travail n'aurait pas été possible.*

*Au docteur **HANACHI S**, responsable de l'unité de cytogénétique, Laboratoire de Biologie et Génétique Moléculaire (BGM), CHU Benbadis Constantine, qui nous ont ouvert les portes des structures dont elle avait la responsabilité et qui ont tous mis à notre disposition pour nous permettre de travailler dans les meilleures conditions.*

*Nous tenons à exprimer nos remerciements les plus sincères à Dr **ZIADA H** qui accepter de faire partie de notre jury et de juger notre modeste travail.*

Dédicaces

Je dédie ce mémoire :

À ceux qui me sont les plus chers :

- *À la mémoire de Mon père :*

MOUSSA DEMBRI

Il est clair pour moi que ton âme habite toujours mon cœur et que c'est dans mes veines de se manifester dans ma vie.

- *Ma mère : DJANET MANAA*

Je ne trouverai de mots assez forts pour vous exprimer mon affection et mon estime pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis ma naissance.

Ces dédicaces ne seraient pas complètes sans une pensée pour mon frère, ma grande famille, mes amis et pour les personnes qui m'ont apporté leur aide et qui ont ainsi contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.

DEMBRI Moncef

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

- *Mes chers parents qui m'ont soutenu le long de mon parcours, pour leur confiance, leur aide morale, leur amour, leurs encouragements, Que Dieu, vous accorde la prospérité, la santé et la longévité. J'espère que je sois à la hauteur de vos sacrifices et que votre bénédiction m'accompagne toujours.*
- *La mémoire de mon oncle **Salim** qui a insisté pour que je termine mes études.*
- *Mon fiancé **Abd El-Ali** qui m'a beaucoup aidé et encouragé, et a été le meilleur soutien moral pour moi, merci de m'avoir supporté durant toute cette période.*
- *Mes deux adorables frères **Karim** et **Walid** que j'aime profondément, merci d'être là à chaque fois quand j'ai besoin de vous, je vous souhaite un avenir radieux inchallah.*
- *Mes deux grand-mères qui étaient et seront toujours dans ma mémoire et dans mon cœur.*
- *Mes chères tantes **Chahra**, **Nora**, **Maha**, **Nadia** et **Wafia** et leurs maris.*
- *Mes chères cousines **Assia**, **Housna**, **Nada**, **Rana**, **Tinhinene**, **Zahia**, **Rayene** et **Djihene**, Que dieu vous protège et vous réserve un bon avenir.*
- *Mes adorables amies avec qui j'ai partagé les meilleurs moments : **Maissa**, **Nedjah** et **Soumia**.*
- *Toutes personnes que je n'ai pas citées et qui m'ont aidé de près ou de loin, je les en remercie.*

DREBIN Nesrine

Dédicaces

Je dédie ce mémoire :

- **À Mes parents *Abd ElMadjid et Zohra...***

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

- **À mon unique chère frère *Hichem* et **Mes sœurs...****

Vous êtes ma joie, ma force, mon énergie positive...

Pour l'affection qui nous lie, pour l'intérêt que vous portez à ma vie, pour votre soutien, votre compréhension et vos encouragements. Je souhaite que vous trouviez dans ce travail, le témoignage de l'attachement, de l'amour et des sentiments

Les plus sincères et les plus affectueux que je porte pour Vous. Que dieu vous protège et vous réserve un bon avenir.

- *Merci de tout cœur à tous mes oncles *Amor et Malik*, cousins en particulier, *Farhat, Khaled, Salim, Yassine, Fares, Amar...**
- *À mes amies *Chawki, Ramzi, Hamza, Mostafa, Zaki, Zawech...**
- *Tous ceux qui me connaissent et à tous ceux qui ont contribué d'une manière ou d'une autre à l'aboutissement de notre travail.*

MERABET Abdelkader

Abréviations

ABL : Abelson
BCR : Break point Cluster Région
BFU-E : Burst forming Unit-Érythrocyte
BOM : Biopsie Ostéo-Médullaire
CD : Cluster of Differentiation
CFU : Colony Forming Unit
CFU-B : Colony Forming Unit-Basophile
CFU-E : CFU-Erythrocyte
CFU-Eo : CFU-Éosinophile
CFU-G : CFU-Granulocyte
CFU-GEMM : CFU-Granulocyte, Érythrocytes, Monocytes et Mégacaryocyte.
CFU-GM : CFU-Granulocyte Monocytes
CFU-L : CFU-Lymphoïde
CFU-M : CFU-Monocyte
CFU-Meg : CFU-Mégacaryocyte
CSH : Cellule Souche Hématopoïétique
EPO : ÉrythroPOïétine
FAB : French-American-British Cooperative Group
FISH : Fluorescence *In Situ* Hybridization
HLA : Human Leucocyte Antigen
IL : Interleukine
INF- : Interferon-alpha
ITK : Inhibiteur de Tyrosine Kinase
Kcl : Chlorure de potassium
LAL : Leucémies Aiguë Lymphoïde
LAM : Leucémie Aiguë Myéloïde
LMC : Leucémie Myéloïde Chronique
M-BCR : Major-Breakpoint Cluster Region
FNS : Numération Formule Sanguine
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
PBS : Phosphate Buffred Saline
PEG : Polyéthylène Glycol
ph1 : Chromosome Philadelphie
PMP : Progéniteur Multipotent
PNB : Polynucléaires Basophiles
PNEo : Poly-Nucléaires Éosinophiles
PNN : Polynucléaires Neutrophiles
RCC : Réponse Cytogénétique Complète
RHC : Réponse Hématologique Complète
RMC : Réponse Moléculaire Complète
RPMI : Roswell Park Memorial Institute medium
RQ-PCR : Real-time Quantitative-Polymerase-Chain Reaction
RT-PCR : Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction
SCF : Stem Cell Factor
SMD : Syndromes Myélo Dysplasiques
SMP : Syndromes Myélo Prolifératifs
SVF : Serum de Veau Fœtal
TPO : Thrombopoïétine

Table des matières

Introduction

Page 01

Partie bibliographique

Chapitre I : sang, moelle et hématopoïèse

I-	Le sang	03
II-	La moelle osseuse	04
III-	Hématopoïèse	05
	1- Définition	05
	2- Les compartiments de l'hématopoïèse	05
	3- Régulation de l'hématopoïèse	07
	4- Hémopathies malignes	08

Chapitre II : la leucémie myéloïde chronique

I-	Historique	09
II-	Définition	10

Chapitre III : aspects cliniques et biologiques de la LMC

I-	Épidémiologie	11
II-	Étiologie	12
	1- Facteurs génétiques	12
	2- Facteur environnementaux	13
	a- Radiations ionisantes	13
	b- Benzène	14
III-	Aspect clinique des LMC	15
	1- La phase chronique	15
	2- La phase d'accélération	16
	3- La phase blastique	16
IV-	Aspect biologique des LMC	17
	1- Hémogramme	17
	2- Myélogramme	17
	3- Biopsie Ostéo-Médullaire	18
V-	Pronostic	18
VI-	Traitements de la LMC	20
	1- La chimiothérapie	21
	2- Allogreffe de moelle osseuse	21
	3- Interféron alpha	21
	4- Thérapeutique ciblée ; les inhibiteurs des tyrosines kinases	22

Chapitre IV : génétique de la LMC

I-	Mécanisme moléculaire de la leucémogénèse	23
	1- Cellules normales	23
	2- Cellules cancéreuses	23
	3- Mécanisme moléculaire	23
II-	Biologie moléculaire du chromosome Philadelphie	25
	1- Gène <i>ABL</i>	25
	2- Gène <i>BCR</i>	25
	3- Réarrangement <i>BCR/ABL</i>	26
	4- La protéine de fusion p210 BCR-ABL	27
III-	Diagnostic génétique et suivi moléculaire des LMC	29
	1- Cytogénétique	29
	2- L'hybridation par fluorescence <i>in situ</i> (FISH)	31
	3- Biologie moléculaire	32

Partie pratique

Patients et méthodes

I-	Contexte de l'étude	33
II-	Matériel et méthodes	33
III-	Méthodologie	34

Résultats et discussion

I-	Étude statistique	40
II-	Étude cytogénétique	44

Conclusion et perspectives	54
---	----

Références bibliographiques	56
--	----

Résumés

Liste des figures

Figure 01 : organisation des compartiments de l'hématopoïèse	06
02 : les facteurs de croissance hématopoïétiques	08
03 : évolution des traitements de la LMC	20
04 : mode d'action des inhibiteurs de la tyrosine kinase	22
05 : la translocation réciproque t(9;22) ou chromosome Philadelphie	24
06 : cartographie du gène <i>ABL</i>	25
07 : cartographie du gène <i>BCR</i> avec les différents points de cassure	26
08 : translocation t(9;22) et des différents types de transcrits <i>BCR-ABL</i>	26
09 : la protéine de fusion <i>BCR-ABL</i>	27
10 : voies de signalisation cellulaire de la protéine de fusion <i>BCR-ABL</i>	28
11 : caryotype avec la translocation t(9;22)(q34;q11) (bandes R)	30
12 : résultat FSIH d'une translocation t(9;22)(q34;q11)	32
13 : Caryotype témoin normal d'un homme	39
14 : Caryotype témoin normal d'une femme	39
15 : répartition des cas de LMC par structure de prise en charge	40
16 : évolution de l'incidence de la LMC par structure de prise en charge	42
17 : répartition des cas de LMC en fonction du sexe.....	43

18 : chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé (patient N°01)	46
19 : caryotype du patient N°01	46
20 : chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé (patient N°02)	47
21 : caryotype du patient N°02	47
22 : chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé (patient N°03)	48
23 : caryotype du patient N°03.....	48
24 : chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé (patient N°04)	49
25 : caryotype du patient N°04	49

Liste des tableaux

Tableau I : score pronostic de Sokal	19
II : score pronostic de Hasford	19
III : score pronostic de Gratwohl	20
IV : répartition des cas de LMC par structure de prise en charge	40
V : évolution de l'incidence de la LMC par structure de prise en charge	41
VI : répartition des cas de LMC en fonction du sexe	43
VII : caractéristiques clinco-biologiques des patients LMC caryotypés	45
VIII : résultats de l'analyse cytogénétique des patients LMC caryotypés	50

La Leucémie Myéloïde Chronique (LMC) est une hémopathie maligne appartenant au groupe des Syndromes Myéloprolifératifs Chroniques (SMPC). Il s'agit d'une prolifération monoclonale affectant la cellule souche pluripotente hématopoïétique, prédominante sur la lignée granuleuse. Elle est très bien caractérisée depuis la découverte d'un petit chromosome anormal, le chromosome Philadelphie, issu de la translocation réciproque entre le chromosome 9 et le chromosome 22 (**Nowell et Hungerford, 1960**), le chromosome 22 qui résulte porte un gène de fusion anormal appelé *BCR-ABL* produisant une protéine chimérique, doué d'activité tyrosine kinase (**Rowley, 1973**), aux propriétés oncogéniques, et qui est à l'origine de la majeure partie des phénomènes qui mènent à la transformation leucémique. Cette anomalie cytogénétique est considérée aujourd'hui comme l'élément clef du diagnostic de cette hémopathie (**Mahon, 2001**).

La LMC est une hémopathie « chronique » qui présente généralement trois phases cliniques : la première est une phase chronique d'installation relativement bénigne qui peut durer plusieurs années, suivie d'une phase d'accélération et, enfin, d'une phase d'acutisation (crise blastique) fatale en l'absence de traitement. La première médication utilisée dans ce contexte était la chimiothérapie (busulfan, hydroxyurée), puis l'interféron alpha, plus efficace. Au début du 21^{ème} siècle, l'introduction dans la thérapeutique des inhibiteurs de tyrosine kinase, l'Imatinib, de première génération, puis le Dasatinib, le Nilotinib de seconde génération, a complètement révolutionné la prise en charge de cette maladie (**Brummendorf et al., 2008**). Là encore, la cytogénétique permet d'évaluer l'efficacité du traitement par le suivi de la maladie résiduelle (**Deininger et al., 2016**). L'analyse hématologique et cytogénétique (classique et moléculaire), complétée éventuellement par des techniques pointues de biologie moléculaire permettent un suivi correcte de la LMC et une meilleure prise en charge des patients. Mais, ce sont les caractéristiques cliniques et biologiques, et surtout le chromosome Philadelphie, marqueur de la maladie, et son équivalent moléculaire, qui ont permis de définir les différents critères de réponse au traitement (**Deininger et al., 2016 ; Sorel et al., 2017**).

Les objectifs de notre travail de recherche sont :

- Faire une recherche bibliographique sur le sujet et rédiger un document de synthèse sur ces hémopathies complexes en mettant l'accent sur l'épidémiologie, l'étiologie ainsi que sur les mécanismes moléculaires de la leucémogénèse. L'apport de la cytogénétique et de la biologie moléculaire dans la prise en charge des LMC sera richement illustré.
- Faire le tour les diverses techniques hématologiques, utilisées pour le diagnostic et la prise en charge des LMC au niveau du service d'hématologie du CHU Benbadis - Constantine.
- Utiliser, au niveau du Centre de Recherche en Biotechnologies (CRBt), les techniques de cytogénétique classique pour la recherche du chromosome Philadelphie et ce dans le cadre de la confirmation du diagnostic de la LMC et du suivi de la maladie résiduelle.

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I
SANG, MOELLE ET
HÉMATOPOÏÈSE

I- Le sang :

Sang en latin *sanguis*, est un tissu conjonctif spécialisé, d'origine mésenchymateuse, de consistance liquide et de couleur rouge due à la présence très majoritaire de globules rouges, ou hématies, riches en hémoglobine. Légèrement alcalin (pH 7,35 à 7,45), il a une saveur salée, et son odeur, qui est toute particulière, est un peu nauséuse. Les cellules qui le composent sont en suspension dans le plasma ; un liquide complexe constitué d'eau, de sels minéraux et de molécules organiques. Après coagulation, le plasma dépourvu de fibrinogène constitue le sérum. Le sang remplit le système vasculaire entier composé de vaisseaux artériels et veineux. Ce tissu très particulier assure le transport des gaz respiratoires (par les hématies), la défense de l'organisme (par les leucocytes) ainsi que la cicatrisation (par les thrombocytes) (Norbertet *et al.*, 2014 ; Azzouz, 2017). On distingue dans le sang deux parties essentielles :

- **La phase liquide (plasma) :** la phase liquide du sang, le plasma, représente 55% du volume sanguin, est composée d'eau (90%) et de substances solubles ; protéines (albumine, globulines), glucides, lipides et sels minéraux. Sorti du système vasculaire ou sous l'effet de certains stimuli, le plasma coagule ; l'une de ses protéines, le fibrinogène, soluble, se transforme en une molécule insoluble, la fibrine. Ce qui reste liquide après coagulation du plasma est le sérum. Le plasma garantit la pression oncotique par le biais des protéines (l'albumine en particulier), assurant ainsi le maintien du plasma dans le système vasculaire. Différentes protéines du plasma participent à l'hémostase, à la défense de l'organisme vis-à-vis des agents infectieux (immunoglobulines) ainsi qu'au transport de diverses molécules (Chesnel, 2013).
- **Les éléments figurés (cellules) :** le sang contient des cellules anucléées, les hématies (également nommées globules rouges ou érythrocytes), des cellules nucléées, les leucocytes (ou globules blancs : Polynucléaires Neutrophiles (PNN), Polynucléaires Éosinophiles (PNEo), Polynucléaires Basophiles (PNB), Monocytes (Mono) et les lymphocytes) et des fragments de cytoplasme, les plaquettes (ou thrombocytes). Leur origine est médullaire, provenant toutes d'une même Cellule Souche Hématopoïétique (CSH) pluripotente, après intervention directe ou indirecte de facteurs de croissance hématopoïétiques agissant sur la différenciation et la maturation de lignées cellulaires médullaires, avec passage dans le sang d'éléments ayant fini leurs maturations (Chesnel, 2013).

II- La moelle osseuse :

La moelle osseuse est un tissu vivant, spécialisé, également d'origine mésenchymateuse, à consistance " onctueuse ", situé au centre des os, responsable de la production des différents types de cellules sanguines. Ce tissu, anatomiquement diffus, 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) (Nicolas *et al.*, 2013).

- **La moelle rouge :** véritable construction hématogène composée de différentes structures en disposition concentrique, composée 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. La moelle osseuse hématopoïétique assure plusieurs fonctions : hématogène (production des cellules du sang), immunologique (organe lymphoïde primaire, lieu de différenciation et de maturation des lymphocytes B) et ostéogène (formation, croissance et remodelage du tissu osseux).
- **La moelle jaune :** tissu adipeux, elle provient de la transformation de la moelle rouge dont la croissance est achevée. Elle est formée de grosses cellules adipeuses (96%), sa principale fonction est celle d'une réserve de lipides.
- **La moelle grise :** c'est un tissu fibreux qui se trouve chez les personnes âgées. En effet, les tissus hématopoïétiques et adipeux peuvent se transformer secondairement en un tissu conjonctif de type fibreux (Michel, 2005).

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. La moelle grise s'installe progressivement au-delà de 60 ans (Michel, 2005 ; Nicolas *et al.*, 2013).

III- Hématopoïèse :

3-1- Définition :

L'hématopoïèse est un ensemble de mécanismes assurant la production continue et régulée des cellules sanguines matures, spécialisées, ayant une durée de vie limitée (1 à 3j pour les PNN, 7 à 10j pour les plaquettes, 120j pour les hématies et quelques mois pour les monocytes et les lymphocytes) et incapables de se renouveler. Ce processus a lieu dès l'embryogenèse et se poursuit durant toute la vie adulte d'un organisme. La production de cellules sanguines est quantitativement très importante ; chaque jour sont renouvelés 1% des hématies, 10% des plaquettes et presque la totalité des granulocytes. L'hématopoïèse s'effectue à partir de cellules souches indifférenciées (CSH), dont certaines d'entre elles vont se différencier pour générer les diverses lignées (**Binet *et al.*, 2011 ; Imrani, 2013**). L'hématopoïèse s'effectue en différents endroits, en fonction de l'âge :

- **La phase primordiale** : l'hématopoïèse "primitive" débute dès la troisième semaine du développement embryonnaire dans la paroi du lecithocèle secondaire, dans le sac vitellin puis dans la région Aorte-Gonade-Mésonéphros. À ce stade embryonnaire, cette hématopoïèse a pour but la formation des globules rouge nucléés (érythroblastes).
Phase hépato-spléno-thymique : cette phase débute dès le deuxième mois du développement embryonnaire. En effet, les CSH vont coloniser le foie fœtal, le thymus, la rate et enfin la moelle osseuse où elles s'installent de manière définitive, et qui vont se mettre à produire des érythrocytes, des granulocytes et des lymphocytes.
- **Phase médullo-lymphatique** : débute entre le deuxième et le troisième mois de grossesse et se poursuit ainsi toute la vie. Après la naissance, l'hématopoïèse se déroule, dans la moelle des os, et en particulier, chez l'adulte, dans l'os sternal, les os iliaques et la tête du fémur (**Azzouz, 2017**).

3-2- Les compartiments de l'hématopoïèse :

La cascade hématopoïétique comprend quatre compartiments représentant des stades de différenciations séquentiels, mais qui s'enchaînent de façon discrète. Ces différents types de précurseurs possèdent chacun des caractéristiques d'auto-renouvellement, de prolifération et de différenciation distincte. Ce processus comprend l'auto-renouvellement des cellules souches, l'engagement de ces cellules, progressivement dans des lignées spécifique et la différenciation et maturation des progéniteurs engagés en cellules sanguines fonctionnelles (**Binet *et al.*, 2011 ; Azzouz, 2017**).

- **Cellules souches hématopoïétiques** : les cellules souches totipotentes sont localisées dans la moelle osseuse, possèdent trois propriétés fondamentales : une capacité de reconstitution de l'hématopoïèse myéloïde et lymphoïde chez la souris, une capacité d'auto-renouveaulement permettant le maintien et l'amplification de la population des CSH ainsi qu'une pluripotence ou potentiel de différenciation multi-lignage permettant la génération continue des cellules matures du sang. Les CSH génèrent le Progénéiteur Multi-Potent (PMP) qui se différencie en progéniteurs érythro-myéloïdes (CFU-GEMM) ou en progéniteurs lymphoïdes (CFU-L).
- **Les progéniteurs** : ce compartiment comprend des cellules immatures multipotentes et possèdent une grande capacité de prolifération, ainsi que des progéniteurs matures qui ont un potentiel de prolifération et de différenciation plus restreint. Les progéniteurs perdent progressivement leur capacité d'auto-renouveaulement au fur et à mesure de leur avancement dans la différenciation.
- **Les précurseurs** : premières cellules morphologiquement identifiables de chaque lignée. Ce ne sont plus des cellules souches car elles ont perdu toute capacité d'auto-renouveaulement. Le but des précurseurs est la multiplication et la maturation cellulaire. Les progéniteurs expriment à leur surface la sialomucine CD34 et représentent environ 1% des cellules mononuclées médullaires. L'absence d'expression de CD38 caractérise la fraction des progéniteurs les plus immatures (cellules CD34+ CD38-).
- **Les cellules matures** : cellules terminales, matures et fonctionnelles qui vont passer dans le sang (Binet *et al.*, 2011) (figure 01).

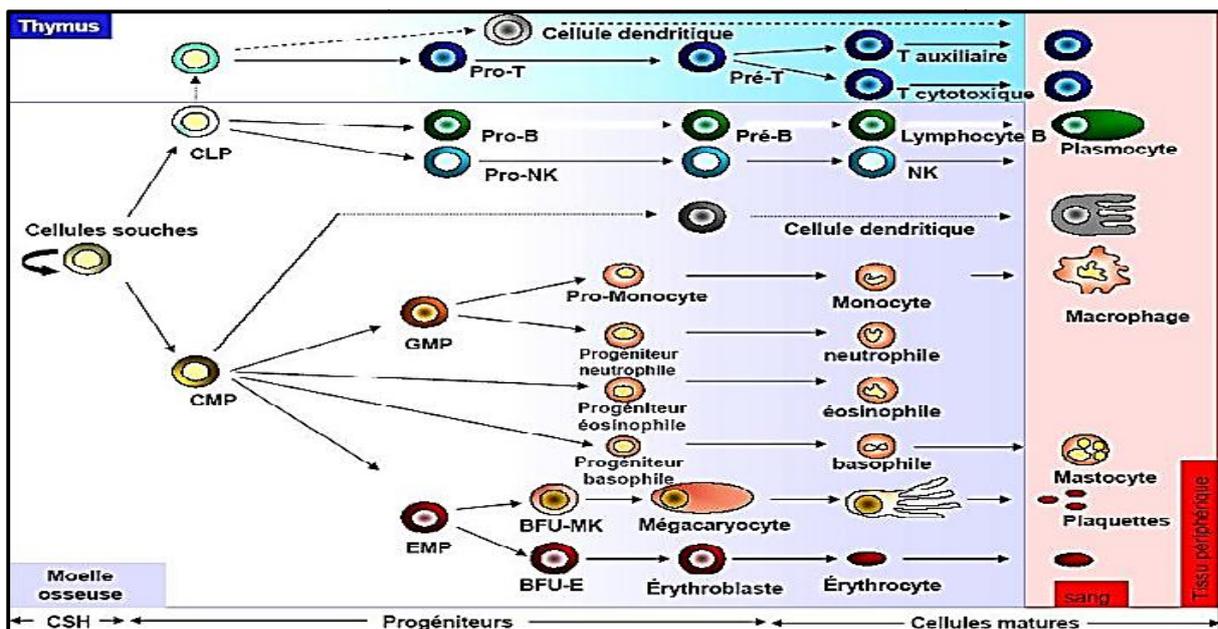


Figure 01 : organisation des compartiments de l'hématopoïèse (Lacombe, 2005).

3-3- Régulation de l'hématopoïèse :

L'hématopoïèse est très finement régulée afin que chaque élément figuré du sang soit produit en quantité et en temps voulu. Cette régulation de l'hématopoïèse est complexe et dépend essentiellement de facteurs de croissance et de l'existence d'un microenvironnement médullaire composé de matrice extracellulaire et de cellules stromales : fibroblastes, cellules endothéliales et adipocytes. Schématiquement, trois éléments jouent un rôle important pour obtenir une hématopoïèse correcte et contrôlée :

- **Le microenvironnement médullaire** : le microenvironnement médullaire participe à l'organisation générale de la moelle. Il donne aux cellules souches les conditions anatomiques et intercellulaires satisfaisantes pour assurer l'hématopoïèse : l'interaction stroma-cellule souche. Il permet des contacts intercellulaires et la sécrétion de facteurs de croissance locaux.
- **Des vitamines et oligoéléments sont indispensables à l'hématopoïèse** : certains agissent sur l'ensemble des lignées cellulaires. C'est le cas de la vitamine B12 et de l'acide folique (B9) qui sont nécessaires à la synthèse de l'ADN et donc à la division cellulaire. D'autres sont nécessaires à la fabrication de protéines spécifiques de lignées. C'est le cas du fer, indispensable à l'érythropoïèse pour la synthèse de l'hémoglobine.
- **Les facteurs de croissance hématopoïétiques** : plusieurs facteurs de croissance sont impliqués dans la régulation de 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 (Myéloïde-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. Cette décision est probablement dictée par des facteurs de transcription (Zunic, 2016). (figure 02).

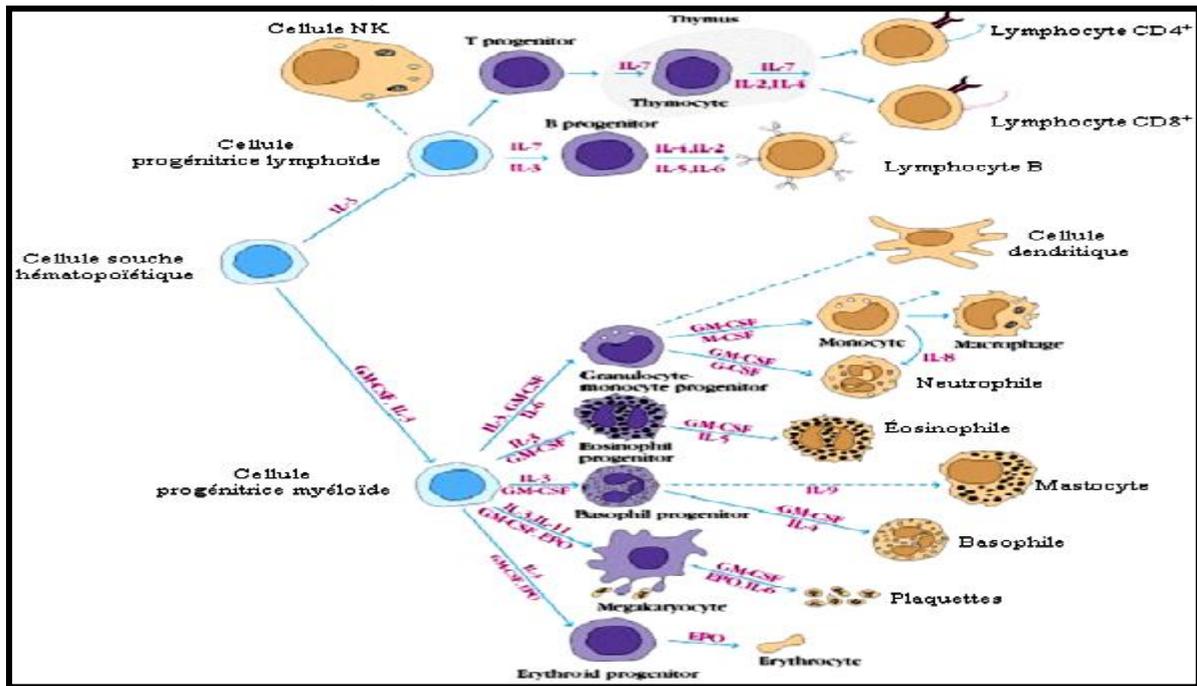


Figure 02 : les facteurs de croissance hématopoïétiques (Ferrant *et al.*, 2004).

3-4- Hémopathies malignes :

Pathologies tumorales issues de la transformation maligne d'une cellule hématopoïétique médullaire (immature) ou périphérique (mature), ce désordre résulte d'un ou plusieurs événements mutationnels qui apparaissent au sein des précurseurs des différentes lignes hématopoïétiques et modifient les caractéristiques de leur prolifération et de leur survie, et en même temps qu'ils s'altèrent les voies normales de leur différenciation ; l'ensemble des mécanismes responsables de la transformation d'une cellule normale en cellule leucémiques définissent la leucémogénèse (Merlin, 2004). La classification OMS (Organisation Mondiale de la Santé) publiée en 2008 repose essentiellement sur la cytologie, la cytochimie et la cytogénétique, et, en fonction de leur ligne (lymphoïde ou myéloïde) et de la nature (mature ou immature) du clone tumoral (Chesnel, 2013 ; Norbert *et al.*, 2014). Cette classification dérive directement de la classification Franco-Américano Britannique (FAB) de 1982 et utilisée jusqu'en 2001, date de publication de la précédente classification OMS des hémopathies malignes. Cette dernière reconnaît quatre groupes d'hémopathies myéloïdes : syndrome myéloprolifératifs (leucémie myéloïde chronique, leucémie éosinophiles, polyglobulie de Vaquez, splénomégalie myéloïde, thrombocytémie essentielle ainsi que le syndrome myéloprolifératif inclassable), Syndrome myéloprolifératif/ myélodysplasique (leucémiemyélo-monocytaire), syndrome myélodysplasique, leucémie aiguë myéloïde (Messaoudi, 2016).

CHAPITRE II
LA LEUCÉMIE
MYÉLOÏDE CHRONIQUE

I- Historique :

En deux siècles, les avancées de la médecine et de la recherche médicale ont permis de comprendre les mécanismes physiopathologiques de la leucémie myéloïde chronique (**Bergerat, 1996**). D'abord en 1845, où *John Bennett* et *Rudolf Virchow* firent chacun la description de patients présentant une splénomégalie associée à une hyperleucocytose sévère, *Virchow* utilisa, pour la première fois, le terme de leucémie pour qualifier cette anomalie du rapport entre globules rouges et blancs, qui donnait au sang de ses patients une teinte blanchâtre (**Kampen, 2012**). En 1870, *Neumann* affirme que les cellules responsables de cette pathologie sont issues de la moelle osseuse (**Demouliane et al., 2014**).

La première classification des leucémies myéloïdes et lymphoïdes voit le jour en 1851 grâce à *Erlich*. Ce n'est qu'en 1951 que le concept de Syndrome Myélo-Prolifératif ou SMP est développé pour la première fois par *Dameshek* incluant la LMC, la polyglobulie de *Vaquez*, la thrombocytémie essentielle et la myélofibrose primitive (**Goldman et al., 2015**). Par la suite, cette hémopathie maligne est ainsi devenue un modèle essentiel de cancérogenèse dans lequel une lésion moléculaire unique, à l'origine de la prolifération cellulaire, a été identifiée. L'anomalie chromosomique correspondante, appelée « chromosome Philadelphie », fut d'abord mise en évidence par *Nowell* et *Hungerford* en 1960. Cette translocation réciproque $t(9;22)(q34;q11)$ retrouvée dans les cellules leucémiques de patients atteints de LMC, fut caractérisée par *Rowley* en 1974 comme étant la première anomalie cytogénétique acquise et caractéristique d'un processus tumoral (**Bergerat, 1996**). Avec l'avènement des techniques moléculaires, le proto-oncogène *ABL* (Abelson) présent au niveau de la cassure sur le chromosome 9 est identifié en 1982 par *De Klein*. La zone de cassure sur le chromosome 22 est, quant à elle, identifiée en 1984 comme faisant partie du gène *BCR*. L'ARN messager chimérique, appelé aussi transcrite de fusion *BCR-ABL*, issu du chromosome Philadelphie est mis en évidence peu de temps après. L'ARN chimérique est exprimé en une protéine de fusion *BCR-ABL*, qui possède un rôle oncogénique, avec une activité tyrosine kinase plus importante que celle de la protéine *Abl* normale. Les premiers essais cliniques utilisant un inhibiteur de tyrosine kinase dans le traitement de la LMC en phase chronique ont été réalisés dès 1996, par l'équipe de *Druker*. En 1998, les laboratoires Novartis ont commercialisé un médicament anti tyrosine kinase qui va agir précisément au niveau de la protéine *abl*. Ce médicament est l'imatinib (*Glivec*[®]) qui révolutionné le traitement de la LMC (**Goldman et al., 2015**).

II- Définition :

La leucémie myéloïde chronique, aussi appelée leucémie mésoblastique chronique ou granulocytaire chronique, est une hémopathie maligne appartenant au groupe des Syndromes Myéloprolifératifs Chroniques, caractérisée par une prolifération médullaire, monoclonale, prédominante sur la lignée granuleuse. La population cellulaire pathologique en cause porte une anomalie chromosomique dans 95% des cas, qui est le chromosome Philadelphie, et qui entraîne la mise en contact d'un site oncogénique (abl) situé sur le chromosome 9 et d'une région particulière du chromosome 22 (bcr). La plupart des patients (85 à 90%) l'arbovent durant la phase chronique. La LMC évolue vers des phases accélérées et blastiques. Cette pathologie acquise est liée à une transformation néoplasique des CSH réalisant une prolifération clonale dont l'expression hématologique caractérisée par une surproduction de cellule de la série myéloïde ce qui entraîne une splénomégalie et une leucocytose marquée. Une basophilie et une thrombocytémie sont fréquents. Cette hyperplasie myéloïde étant en rapport avec une anomalie de régulation (Tefferi *et al.*, 2011 ; Morère *et al.*, 2014). Ce phénomène va s'accompagner d'un envahissement du sang et de la rate par des cellules médullaires se traduisant par une métaplasie myéloïde splénique responsable de la splénomégalie. L'envahissement du sang par ces cellules médullaires définit la myélémie. Il existe une hyperviscosité sanguine en rapport avec l'hyper leucocytose mais également avec la thrombocytose pouvant entraîner des accidents thrombotiques. L'existence d'une thrombopathie acquise par anomalie de répartition des glycoprotéines à laquelle s'associe un trouble de la synthèse de la thromboxane A2 et une réduction des granules denses et alpha, peut entraîner un risque hémorragique malgré l'hyperplaquettose. On note également une anomalie fonctionnelle des polynucléaires neutrophiles : il s'agit d'un trouble de la bactéricidie. La LMC est une hémopathie maligne évoluant en trois phases : la phase myélocytaire chronique facilement contrôlable par les chimiothérapies classiques (hydroxyurée ou busulfan), succède généralement une phase dite d'accélération précédant plus ou moins rapidement la transformation aiguë quasi inéluctable, mortelle en 3 à 6 mois. La survie dans la LMC correspond donc approximativement à la phase chronique : elle peut être particulièrement courte lorsque la maladie est diagnostiquée d'emblée à la phase de transformation aiguë, où très longue, plus de 20 ans parfois. La médiane de survie est proche de 3,5 ans en général. Les travaux préliminaires de certains auteurs ont permis, au plan épidémiologique de classer la LMC comme étant la plus fréquente des leucémies après les leucémies aiguës (Tefferi *et al.*, 2011 ; Morère *et al.*, 2014).

CHAPITRE III
ASPECTS CLINIQUES ET
BIOLOGIQUES DE LA LMC

I- Épidémiologie :

La LMC est une maladie rare avec une distribution mondiale sans prédilection ethnique ni géographique. L'ensemble des leucémies dans le monde représente 2,8% de tous les nouveaux cas de cancer et 222 000 décès chaque année (**Herlet, 2010**). Aux États-Unis, son incidence annuelle est de 1,4 pour 100 000 habitants. Elle vient en 3^{ème} position après les leucémies aiguës, dont l'incidence annuelle est de 4,6 et les leucémies lymphoïdes chroniques de 2,4. Son incidence annuelle est voisine des statistiques européennes qui rapportent 1 cas pour 100 000 habitants. En France, cette hémopathie maligne a une incidence de près d'une personne sur 100 000 habitants et n'a pas évolué depuis les cinquante dernières années. En Afrique, les travaux rapportés classent la LMC parmi les hémopathies malignes les plus fréquentes ; elle vient en 2^{ème} position après les leucémies aiguës (**Ouchenane, 2017**).

La LMC est une maladie de l'adulte jeune, entre 20 et 50 ans, l'âge médian au diagnostic étant de 30 à 55 ans ; avec un pic de fréquence entre 50 et 60 ans, mais on peut la rencontrer à tout âge y compris aux deux extrêmes de la vie, où elle est cependant plus rare. Bien que l'incidence de la LMC augmente de façon continue avec l'âge, toutes les tranches d'âges peuvent être touchées, mais reste néanmoins assez rare, voire exceptionnelle, chez les enfants et les adolescents (**Creil et al., 2010**).

La LMC atteint les deux sexes ; on note une prédominance masculine avant 30 ans avec un sex-ratio de 2, selon les statistiques Européennes. Cependant, ce taux rapporté dans plusieurs études de par le monde varie entre 1,4 et 2,2. Cette prédominance masculine existe aussi bien avant qu'après 30 ans selon la plupart des séries africaines. On note également une surmortalité supérieure pour les hommes durant les quatre premières années puis l'évolution devient similaire pour les deux sexes. La survie relative à 5 ans est de 43,9%. Elle serait passée à 80% en 2008 selon la société américaine d'hématologie, depuis l'introduction des nouveaux traitements. Néanmoins, en l'absence de greffe de moelle osseuse, la surmortalité annuelle reste élevée à distance du diagnostic en relation avec la transformation de la LMC en leucémie aiguë (**Edjeme, 2008**).

Il est à noter, concernant cette hémopathie, qu'il n'existe pas de spécificité géographique prouvée à ce jour. Aussi, il semble y avoir peu de spécificité ethnique même si la race caucasienne apparaît légèrement plus touchée que la race afro-américaine (**Matason, 2006**).

En Algérie, les hémopathies malignes représentent actuellement environ 10% de la pathologie cancéreuse. L'évaluation de leur fréquence, réalisée sur trois années (2011, 2012 et 2013) dans 13 services d'hématologie adulte sur 16 que compte le territoire, montre que les lymphomes non Hodgkiniens occupent la première place et représentent 24%, suivis par la maladie de Hodgkin et les leucémies aiguës (18% chacun), puis le myélome multiple (15,5%), la leucémie lymphoïde chronique (8,5%) et la LMC (7%). Les autres SMPC et Syndromes Myélo-Dysplasiques (SMD) sont respectivement à 5 et 4,5% (**Hamladji, 2014**). L'incidence de la LMC en Algérie est assez faible mais croissante. Une étude épidémiologique, faite entre 1994 et 2004 a montré une incidence en progression puisqu'elle passe de 0,19 en 1994 à 0,4/100 000 habitants en 2004. La répartition des nouveaux cas de LMC par année passe de 53 cas en 1994 à 130 en 2004, avec une moyenne de 88 nouveaux cas par année. Cette étude a aussi démontré une légère prédominance masculine avec un sex-ratio de 1,12. L'âge moyen au diagnostic était de 44 ans (**Djouadi-Lahlou, 2009**). Selon la Société Algérienne d'Hématologie (SAH), on compte en Algérie chaque année 250 nouveaux cas (**SAH, 2018**).

2- Étiologie :

Les hémopathies malignes regroupent un ensemble hétérogène de pathologies cancéreuses des cellules sanguines et de leurs précurseurs. Les facteurs de risque bien établis accèdent l'idée d'une hétérogénéité étiologique sous-jacente à cette diversité. Ceci n'exclut pas que plusieurs hémopathies puissent partager des facteurs de risque, notamment environnementaux. L'étiologie de la LMC semble inconnue. Néanmoins, il ne paraît pas y avoir de prédispositions génétiques. L'exposition aux radiations ionisantes est le seul facteur de risque confirmé par différentes études. Aujourd'hui, en France, la LMC est inscrite au tableau des maladies professionnelles provoquées par les rayonnements ionisants. L'exposition au benzène pourrait également faire partie des facteurs de risques mais cette étiologie est actuellement discutée dans ce contexte. Les autres agents pétrochimiques ne semblent pas avoir de lien avec la LMC (**AFSSET-INSERM, 2008**).

2-1- Facteurs génétiques :

Des agrégations familiales ont été décrites pour les différents types d'hémopathies malignes, et en particulier dans les LLC et les lymphomes. Les agrégations regroupent souvent plusieurs types d'hémopathies lymphoïdes (**AFSSET-INSERM, 2008**). À notre connaissance, aucune étude génétique, n'a rapporté de tels agrégats de LMC.

La transformation maligne d'une CSH résulte de l'accumulation de plusieurs altérations géniques. Cette accumulation est favorisée par une instabilité génétique qui se majore à l'âge. Ainsi, l'augmentation de l'incidence des leucémies en général est proportionnelle avec l'âge. Ce phénomène de vieillissement des cellules souches est marqué par l'érosion télomérique des chromosomes qui les protègent normalement d'accidents de la réplication (**Kantarjiant et al., 2006 ; Goldman et al., 2015**). Des facteurs génétiques constitutionnels associés peuvent favoriser ce phénomène d'instabilité génétique et/ou affaiblir celui de la réparation des modifications accidentelles ou induites de l'ADN. Ces maladies associées à une instabilité chromosomique sont : la trisomie 21, le syndrome de Turner ainsi que le syndrome de Klinefelter ; tous avec des anomalies chromosomiques constitutionnelles. Il y'a également les aplasies médullaires ou cytopénies isolées (anémie de Fanconi, érythroblastopénie de Blackfan-Diamond, agranulocytose constitutionnelle ou agranulocytose de Kostmann, syndrome de Shwachman-Diamond ou insuffisance pancréatique avec dysmyélopoïèse), les syndromes de cassures chromosomiques (syndrome de Bloom, ataxie télangiectasie et Xéroderma Pigmentosum) ainsi que la neurofibromatose de type I (**Bergerat, 2003**).

2-2- Facteur environnementaux :

De façon très simplifiée, les facteurs de risque environnementaux avérés à l'heure actuelle opposent les hémopathies myéloïdes et lymphoïdes. Les expositions au benzène, aux radiations ionisantes à forte dose et aux chimiothérapies anticancéreuses sont des facteurs de risque bien établis et particulièrement bien décrits dans les Leucémies Aiguës Myéloïdes (LAM) tandis que les déficits immunitaires congénitaux ou acquis (sida, immunosuppresseurs) et les infections virales (EBV, HTLV1) ou bactériennes (*Helicobacter pylori*) favorisent le risque d'hémopathie maligne lymphoïde (**AFSSET-INSERM, 2008**). Enfin, des facteurs de susceptibilité individuelle, dans la mesure où ils modulent la réponse de l'organisme aux agressions extérieures infectieuses, chimiques ou physiques, concourent vraisemblablement aux variations des risques environnementaux dans la population. Ils sont encore très peu explorés (**AFSSET-INSERM, 2008**).

a- Radiations ionisantes :

La leucémie a été le premier cancer à être associé à l'exposition externe aux radiations ionisantes dans la cohorte des survivants du bombardement atomique d'Hiroshima et Nagasaki au Japon (**AFSSET-INSERM, 2008**).

De nombreuses autres études ont par la suite confirmé une augmentation du risque de leucémie avec l'exposition aux rayonnements ionisants, pour l'ensemble des leucémies à l'exclusion des leucémies lymphoïdes chroniques et les leucémies de type T de l'adulte. Ces résultats ont été confortés par de nombreuses autres études, en particulier au sein de populations ayant été exposées pour des raisons médicales. Plusieurs études confirment l'existence d'une relation dose effet pour les leucémies hors LLC associée à une exposition étalée dans le temps (**Snyder *et al.*, 1997 ; Savitz *et al.*, 1997 ; AFSSET-INSERM, 2008**).

b- Benzène :

Le benzène a été très largement utilisé comme élément de base de nombreuses synthèses chimiques, comme diluant des encres, des peintures et des colles ou encore comme dégraissant. Les secteurs de l'industrie de la chaussure, de l'industrie chimique, de l'industrie du caoutchouc et de l'imprimerie ont donné lieu à de très fortes expositions. L'essence utilisée comme carburant contient 1 à 5% de benzène et est aujourd'hui à l'origine d'expositions nettement plus faibles mais très fréquentes en population générale. La responsabilité du benzène dans les leucémies a été clairement établie sur des arguments expérimentaux et épidémiologiques. En France, les leucémies et les syndromes myéloprolifératifs survenant dans le cadre d'une exposition professionnelle au benzène peuvent être pris en charge comme maladie professionnelle. Le rôle des solvants organiques autres que le benzène dans les hémopathies malignes a été largement étudié, mais la littérature reste discordante (**Peter *et al.*, 2001, AFSSET-INSERM, 2008**).

III- Aspect clinique des LMC :

Les signes menant à la découverte d'une leucémie sont peu caractéristiques. Elle est, dans 40% des cas, découverte fortuitement à l'occasion d'un examen hématologique de routine. De manière plus rare, la LMC est diagnostiquée lors de la découverte de complications telles que la thrombose veineuse, la crise de goutte, l'infarctus splénique ou encore des troubles visuels ou une insuffisance respiratoire par leucostase (**Treuil, 2008**). Les manifestations cliniques et biologiques de la LMC varient avec les trois phases successives de la maladie et correspondent à une symptomatologie relativement bien définie :

3-1- La phase chronique :

Peu symptomatique, cette première phase d'installation progressive et insidieuse et dure en moyenne 3 à 5 ans. Elle répond très bien aux thérapeutiques peu ou pas intensives. Elle reste sous le contrôle de celles-ci. De nombreux patients sont asymptomatiques ou peu symptomatiques à ce stade. Néanmoins, trois grands syndromes peuvent se rencontrer : une altération de l'état de général, liée à l'hyper-métabolisme, associant une fièvre, une pâleur et une asthénie pouvant aller jusqu'à la léthargie. On note qu'une importante fatigue croissante représente l'un des symptômes les plus fréquents. On peut également rencontrer une perte plus ou moins importante de poids. Un syndrome tumoral, largement caractérisé par une splénomégalie (augmentation du volume de la rate), est retrouvé chez 50% à 70% des patients. La splénomégalie entraîne une sensation de lourdeur dans l'hypochondre gauche, une sensation de satiété plus rapide pouvant expliquer en partie la perte de poids, une légère hyperacidité gastrique, voire des douleurs abdominales : c'est le signe clinique prédominant à l'examen. La taille de la rate est un élément important du pronostic, la longueur de la rate au-delà de la marge costale sur la ligne mamelonnaire doit être mesurée précisément (**Tulliez, 2007**).

Le syndrome tumoral hématopoïétique est composé dans sa globalité d'adénopathies (hypertrophie des ganglions lymphatiques), de douleurs osseuses, de splénomégalie ou d'hépatosplénomégalie. À part ces deux derniers symptômes, les autres ne sont pas encore présents au stade chronique de la LMC. Les signes d'une leucostase, une hyperviscosité ou des symptômes dus à une hyper-uricémie (stupeur, priapisme, acouphènes, confusion mentale due à l'hypoxie cérébrale, accident vasculaire cérébral, crise de goutte) font partie des rares complications (**Leguay et al., 2005 ; Tulliez, 2007**).

3-2- La phase d'accélération :

Elle est caractérisée par une résistance progressive au traitement et précède la survenue de la transformation aiguë. Sa durée est de 12 à 18 mois en moyenne (**Leleu et al., 2010**). Les signes les plus caractéristiques de cette phase sont :

- L'augmentation du volume splénique et la fièvre,
- L'évolution cytogénétique clonale caractérisée par une augmentation du nombre de chromosome Philadelphie dans l'organisme, ce qui est l'élément clef de cette phase.
- Le caryotype peut montrer des anomalies surajoutées, telles que des trisomies des chromosomes 8 ou 19 ou des doubles chromosomes Philadelphie.

Dans cette phase, il y a une progression d'une phase d'hyperproduction d'éléments hématologiques matures vers une phase de production rapide d'éléments immatures par arrêt de la différenciation. Chez certains patients, la phase d'accélération est quasi inexistante et peut ne pas être détectée. Seulement deux-tiers des malades présenteront une phase d'accélération. La phase d'accélération peut être quasi inexistante (environ 20% des cas), la phase d'acutisation étant alors « explosive » (**Sebahoun, 2015**).

3-3- La phase blastique :

Et enfin, la phase blastique, aussi appelée crise blastique, ou phase de transformation en leucémie aiguë secondaire, résistante ou réfractaire au traitement, conduisant au décès du patient. Cette phase d'acutisation survient dans un délai médian de 4 ans. La phase blastique est une phase terminale de la maladie dont l'espérance moyenne de vie est de 3 à 6 mois avec une augmentation de la résistance au traitement et avec un tableau clinique semblable à celui de la leucémie aiguë. Suivant l'expression des marqueurs cellulaires de surface, on distingue les types suivants : crise blastique lymphoïde (20 à 30%), crise blastique myéloïde (60 à 70%) ou de formes mixtes (10%) (**Leleu et al., 2010**).

En l'absence de traitement ou en cas d'échappement ou d'inefficacité du traitement, tous les patients atteignent cette phase de pronostic très sombre puisqu'elle mène au décès du patient. C'est dans cette phase que l'on observe le plus de résistance aux traitements. Cette phase se définit par la présence de plus de 20% de blastes médullaires ou plus de 30% de blastes et promyélocytes sanguins ou médullaires (**Sebahoun, 2015**).

Les signes cliniques qui caractérisent cette phase sont : l'altération de l'état général, splénomégalie, anémie, thrombopénie, fibrose médullaire, fièvre, hépatomégalie, adénopathies et douleurs osseuses. Comme toute leucémie aiguë, elle peut être accompagnée d'un syndrome tumoral, de signes d'insuffisance médullaire, d'une atteinte méningée, ou des chloromes des tissus mous (Leleu *et al.*, 2010).

IV- Aspect biologique des LMC :

4-1- Hémogramme :

L'hémogramme est l'examen biologique clef qui permet, à lui seul, d'évoquer le diagnostic de la LMC. Une hyperleucocytose, une anémie et une thrombocytose, sont les anomalies sanguines les plus souvent rencontrées.

- L'hyperleucocytose est franche, comprise entre 20×10^9 et 500×10^9 leucocytes/L. Elle est en moyenne de 120×10^9 leucocytes/L, majoritairement composée de polynucléaires neutrophiles (30% à 40%), une éosinophilie plus discrète (5% à 10%) et une basophilie plus marquée (3% à 10%) (Baunin, 2013).
- La myélémie (c'est-à-dire le passage dans le sang de cellules myéloïdes à tous les stades de différenciation) est constante, sans hiatus de différenciation représente 10 et 50% des éléments (Leleu *et al.*, 2010), constituée de métamyélocytes, de myélocytes et quelques promyélocytes et plus rarement de myéloblastes (Annexe I).
- L'anémie (normocytaire et normochrome) est peu courante et modérée.
- La thrombocytose est habituelle, et souvent supérieure à $500\ 000/\text{mm}^3$. Parfois très élevée, elle est rarement responsable d'incidents thrombotiques par thrombopathie associée (Elmouhdi, 2015).

4-2- Myélogramme :

Il affirme le diagnostic en montrant une moelle extrêmement riche, faite essentiellement de cellules granuleuses qui sont des myélocytes, des métamyélocytes, et des polynucléaires, avec tous les stades de la maturation représentés, et une blastose médullaire inférieure à 10% en phase chronique (Annexe I). On peut trouver, comme dans le sang, une basophilie, voire une éosinophilie. Les mégacaryocytes sont souvent en nombre augmenté et de petite taille. Cet examen est indispensable, permet cependant de confirmer la phase de la maladie et de réaliser le caryotype initial. La ponction est réalisée au niveau du sternum, ou de l'os iliaque, sous anesthésie locale à l'aide d'un trocart de Mallarmé (Elmouhdi, 2015).

4-3- Biopsie Ostéo-Médullaire (BOM) :

Examen non indispensable au diagnostic, elle est habituellement réservée aux sujets jeunes susceptibles de bénéficier d'une allogreffe, permet d'évaluer le pronostic et de faire une étude histo-cytologique (architecture de la moelle). Il en ressort une moelle très riche avec disparition des adipocytes et absence de fibrose (Leleu *et al.*, 2010).

V- Pronostic :

Les patients atteints de LMC ont une moyenne de survie environ 5 ans et même plus depuis l'avènement des inhibiteurs de tyrosine kinase qui ont amélioré le pronostic, et on constate des variations concernant la durée des différentes phases de la LMC et également la différenciation de l'évolution de la maladie entre les individus. Le pronostic est utilisé avant la mise en route d'un traitement afin de choisir la thérapeutique la mieux adaptée au patient et pour comprendre comment un individu réagira avec le traitement. Il est basé sur plusieurs scores (Bories *et al.*, 2003 ; Leleu *et al.*, 2010). Parmi les scores les plus utilisés on peut citer :

- **Le score de Sokal** : ce score a été défini à partir de résultats cliniques réunis en 1984 par Sokal. Comme un index de risque relatif, il est toujours utilisé comme reflet de la masse tumorale et du potentiel évolutif de la maladie. Il doit être effectué au diagnostic et avant tout traitement. Les paramètres biologiques et cliniques pris en compte sont : l'âge (exprimé en année), la taille de la rate (en centimètres du rebord costal), le taux de plaquettes (en G/L) et les pourcentages des blastes (Savitz *et al.*, 1997). Il est calculé selon la formule :

$$\text{Score de Sokal} = \{0,0116 (\text{âge} - 43,4) + 0,0345 (\text{rate} - 7,51) + 0,188 [(\text{plaquettes}/700)^2 - 0,563] + 0,0887 (\text{blastés} - 2,1)\}$$

Le score de Sokal des patient de moins de 45 ans est légèrement modifié, cette modification tient en compte l'hématocrite et du sexe du patient :

$$\text{Score de Sokal} = (0,0255x (\text{rate}-8,14)) + 0,0324 x (\text{blastés}-2,22) + 0,1025x [(\text{plaquettes}/700)^2 - 0,0627] - 0,0173 x (\text{hématocrite} - 34,2) x (\text{sexe}-1,40)$$

Les patients sont classés en fonction de ce score en faible risque, risque intermédiaire et risque élevé (tableau I).

Tableau I : score pronostic de Sokal (El Mouhdi, 2015).

Risque	Indice calculée	Survie médiane
Faible risque	Inférieure à 0,8	60 mois
Risque intermédiaire	Entre 0,8 et 1,2	44 mois
Haut risque	Supérieure à 1,2	32 mois

- **Le Score Hasford** : le score de Sokal n'était pas suffisamment adapté au traitement par l'interféron. *Hasford et al* ont donc proposé un nouvel indice (Indice de *Hasford* ou Euro-score) permettant de distinguer mieux les patients traités par les (INF)- en terme de survie (*Ledoux et al., 2013*). Cet indice est calculé à partir de : l'âge, la taille de la rate, le pourcentage de blastes circulants, le pourcentage d'éosinophiles circulants, la basophilie (0 si basophilie < 3% et 1 dans les autres cas) ainsi que le taux de plaquettes (0 si taux de plaquettes < 1 500 x10⁹/L et 1 dans les autres cas). Le score de Hasford est calculé selon la formule :

$$\text{Indice de Hasford} = [(0,6666 \text{ âge}) + (0,0420 \text{ rate}) + (0,0584 \text{ blastes}) + (0,0413 \text{ éosinophiles}) + (0,2039 \text{ basophiles}) + (1,0956 \text{ plaquettes})] \times 1\,000.$$

Il permet de séparer, à nouveau, les malades en trois groupes statistiquement différents en ce qui concerne la survie globale (**tableau II**).

Tableau II : score pronostic de Hasford (El Mouhdi, 2015).

Risque	Indice calculé	Survie médiane
Faible risque	inférieur à 780	98 mois
Risque intermédiaire	entre 780 et 1 480	65 mois
Haut risque	supérieur à 1 480	42 mois

- **Le score de Gratwohl** : il est utilisé en cas d'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques, lorsqu'un donneur est identifié, permet d'estimer la survie à 5 ans des patients, et d'évaluer le risque de complications graves et de prédire le taux de mortalité lié à la greffe (*Morère et al., 2011*). Il dépend de l'âge, du stade de la LMC, l'intervalle entre la greffe et le diagnostic, le sexe du receveur, le type de donneur. Sept cotes ont été ainsi établies de 0 à 6, sachant que 0 représente le pronostic le plus favorable (*Bories et al., 2003*) (**tableau III**).

Tableau III : score pronostic de Gratwohl (Morère *et al.*, 2011).

Score	0	1	2
Age	< 20 ans	20 à 40 ans	> 40 ans
Stade de la maladie	Phase chronique	Phase d'accélération	Crise blastique
Délai diagnostic/greffe	Si moins de 12 mois	12 mois et plus	
Type de greffe	Donneur familial HLA identique	Greffe non familiale	
Sexe donneur/receveur	Tous types de combinaison	Si receveur mâle et donneur femelle	

Ces trois scores pronostiques ont donc été élaborés dans le contexte de traitements différents et leur significativité dépend du traitement institué. Cependant, le score de Sokal reste le plus utilisé en pratique, bien qu'il soit antérieur aux thérapeutiques actuelles (Bichet, 2016).

VI- Traitements de la LMC :

Depuis quelques années, le traitement de la LMC a connu plusieurs révolutions dont le principal est l'avènement des thérapies ciblées (figure 03), des médicaments agissant sur les signaux responsables de la croissance anarchique des cellules cancéreuses. Dans la LMC, ces médicaments ciblent les cellules malades porteuses du chromosome Philadelphie et du gène *Bcr-Abl*. Ils permettent d'empêcher l'évolution de la LMC et de la maintenir dans sa phase chronique. Ce sont les thérapies ciblées. Actuellement, cinq molécules sont disponibles pour traiter la LMC : l'imatinib (Glivec®), le dasatinib (Sprycel®), le nilotinib (Tasigna™), le bosutinib (Bosulif®) et le ponatinib (Iclusig™) (Rossi *et al.*, 2016).

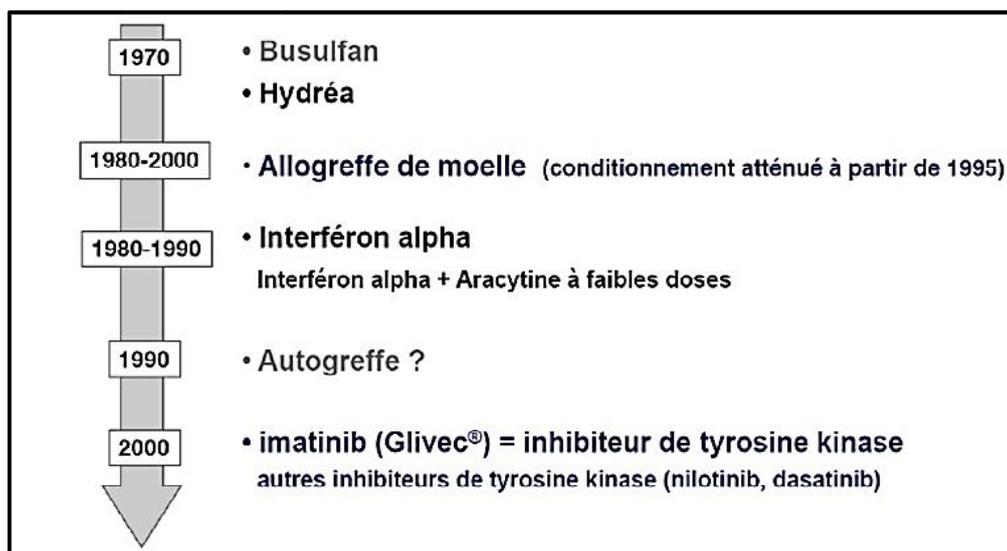


Figure 03 : évolution des traitements de la LMC (Ouchenane, 2017).

6-1- La chimiothérapie :

Elle repose premièrement sur la molécule Busulfan (MISULBAN[®]), elle a été introduite dans les années 1950. Il n'agit qu'au bout de 3 semaines avec une efficacité remarquable. Entre 23 et 54% des patients peuvent obtenir une réponse hématologique complète mais aux risques d'aplasie très élevés, fibroses pulmonaire, cas de stérilités mais aussi pigmentations cutanées et cataractes (**Patenaude, 1997 ; Demouliane et al., 2014**).

Elle repose également sur l'hydroxyurée (HYDREA[®]) qui a été introduite dans les années 1970. C'est un inhibiteur de la ribonucléotide réductase et diminue donc la synthèse de l'ADN, il agit vite sans risque majeur d'aplasie cela permet l'obtention de réponse hématologique complète chez 39 à 53% des patients. Ces deux molécules ne permettent pas l'obtention de réponse cytogénétique, la chimiothérapie n'est aujourd'hui plus proposée qu'en complément d'autres traitements (**Demouliane et al., 2014**).

6-2- Allogreffe de moelle osseuse :

L'allogreffe, reste toujours le seul traitement curatif démontré de la LMC, mais elle présente des inconvénients : elle doit être réalisée sur des patients de moins de 45 ans et il faut d'abord trouver un donneur HLA compatible (**Demouliane et al., 2014**), et que les risques de mortalité sont assez élevés. Les patients de la phase chronique ne sont pas concernés par l'allogreffe, sauf pour les patients jeunes de moins de 20 ans à score de risque à la greffe (score de Gratwohl) bas. Donc elle est conservée pour les patients qui présentent une résistance répétée au traitement (**Bories et al., 2003**).

6-3- Interféron alpha :

Les interférons sont des substances biologiques naturelles qui stimulent le fonctionnement du système immunitaire (**Benaousman, 2010**), possédant une action antiproliférative sur les cellules normales et tumorales. Il permet d'obtenir des réponses hématologiques dans 50 à 80% des cas et aussi des réponses cytogénétiques dans 20 à 50% des cas (**Goldman et al., 2015**). Ils peuvent donner les nombreux effets indésirables comme le syndrome dépressif avec fatigue, insomnie, perte de poids et un état pseudo-grippal, ainsi que des troubles hépatiques, voire à un arrêt du traitement dans 15 à 20% des cas. Cette forme des interférons (interféron-) est ensuite développée par quelques firmes pharmaceutiques en le combinant à du Poly-ÉthylèneGlycol (PEG) (**Bories et al., 2003**).

6-4- Thérapeutique ciblée ; les inhibiteurs des tyrosines kinases :

En 1996, un inhibiteur des molécules à activité tyrosine kinase a été identifié, conduisant à la synthèse d'une molécule inhibant l'activité TK induite par le PDGF mais aussi celle de v-abl et de BCR-ABL. Cette molécule, un dérivé de la 2-aminopyrimidine, agit au niveau de la poche à ATP de la portion ABL de BCR-ABL de manière sélective alors qu'elle n'a aucun effet inhibiteur sur l'activité TK d'autres récepteurs (VEGF-R et EGF-R) (**figure 04**) Cette sélectivité a conduit à l'introduction de cet inhibiteur (initialement appelé CGP57148, STI571 puis l'imatinib mésylate) en clinique, et depuis 1998, plusieurs milliers de patients LMC ont été traités avec cette molécule. Ainsi, l'imatinib mésylate a montré une efficacité majeure chez les patients résistant à l'IFN et chez les patients dont la maladie était en phase aiguë ou blastique. De même, le médicament est actif chez les patients présentant une LAL et porteurs de la translocation t(9;22), avec une proportion de réponses hématologiques majeures, approchant 50% (**Dine et al., 2013 ; Belaarbi et al., 2016**).

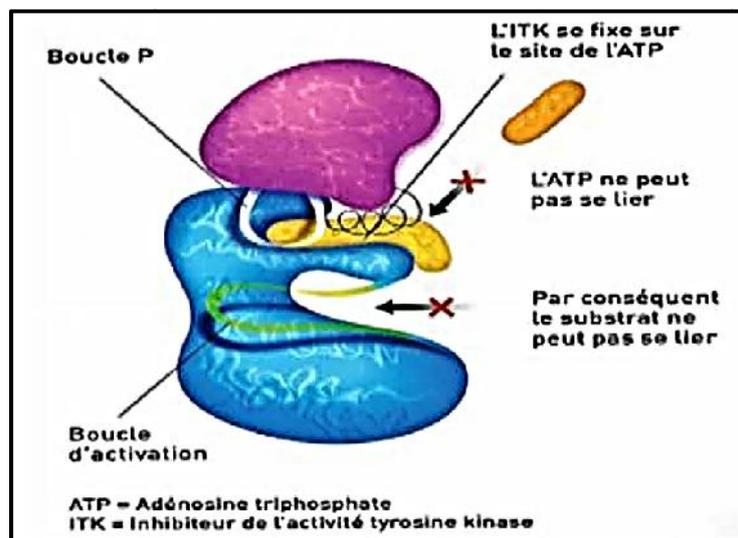


Figure 04 : mode d'action des inhibiteurs de la tyrosine kinase (**Dine et al., 2013**).

Avec l'imatinib, on peut obtenir une réponse hématologique complète supérieure à 90%, de réponse cytogénétique complète supérieurs à 70% et de survie à 5 ans de 87% en phase chronique, mais, son efficacité est plus faible dans les phases avancées (**Crosset et al., 2015**). Des phénomènes d'intolérance ou de résistance à l'Imatinib ont été observés chez 10 à 20% des patients. Cette résistance est due à de nombreuses causes dont l'apparition de mutations affectant le domaine TM de la protéine BCR-ABL étant la plus étudiée. Récemment, la deuxième génération des inhibiteurs de TK ; le Nilotinib et le Dasatinib, ainsi que la troisième génération (Ponatinib) ont été testés et approuvés. Ils ont montré leur efficacité chez les malades résistants ou intolérants à l'imatinib (**Goldman et al., 2015**).

CHAPITRE IV

GÉNÉTIQUE DE LA LMC

I- Mécanisme moléculaire de la leucémogénèse :

1-1- Cellules normales :

Les CSH, cellules souches capables de se renouveler indéfiniment, présentes au stade embryonnaire et dans l'organisme adulte, se différencient pour produire des cellules matures. Dans un tissu hématopoïétique normal, on retrouve un équilibre physiologique parfait entre le maintien du nombre des cellules souches par auto-renouvellement et l'entrée en différenciation, il s'agit alors d'une homéostasie tissulaire (**Benaousman, 2010**).

1-2- Cellules cancéreuses :

Toute cellule cancéreuse a d'abord été, au départ, une cellule normale (**Rossi et al., 2016**). La cellule cancéreuse est une cellule anormale, qui perd certains caractères morphologiques et fonctionnels normaux et acquiert de nouveaux caractères spécifiques qui se transmettent aux cellules filles. Elle se multiplie de manière anarchique et autonome échappant aux mécanismes de régulation de la division cellulaire. Sur le plan morphologique, les cellules cancéreuses peuvent montrer de nombreuses modifications des caractères normaux de la cellule, mais aucun critère cytologique n'est spécifique d'une transformation maligne (**Belaarbi et al., 2016**). La cellule cancéreuse est définie par deux propriétés transmissibles aux cellules filles : elles prolifèrent en dehors des lois qui contrôlent la division cellulaire normale. Aussi, elles envahissent et colonisent des territoires normalement réservés à d'autres cellules (**Bernaudin, 2014**).

1-3- Mécanisme moléculaire :

La LMC est due à une prolifération monoclonale provenant d'une mutation de cellule souche hématopoïétique pluripotente, donc une cellule encore peu différenciée. En conséquence, le chromosome Philadelphie (Ph), marqueur de la maladie, est retrouvé dans toutes les cellules d'origine monocyttaire, granuleuse, érythroblastique, mégacaryocytaire mais aussi lymphocytaire (B, T, NK). Il est par contre absent des fibroblastes et des cellules extra-hématopoïétiques. Son nom provient de la ville où *Nowell* et *Hungerford* l'ont découvert en 1970. Il correspond en fait à un chromosome 22 raccourci qui résulte d'une translocation réciproque équilibrée. Elle a lieu entre les bras longs des chromosomes 9 et 22. Le point de cassure sur le chromosome 9 est localisé en 9q34 au niveau du proto-oncogène *ABL*. Quant au chromosome 22, le point de cassure se situe au niveau du gène *BCR* du bras long, soit en 22q11 (**figure 05**)(**Tulliez, 2007**).

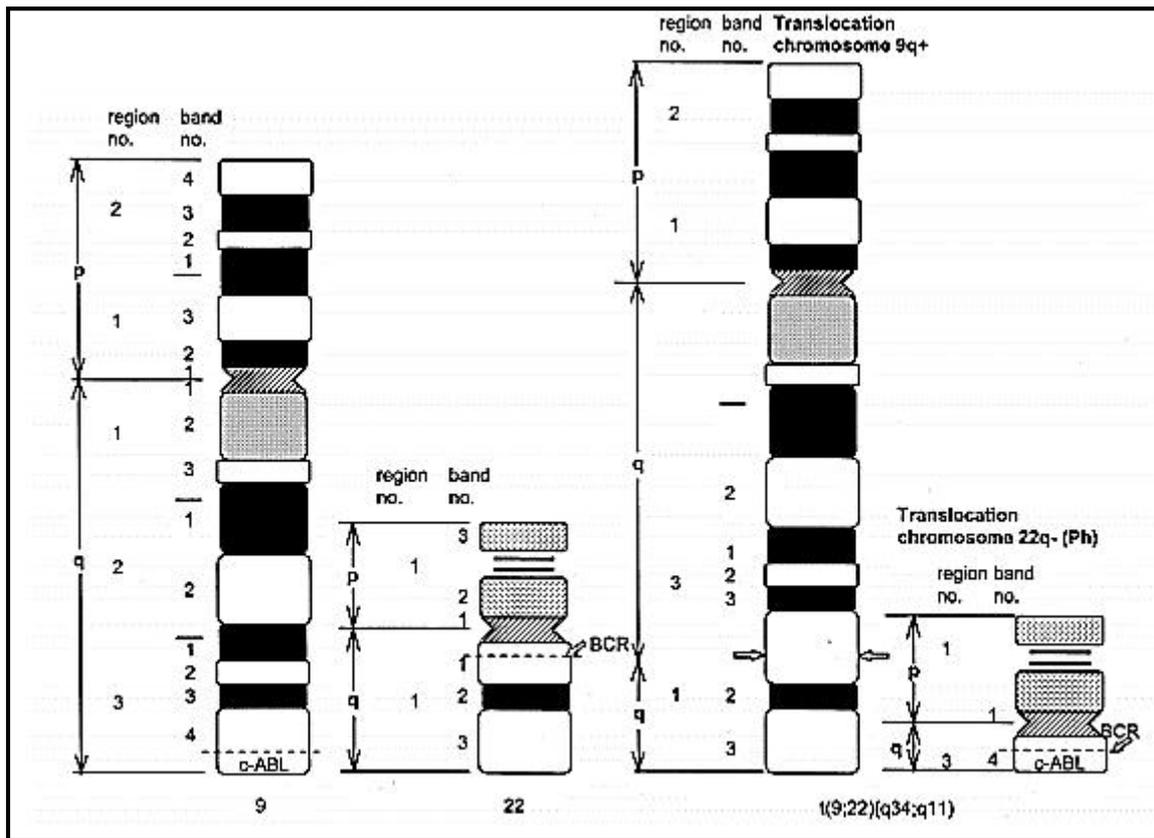


Figure 05 : la translocation réciproque t(9;22) ou chromosome Philadelphie (Pasternak, 1998).

Il en résulte la formation d'un chromosome 22 très court, contenant le gène chimérique *Bcr-Abl*. La synthèse d'ARN messagers hybrides dits chimériques ou de fusion est conservée. L'ARN chimérique est exprimé en une protéine de fusion BCR-ABL, qui possède un rôle oncogénique, avec une activité tyrosine kinase importante. Le mécanisme des effets transformants de la protéine de fusion BCR-ABL p210 sont encore mal connus, et pourraient s'expliquer au moins en partie par une activation de la voie de transduction des signaux mitogènes (Benaousman, 2010).

C'est une anomalie cytogénétique acquise présente dans 95% des LMC. Des cellules n'ayant subi aucune translocation persistent cependant chez tous les patients atteints, mais celles-ci ne sont guère apparentes dans l'étude du caryotype. Dans les autres cas (5%), la LMC est dite Philadelphie négative ou montre l'existence de translocations mettant en jeu 3, 4 ou plusieurs chromosomes partenaires. On appelle ces translocations des variants (Goldman, 2010 ; Deininger et al., 2016).

II- Biologie moléculaire du chromosome Philadelphie :

La LMC est une affection maligne clonale de la CSH caractérisée cliniquement par une évolution inéluctable vers une phase de leucémie aiguë, et biologiquement par la présence de l'oncogène de fusion *BCR-ABL* dans toutes les cellules leucémiques. Au cours de la phase aiguë (blastique) de la maladie, l'expression de *BCR-ABL* dans les cellules leucémiques augmente progressivement, cause probable d'événements génétiques secondaires responsables d'une instabilité génétique qui pourrait être à l'origine de la chimiorésistance observée au cours de cette phase (**Preudhomme *et al.*, 2010**).

2-1- Gène *ABL* :

Le gène humain *ABL* est un oncogène, son homologue chez le virus leucémogène murin d'Abelson c'est le gène *v-abl*, responsable de la leucémie chez la souris, est composé de 11 exons, et comprend un site alternatif d'initiation de la transcription entre les exons 1a et 1b, séparés par un intron de 200kb et dix autres exons qui sont moins espacés. Le locus *ABL* occupe 230kb. Il peut être transcrit en deux ARNm (de 6 ou 7kb) différents et donc la protéine ABL présente sous deux isoformes différentes aux niveaux de leur extrémité N-terminale. Ce gène code normalement pour une tyrosine kinase cytoplasmique de 145 kDa impliquée dans la transduction du signal prolifératif. Les cassures du gène *ABL1* (au sein du réarrangement *BCR-ABL*) surviennent au niveau d'une région variable de 300 kb : en amont de l'exon 1b, en aval de l'exon 1a ou entre ces deux exons alternatifs, cas le plus fréquent (**figure 06**)(**Khorashad *et al.*, 2013 ; Duployez *et al.*, 2015**).

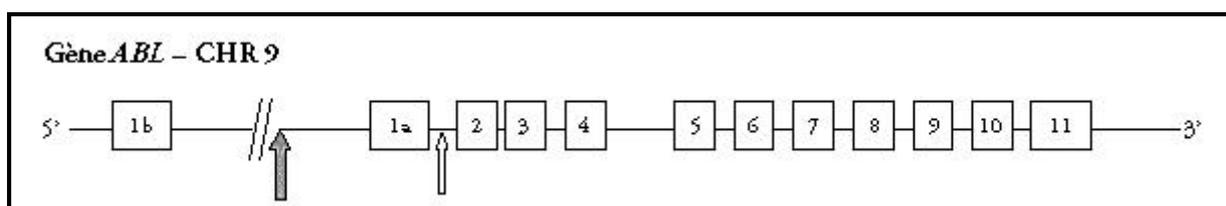


Figure 06 : cartographie du gène *ABL*(**Etienne *et al.*, 2011**).

2-2- Gène *BCR* :

Il a été découvert en clonant la région appelée M-BCR (Major-Breakpoint Cluster Region) où sont situés la majorité des points de cassures. Il s'étend sur 135kb et comprend 23 exons. Il est transcrit en ARNm de 4,5 ou 6,7kb qui codent une protéine cytoplasmique de 160kb d'expression ubiquitaire (**figure 07**) (**Tulliez, 2007**).

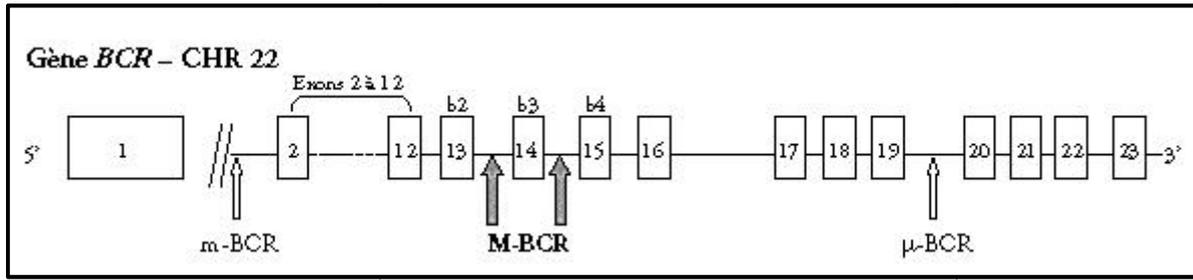


Figure 07 : cartographie du gène *BCR* avec les différents points de cassure (Etienne *et al.*, 2011).

2-3- Réarrangement *BCR/ABL* :

La translocation t(9;22) entraîne un réarrangement des gènes situés au voisinage des points de cassure et la constitution, sur le chromosome 22, d'un gène de fusion hybride comportant la partie 5' (N-terminale) du gène *BCR* et la partie 3' (C-terminale) du gène *ABL*. La fusion se fait entre l'exon b2 ou b3 de *BCR* et l'exon a2 d'*ABL*, entraînant une jonction b2a2 ou b3a2. Ce gène *BCR-ABL* hybride est transcrit en ARNm de 8,5kb, lequel est traduit en une protéine hybride p210 (appelée également onco-protéine P210 ou P210BCR-ABL) avec deux variants différant de 25 acides aminés selon que l'exon b3 est incorporé ou non dans le gène hybride (figure 08) (Deininger *et al.*, 2016).

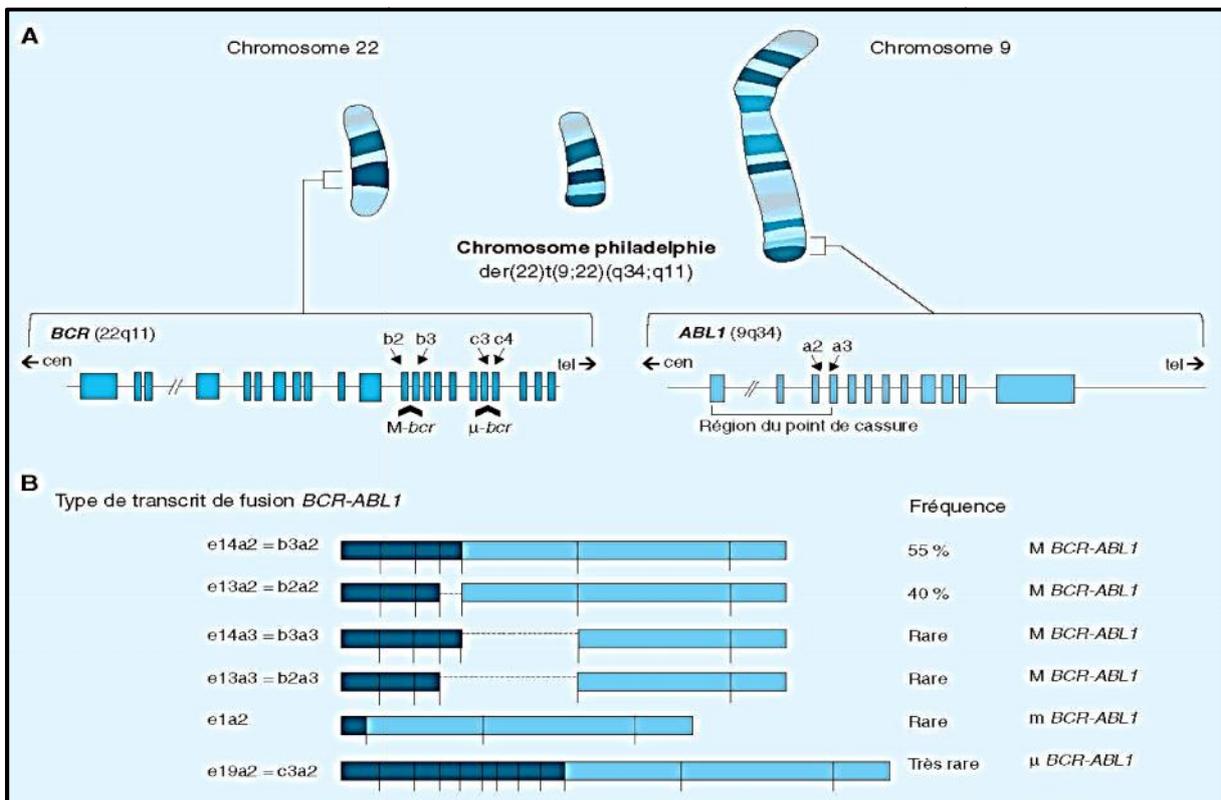


Figure 08 : représentation schématique de la translocation t(9;22) et des différents types de transcrits *BCR-ABL1* retrouvés dans la LMC (Duployez *et al.*, 2015).

2-4- La protéine de fusion p210 BCR-ABL :

La protéine P210 est responsable de la majeure partie des phénomènes qui mènent à la transformation leucémique. Elle possède une activité tyrosine kinase ; enzymes qui catalysent la réaction d'attachement d'un groupement phosphate sur une protéine (Tulliez, 2007). La P210 est composée des acides aminés de BCR du côté N- terminal et des acides aminés d'ABL du côté C-terminal. Elle comporte des domaines homologues avec les protéines de la famille Src (figure 09) (Duployez *et al.*, 2015).

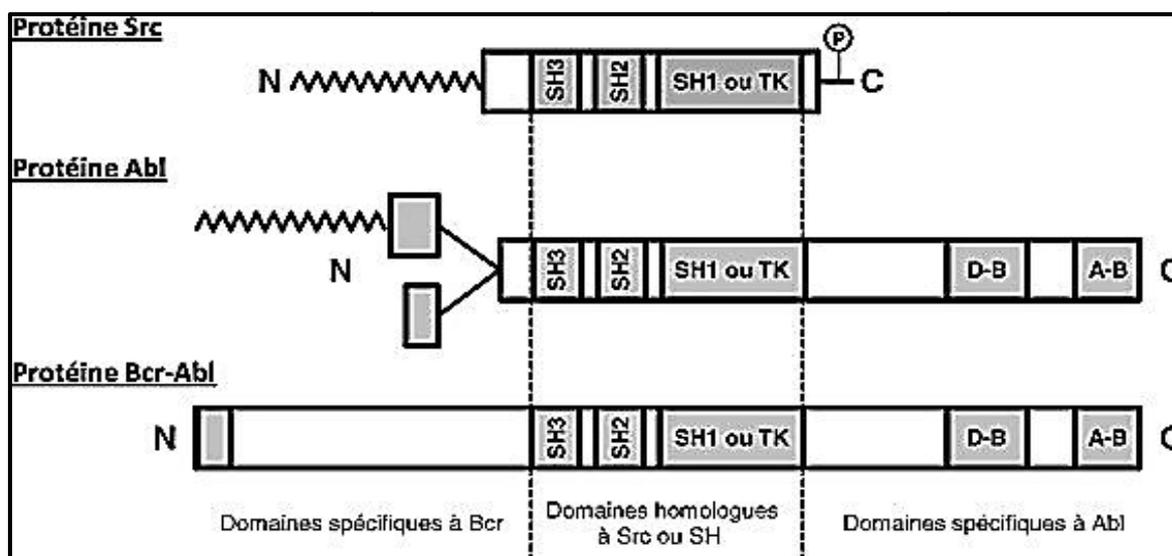


Figure 09 : la protéine de fusion BCR-ABL (Sorel *et al.*, 2017).

La dérégulation de l'activité tyrosine kinase interfère avec les signaux cellulaires normaux impliqués dans le processus de prolifération, d'adhésion cellulaire, de différenciation et d'apoptose en phosphorylant différents complexes protéiques. Il en résulte :

- L'altération des propriétés d'adhésion des cellules tumorales immatures, ou progéniteurs leucémiques, au stroma médullaire,
- L'activation de signaux mitotiques induisant un signal prolifératif et, selon la voie de signalisation impliquée un signal anti-apoptotique,
- Une inhibition de l'apoptose,
- La dégradation des protéines Abi-1 et Abi-2 par le protéasome entraînant une levée de l'inhibition de l'activité tyrosine kinase d'ABL. On peut citer également la dégradation de protéines participant à la réparation de l'ADN, ce qui peut expliquer en partie l'instabilité génétique des cellules Ph⁺ conduisant vers la crise blastique (Sorel *et al.*, 2017).

Les variants oncogéniques de la protéine ABL comme les formes p210, p190 et p230 de la protéine BCR-ABL, induisent des tumeurs *in vivo*, la transformation maligne de cellules *in vitro* et l'indépendance des progénitures hématopoïétiques vis à vis des facteurs de croissance. Ces processus impliquent des voies de signalisation intracellulaires multiples (Sorel *et al.*, 2017).

III- Diagnostic génétique et suivi moléculaire des LMC :

Le diagnostic génétique de LMC repose sur des analyses de cytogénétique et de biologie moléculaire. Les premières comportent la mise en évidence du chromosome Philadelphie (caryotype sanguin ou médullaire) et/ou du réarrangement *BCR-ABL* par Hybridation *In Situ* en Fluorescence (FISH).

Les analyses moléculaires sont basées sur une RT-PCR (Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction) multiplexe permettant la mise en évidence de tous les réarrangements *BCR-ABL* possibles. Une quantification de ces transcrits par PCR quantitative en temps réel est également possible (Sorel *et al.*, 2017).

3-1- Cytogénétique :

La cytogénétique des hémopathies malignes a pour but de rechercher d'éventuelles anomalies chromosomiques présentes au sein des cellules hématopoïétiques malignes. Contrairement à la cytogénétique constitutionnelle pré- et postnatale, les anomalies observées sont acquises, restreintes aux cellules du clone tumoral. La cytogénétique est devenue un examen indispensable dans de nombreuses hémopathies malignes, faisant partie intégrante du bilan diagnostique. C'est aussi un facteur pronostic majeur, permettant une action thérapeutique adaptée au pronostic individuel ainsi défini. De plus, cette investigation peut également avoir un intérêt diagnostique par la mise en évidence d'anomalies spécifiques. Depuis la découverte du chromosome Philadelphie dans la LMC en 1960, de très nombreuses anomalies récurrentes ont été décrites dans la quasi-totalité des hémopathies. Schématiquement, l'étude du caryotype des hémopathies peut apporter quatre types d'informations : **diagnostic, pronostic, choix et suivi thérapeutique** (Rezgoune, 2006 ; Morère *et al.*, 2011).

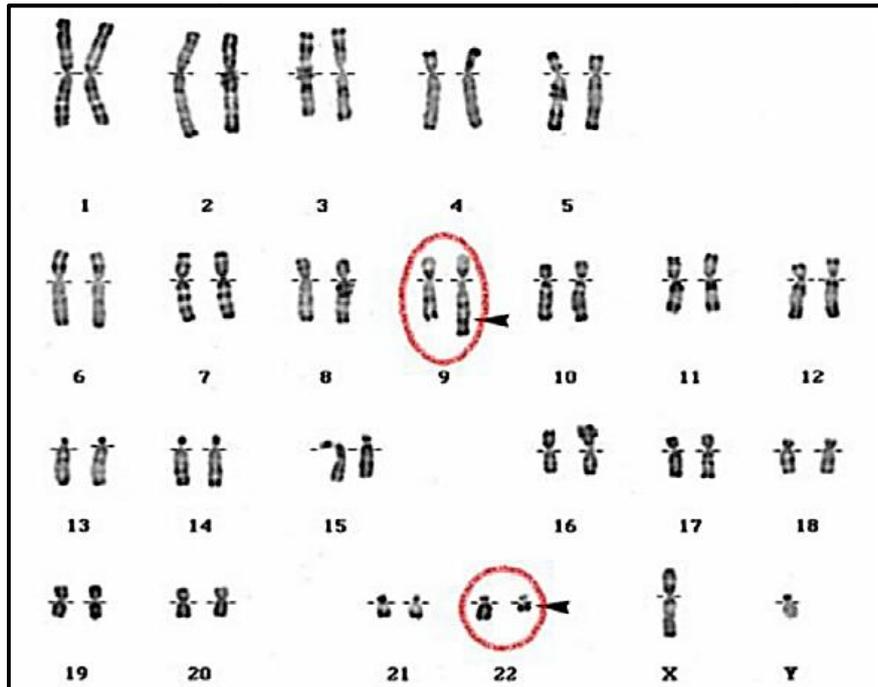


Figure 11 : caryotype avec la translocation $t(9;22)(q34;q11)$ (bandes R) (Messaoudi, 2016).

Au sein de ce groupe, la LMC détient indiscutablement une place à part, à plus d'un titre. Tout d'abord, par l'histoire, le classique "chromosome Philadelphie" étant la première anomalie cytogénétique acquise observée en pathologie humaine en 1960 par *Nowell* et *Hungerford*. Ensuite, par l'association pathognomonique entre l'anomalie chromosomique, la translocation $t(9;22)(q34;q11)$, et le diagnostic de LMC. Enfin, par sa disparition progressive en cas de réponse au traitement. L'importance de ce remaniement génétique est d'ores et déjà majeure pour les indications thérapeutiques. Le caryotype est effectué par la technique des bandes, sans stimulation, sur les cellules médullaires. Il peut être effectué sur culture de cellules sanguines à condition qu'il y ait une myélémie (**Pignon, 1998 ; Huntly, 2003 ; Leguay, 2005**). Il montre chez 95% des patients, l'existence d'un chromosome Philadelphie (22q), résultat d'une translocation réciproque entre les portions distales des bras longs des chromosomes 9 et 22. Dans 90% des cas, il s'agit d'une translocation standard $t(9;22)(q34;q11)$. Chez 5% des patients le Ph est masqué par une translocation complexe impliquant plusieurs chromosomes (le 22, le 9 et un autre au moins). Il faut toutefois garder en mémoire que ce réarrangement chromosomique n'est pas visible dans environ 5% des cas de LMC typique, parce que le réarrangement est cryptique : présent d'un point de vue moléculaire, mais non visible en cytogénétique conventionnelle. Dans ces cas, il faut savoir avoir recours à d'autres techniques, de type FISH ou reverse RT-PCR (**Deininger et al., 2016**).

L'étude cytogénétique reste également essentielle pour la recherche d'anomalies chromosomiques associées. En effet, celles-ci surviennent fréquemment lors de l'accélération et/ou de la transformation de la maladie, mais peuvent être présentes d'emblée, témoins alors d'une phase plus avancée de la maladie. Ces anomalies sont volontiers récurrentes : duplication du chromosome Philadelphie, isochromosome 17q, trisomie 8 ou trisomie 19. Leur apparition étant possible en dehors de toute modification clinique, il est important de savoir les rechercher au cours de l'évolution de la maladie. Enfin, la cytogénétique permet d'apprécier la réponse aux différentes thérapeutiques entreprises. En effet, la chimio-sensibilité s'associe à une diminution progressive du pourcentage de métaphases présentant la translocation t(9;22). La réponse cytogénétique est répartie en quatre sous-groupes selon la proportion de cellules portant le chromosome Ph lors de l'analyse du caryotype médullaire: Réponse cytogénétique complète (0% de chromosome Ph), réponse cytogénétique partielle (entre 1 et 35%), réponse cytogénétique mineure (entre 35 et 95%) et pas de réponse cytogénétique (100%). Vient s'ajouter à cela la définition de la réponse cytogénétique majeure où tous les patients < 35% de chromosomes Ph, c'est-à-dire la somme des réponses complètes et partielles. Les réponses cytogénétiques complètes sont associées à une survie prolongée (**Morère et al., 2011**).

3-2- L'hybridation par fluorescence *in situ* (FISH) :

Il s'agit d'une technique qui est spécifique pour la détection des fusions BCR-ABL non vues au caryotype ou en cas d'échec du caryotype (FISH interphasique) (**Morère et al., 2011**). Elle ne permet pas, en revanche, de mettre en évidence des anomalies cytogénétiques additionnelles. Cependant, elle peut être utile pour rechercher une délétion du chromosome 9, reconnue comme facteur pronostic péjoratif (**Huntly et al., 2003**). Cette technique a l'avantage de pouvoir être réalisé sur des cellules qui ne sont pas en division (**Morère et al., 2011**). Les résultats de la FISH interphasique ne sont pas superposables à ceux de la FISH métaphasique. La FISH métaphasique explore, comme le caryotype, le compartiment des cellules en division alors que la FISH interphasique explore aussi le compartiment des cellules quiescentes (**Dominique et al., 2003 ; Chrystele et al., 2004**). Dans une cellule normale, on observe deux couleurs distinctes à deux endroits différents du génome. Cependant, en raison de la fusion de la séquence chromosomique appartenant aux gènes lors de la translocation t(9;22), les deux sondes se retrouvent l'une à côté de l'autre. On observe alors une superposition de couleur tirant vers le jaune (**figure 12**) (**Messaoudi, 2016**).

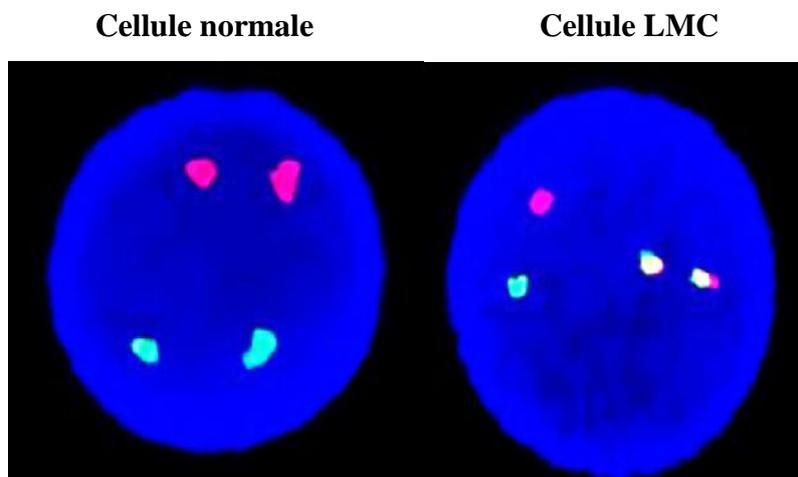


Figure 12 : résultat FSIH d'une translocation $t(9;22)(q34;q11)$ sonde *Bcr* en vert, sonde *Abl* en rouge, gène *Bcr-Abl* en jaune (Messaoudi, 2016).

3-3- Biologie moléculaire :

Les examens de biologie moléculaire doivent être pratiqués sur sang périphérique. La recherche par Reverse Transcription - Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) qualitative multiplex des différents variants du transcrite de fusion *BCR-ABL* doit être pratiquée et affirmera le diagnostic. Une RT-PCR quantitative du transcrite *BCR-ABL* doit également être réalisée au diagnostic, de manière à servir de référence pour l'évaluation de la réponse au traitement (Ledoux *et al.*, 2013).

La Real-time Quantitative - Polymerase Chain Reaction (RQ-PCR) réalisée à partir des cellules médullaires ou sanguines permet la détection et la quantification du transcrite de fusion *BCR-ABL*, et aussi la mise en évidence du sous-type moléculaire produit. Il constitue un bon moyen pour le diagnostic et de suivi de l'évolution de la LMC, ainsi, pour l'appréciation de la réponse moléculaire lors du traitement (Dine *et al.*, 2013 ; Deininger *et al.*, 2016).

Partie pratique

Patients et méthodes

I- Contexte de l'étude :

Il s'agit d'une étude en deux volets ;

- **Dans le premier**, nous avons procédé à une enquête épidémiologique, descriptive, rétrospective, étalée sur neuf ans, afin de recenser tous les cas de LMC diagnostiqués au niveau de la région de Constantine. Les informations sont recueillies, à partir des dossiers des patients suivis ou hospitalisés au niveau des services d'hématologie et de pédiatrie du CHU Benbadis Constantine, ainsi qu'au niveau de l'hôpital militaire régional. Ces informations comportent : l'âge du patient, le sexe, l'origine géographique, la profession, ainsi que les antécédents personnels et familiaux. Les données cliniques et biologiques sont également recueillies (**Annexe II**).
- **Dans le deuxième**, un prélèvement de sang a été réalisé pour tous les patients nouvellement diagnostiqués et/ou pris en charge au niveau des structures citées précédemment en vue d'une étude cytogénétique par la réalisation du caryotype. Cela s'est fait au niveau du Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBt).

II- Matériel et méthodes :

1- Matériel :

- Incubateur pour culture cellulaire (étuve à 37°),
- Hotte à flux laminaire vertical (Steril-Helios[®]),
- Hotte chimique (Shinsaeng[®]),
- Centrifugeuse à grande vitesse (Sigma[®] 2-15KL),
- Bain marie thermostaté à 100° C +/- 0,1° C,
- Réfrigérateurs à 4°C,
- Microscope optique (Leica[®] DM1000 LED),
- Microscope optique (Zeiss[®]) équipé d'un système d'acquisition d'image, relié à un ordinateur muni d'un logiciel de traitement des données (BandViewTM Expo2.0 d'Applied Spectral Imaging[®]),
- Agitateur,
- Pipettes de 1000 (réglable) ,100 et 50,
- Pipettes pasteur,
- Micropipettes,
- Pointes standard en boîtes,
- Lames de microscope,

- Béchers et papier filtre pour paillasse.

2- Réactifs :

- Pb (Max),
- Thymidine,
- PBS (Phosphate Buffered Saline),
- RPMI (Roswell Park Memorial Institute medium),
- SVF (Sérum de Veau Fœtal),
- Colchicine,
- Kcl (5,6 g/l),
- Carnoy,
- Eau distillé,
- Sodium phosphate monobasic dihydrate ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$),
- Giemsa liquide.

3- Méthodologie :

Dans le cadre de la LMC, le caryotype est réalisé, le plus souvent, sur le produit d'une aspiration de moelle osseuse. Cependant, il est possible de l'effectuer sur une prise de sang en cas de myélémie importante. C'est l'examen de référence pour mettre en évidence le chromosome Ph. De plus, la quantification du nombre de métaphases Ph positives est un critère majeur de la réponse au traitement.

Lors du caryotype, nous recherchons également les anomalies cytogénétiques additionnelles, telle que la trisomie 8, témoin d'une évolution clonale. Néanmoins, cet aspect technique comporte quand même quelques inconvénients : elle nécessite dans la plupart des cas le prélèvement médullaire (technique du caryotype sur prélèvement médullaire non encore mise au point au niveau du CRBt et du CHU Benbadis Constantine) et elle est longue.

En pratique, on observe le bras d'un chromosome 22 plus court et un des bras long du chromosome 9 de dimension plus importante. Lors de cet examen, l'interprétation se base uniquement sur des anomalies chromosomiques clonales qui doivent être retrouvées à l'identique sur plusieurs mitoses.

3-1- Prélèvements :

En pratique, cet examen est réalisé sur échantillon de sang veineux, doivent être effectués selon les conditions de prélèvement :

- Les échantillons doivent être recueillis stérilement,
- 2 à 5 ml de sang seront prélevés stérilement sur héparine : l'héparine de lithium est l'anticoagulant de choix. Le sang peut être conservé jusqu'à 24h à +4°C sans modification notable de la numération, mais la cytologie des cellules peut évoluer,
- On doit vérifier l'aspect anormal de l'échantillon, quantitativement et qualitativement (aspect laqué, dilué, présence de caillots, volume insuffisant).

3-2- Culture cellulaire :

Après avoir effectué un prélèvement de sang on prend quelques gouttes et on y ajoute sous hotte 10ml d'un milieu de culture Pb_{max}: c'est un milieu de culture fournit prêt à l'emploi. La culture cellulaire dure 72 heures, à l'intérieur d'une étuve, sous une température de 37°C en position horizontal, après 48h on ajoute la thymidine pour la synchronisation. Après 72 heures :

- On centrifuge les tubes à 1500 tours/minute, pendant 5 minutes,
- On jette le surnageant et on ajoute un peu de PBS pour le premier lavage par des agitations, puis en complétant le volume par le PBS,
- On centrifuge les tubes à 1500 tours/minute, pendant 5 minutes,
- On jette le surnageant et on ajoute un peu de PBS pour le deuxième lavage par des agitations, puis en complétant le volume par le PBS,
- On centrifuge les tubes à 1500 tours/minute, pendant 5 minutes,
- On ajoute 1,5ml RPMI et 1,5ml SVF pour la remise en culture, à l'intérieur d'une étuve, sous une température de 37°C en position horizontal, pendant 5h.

3-3- Caryotype standard en bandes R : arrêt des mitoses, fixation, étalement et dénaturation

- **Arrêt des mitoses** : après 5h, on sort les tubes de l'étuve, on ajoute sous hotte 60µl de colchicine pour chaque tube pour le blocage des mitoses on métaphase. Après avoir bien mélangé le contenu des tubes, on les remet dans l'étuve à 37°C en position horizontal pendant 30 minutes pendant que la colchicine puisse agir.
- **Choc hypotonique** :
 - Préparation de KCl (on met le KCl 5,6 g/l et le KCl 4g/l chacun dans un bécher, à l'intérieure de l'étuve à 37°C),
 - On centrifuge les tubes à 1500 tours/minute, pendant 5 minutes,
 - On jette le surnageant et on ajoute 10 ml de KCl à 5,6 g/l (dans les tubes 1,2 et 3), et 10ml de KCl 4g/l (le tube numéro 4) pour réaliser le choc hypotonique,

- On mélange par des agitations tout d'abord doucement jusqu'à dissolution totale du culot, puis vigoureusement,
- On remet ensuite à l'étuve à 37°C pendant 20 minutes en position horizontale.

- **Préfixation :**
 - Préfixation est un simple lavage permettant d'éliminer le reste du KCl par l'ajout de 0,5ml à 1ml de carnoy,
 - On mélange puis on centrifuge à 1500 tours/minute pendant 5 minutes,
 - On jette le surnageant.

- **Fixation :**
 - La première fixation se fait en ajoutant 0,5ml à 1ml de carnoy puis on vortex tout d'abord doucement jusqu'à dissolution totale du culot, et on complète ensuite le volume jusqu'à 10 ml. On laisse pendant 20 minutes à température ambiante,
 - On centrifuge à 1500 tours/minute pendant 5 minutes et on verse le surnageant,
 - La deuxième fixation se fait en ajoutant 1 ml de la carnoy puis on vortex tout d'abord doucement jusqu'à dissolution totale du culot, et on complète ensuite le volume jusqu'à 10ml,
 - On centrifuge à 1500 tours/minute pendant 5 minutes et on verse le surnageant,
 - On met 10ml de PBS.

- **Étalement et observation :**
 - On mélange jusqu'à dissolution du culot dans le surnageant,
 - Avant l'étalement, on doit apprécier la bonne marche de la manipulation jusqu'ici. Cela se fait sous microscope optique,
 - Les lames sont humidifiées (pour la bonne séparation des chromosomes), puis on ajoute le carnoy,
 - On dépose 2 à 3 gouttes séparées de la préparation sur chaque lame,
 - On ajoute le carnoy (pour la fixation),
 - Les lames sont séchées à l'air libre,
 - Sous microscope (objectif 10 X 40), on voit les chromosomes en métaphase et on essaye de repérer les bonnes mitoses avec des chromosomes bien visibles, structurés et individualisés. Dans le cas contraire, il faut tout recommencer,
 - Si tout va bien, on va réaliser l'étalement. On dépose 2 gouttes de la préparation sur chaque lame, les lames sont séchées à l'air libre,

- Pour chaque prélèvement on a lancé une culture et pour chaque culture traitée avec succès on aura 3 à 5 lames au minimum ; c'est juste une question de sécurité. Si l'une échoue, l'autre peut toujours servir. Pour les échantillons dans lesquelles les mitoses ne sont pas bonnes, on fait un maximum de lames pour élargir le champ de recherche et augmenter la probabilité de trouver de bonnes mitoses,
- Les lames contenant des mitoses exploitables sont marquées avec un crayon, rincées et mises à l'air libre pour ce qu'on appelle : le vieillissement. On les dépose dans une boîte, hermétiquement fermée, avec de multiples rangées. La date à laquelle s'est faite la confection de ces lames doit être notée afin de connaître la durée du vieillissement ; Paramètre qui aura son importance sur l'étape du banding.
- **R-banding :**
 - On met les lames dans de l'eau distillé pendant 5 min avant la dénaturation et ce pour assurer la réhydratation de celles-ci.
 - On met les lames dans bain marie à 87°C, pour une durée de 40 à 50 minutes, en fonction de la densité des lames, dans une solution phosphate ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$),
 - On met les lames dans le colorant et on laisse agir pendant 20 minutes, puis on rince ensuite les lames à l'eau de robinet.

3-4- Observation et établissement du caryotype :

Après toutes les étapes décrites précédemment, l'analyse des chromosomes peut débuter. Au moyen du microscope on cherche et photographie les métaphases sur les lames en sélectionnant des métaphases de qualité satisfaisante. Ce travail est réalisé de façon automatique sur des chercheurs automatisés de métaphases et de classement des chromosomes. Après avoir photographié un nombre suffisant de métaphases (de 20 à 25 le plus souvent), on passe à l'étape de classement des chromosomes à l'aide d'un logiciel d'analyse. Il apparie les chromosomes deux par deux et les range par ordre, en vue du repérage d'éventuelles anomalies. On parle de «clone» lorsqu'une anomalie est observée sur au moins deux mitoses dans le cas d'une anomalie de structure ou d'un gain de chromosome, et sur au moins trois mitoses dans le cas d'une perte d'un chromosome.

3-5- Interprétation de l'analyse cytogénétique :

Pour une observation et interprétation correcte des résultats, nous avons essayé de suivre les recommandations du Groupe Francophone de Cytogénétique Hématologique (GFCH, 2011).

Le nombre de mitoses à analyser peut varier en fonction du stade de la maladie. Au diagnostic, il est nécessaire, en l'absence d'anomalie détectée, d'analyser (comptage et identification des chromosomes) au moins 20 mitoses et de classer 4 à 5 caryotypes. En cas d'anomalie, il est également recommandé d'analyser 20 mitoses et de classer 4 à 5 caryotypes, voire plus selon les anomalies détectées. En cas d'anomalie non clonale, il est souhaitable de confirmer ou d'infirmer une éventuelle clonalité, soit en poursuivant, au moins au microscope, la recherche des métaphases anormales au-delà des 20 premières mitoses (au moins doublement du nombre initial en cas de négativité), soit de réaliser une étude en cytogénétique moléculaire avec une sonde spécifique de l'anomalie suspectée.

Lors du suivi (contrôle de rémission ou une suspicion de rechute), pour la recherche d'une anomalie préalablement décelée, il est recommandé soit d'analyser au moins 30 mitoses quand l'analyse ne peut être faite qu'en cytogénétique conventionnelle, soit de réaliser une analyse ciblée en cytogénétique moléculaire, d'emblée ou en complément d'une analyse conventionnelle de 20 mitoses qui n'a pas mis en évidence l'anomalie recherchée : pour la LMC, selon le consensus actuel, au moins 30 mitoses consécutives doivent être analysées pour un suivi de la maladie résiduelle après une cure sous interféron. En cas d'absence d'anomalie détectée auparavant, cette analyse n'est pas indiquée en cas de rémission cytologique complète mais les conditions sont identiques à celles du diagnostic en cas de suspicion de rechute.

À ce stade, toutes les données hématologiques doivent être connues pour permettre l'interprétation de l'analyse cytogénétique et pour poser l'indication d'éventuelles investigations complémentaires. La conclusion décrira en clair la ou les anomalies les plus informatives : nombre de mitoses analysées, complexité, évolution clonale, anomalie spécifique, anomalie non clonale compatible avec la pathologie suspectée. Les anomalies non clonales et non spécifiques de la pathologie suspectée ne sont pas à évoquer systématiquement, ce point est laissé à l'appréciation de chacun en fonction des cas particuliers. Une orientation diagnostique et pronostique pourra être proposée ainsi que des examens complémentaires appropriés : FISH et biologie moléculaire.

Les limites de l'examen seront mentionnées si nécessaire : nombre de mitoses analysées inférieur à 20, qualité du marquage chromosomique insuffisante, richesse (pourcentage de cellules malignes dans l'échantillon correspondant à l'examen) et/ou conservation du prélèvement non satisfaisant, biais de culture possible.

La comparaison des résultats obtenus se fait avec un caryotype témoin (**figure 13 et 14**).

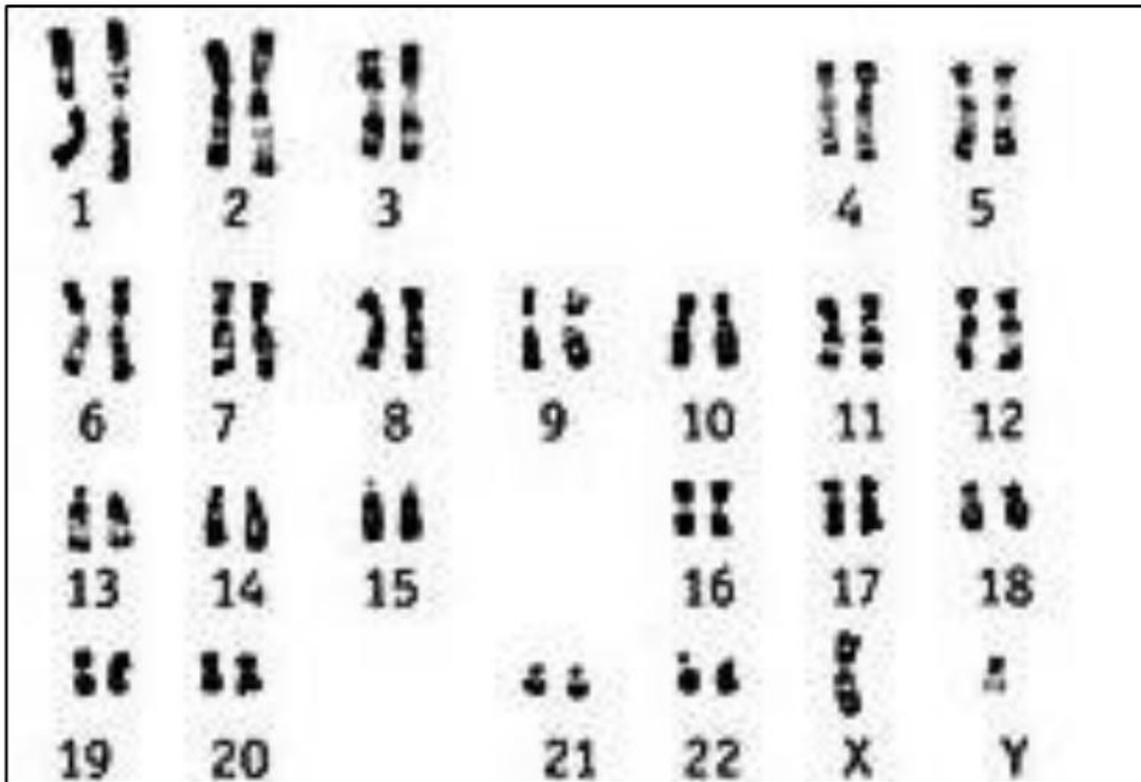


Figure 13 : caryotype témoin normal d'un homme (Bernheim *et al.*, 2010).

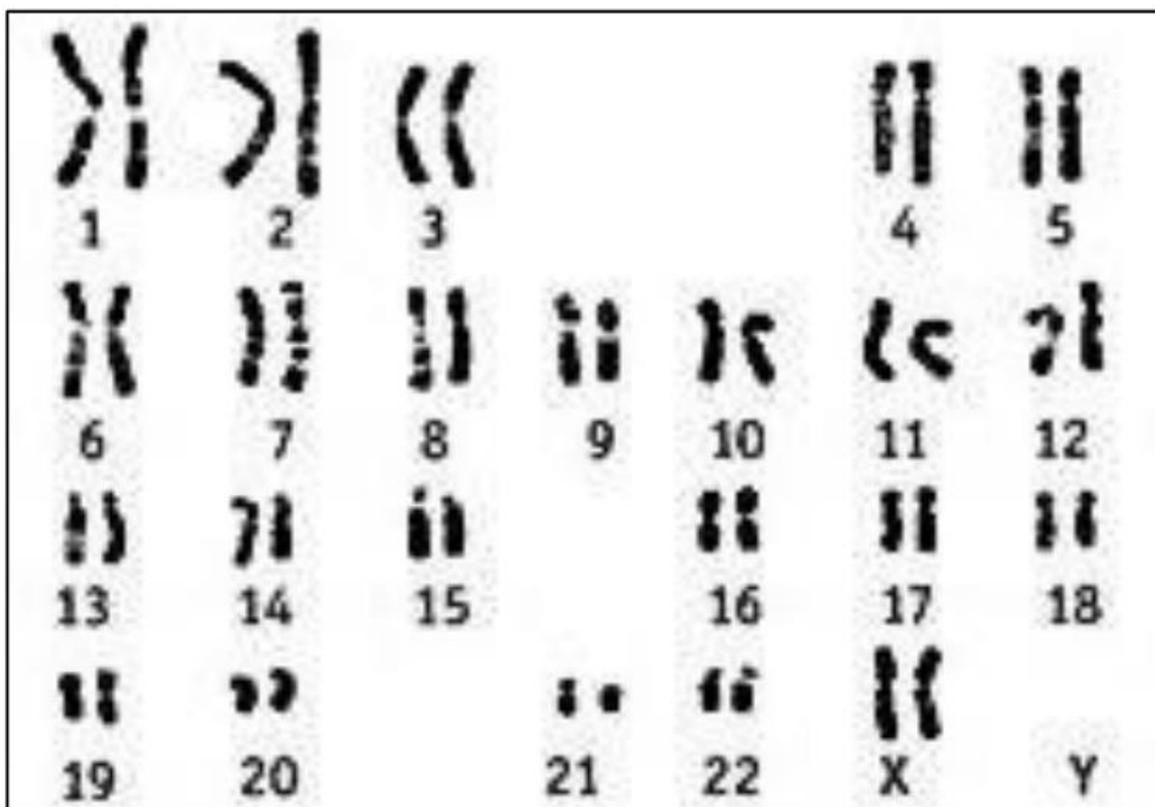


Figure 14 : caryotype témoin normal d'une femme (Bernheim *et al.*, 2010).

Résultats
et
discussion

I- Étude statistique :

Dans une démarche de recherche épidémiologique, pour avoir une appréciation réelle de la prévalence de cette hémopathie maligne dans la région de Constantine, nous avons essayé de recenser tous les cas de LMC, tout âge confondus, diagnostiqués au niveau de la région de Constantine entre 01 janvier 2009 et le 31 décembre 2017. Cette prospection, rétrospective, s'est faite à partir des dossiers des malades pris en charge au niveau des 3 structures de santé compétentes de la wilaya :

- Le service d'hématologie du CHU Benbadis Constantine,
- Le service de pédiatrie du CHU Benbadis Constantine (patient âgés de moins de 16 ans),
- L'hôpital militaire régional de Constantine.

Au total, 133 cas de LMC ont été recensés pour la période mentionnée ci-dessus, et sont répartis, en fonction de la structure de prise en charge, comme suit :

Tableau IV: répartition des cas de LMC par structure de prise en charge.

Structure	Hématologie (CHU Benbadis)	Pédiatrie (CHU Benbadis)	Hôpital militaire régional
Nombre de cas	95	08	30

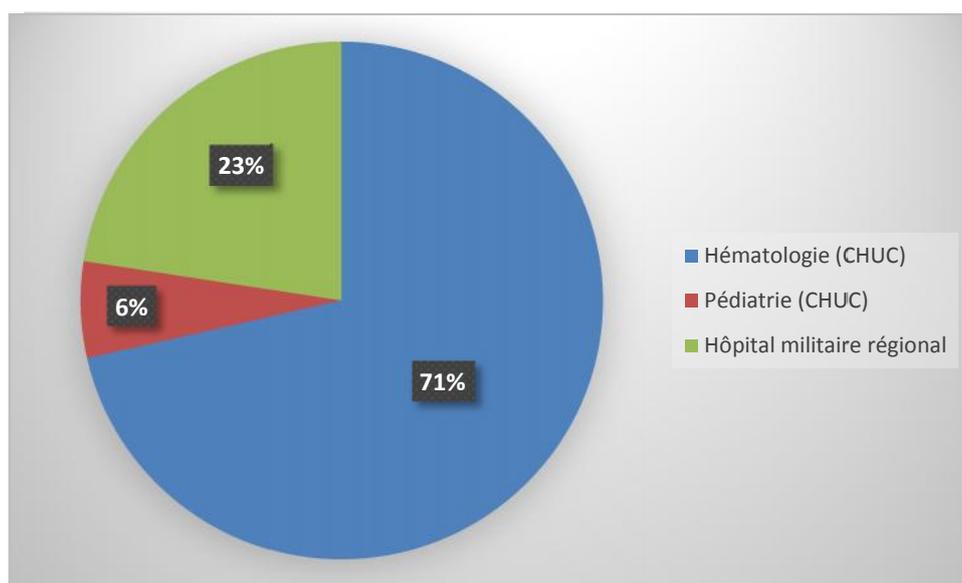


Figure 15 : répartition des cas de LMC par structure de prise en charge.

Nous avons, par la suite, essayer d'examiner l'évolution de la fréquence des LMC dans la région au cours des dernières années. Les résultats obtenus, illustrés ci-après, indiquent une moyenne de 14,77 cas de LMC par ans. L'analyse des données mettent en évidence un pic de fréquence pendant l'année 2010 et ce en comparaison avec l'année précédente. Par la suite, la fréquence semble se stabiliser jusqu'aux années 2016 et 2017 où nous avons constaté une importante augmentation. Il est à noter une certaine disparité dans la courbe d'évolution chronologique de la fréquence des LMC entre le service d'hématologie du CHUC, structure unique de prise en charge des LMC de l'adulte dans la région, ainsi que celle de l'hôpital militaire. Cela peut être expliqué par le fait que les patients pris en charge au niveau de cette dernière structure, de par leurs fonctions, ne sont pas originaire de la région de Constantine et que cette évolution en peut être prise en considération pour illustrer l'aspect épidémiologique de cette hémopathie dans la région. En ce qui concerne l'aspect pédiatrique de la fréquence des LMC, nous avons constaté que sa fréquence est faible et stable sur les dernières années (**tableau 5, figure 16**).

Les résultats obtenus concordent avec les données de la littérature qui indiquent que la LMC est une maladie rare, avec une incidence de un à deux cas pour 100 000 adultes. Elle représente moins de 10% des leucémies nouvellement diagnostiquées. L'incidence de la LMC augmente avec l'âge mais elle n'est pas pour autant une pathologie du sujet âgé, puisque l'âge médian au diagnostic est de 53 ans. Quoique rares cas pédiatriques existent : 10 % des nouveaux diagnostics de LMC sont portés chez des patients de moins de 20 ans.

Tableau V: évolution de la fréquence de la LMC par structure de prise en charge.

	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017
Hématologie (CHUC)	05	20	13	09	09	07	08	12	12
Pédiatrie (CHUC)	01	01	01	01	01	01	01	01	00
Hôpital militaire	01	02	04	05	00	06	02	03	07
Total	07	23	18	15	10	14	11	16	19

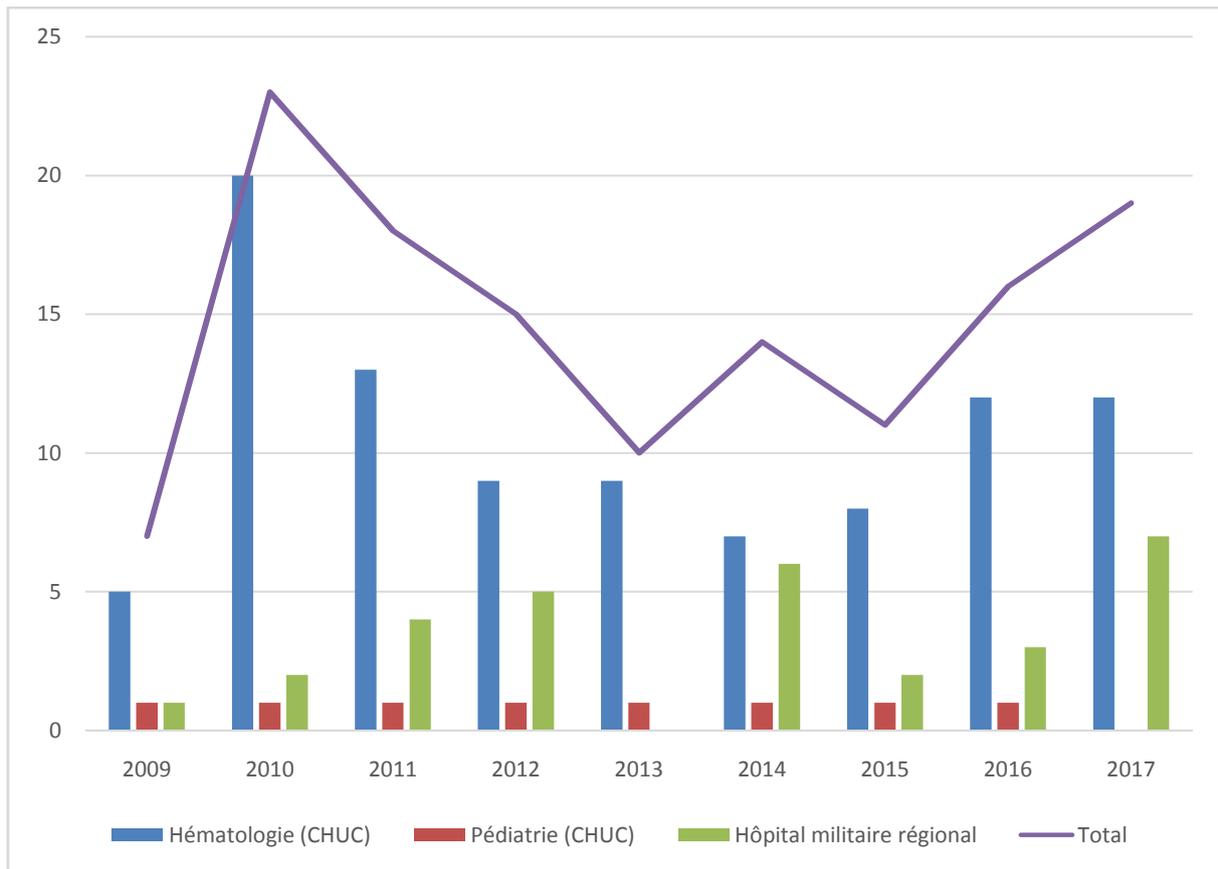


Figure 16 : évolution de la fréquence de la LMC par structure de prise en charge.

Quand on parle de la LMC, on décrit une atteinte préférentiellement masculine. En effet, le sex-ratio rapporté dans plusieurs études de par le monde varie entre 1,4 et 2,2 sans que cela puisse être expliqué (**Edjeme, 2008**). En Algérie, il a été rapporté un sex-ratio de 1,12 (**Djouadi-Lahlou, 2009**).

Dans notre étude, nous avons relevé chez l'adulte une prédominance féminine avec un sex-ratio de 0,86. Deux explications peuvent être proposées : cette hétérogénéité peut être due à un biais statistique ou cela peut être expliqué par une espérance de vie plus élevée chez les femmes que chez les hommes, faisant ainsi inverser le sex-ratio de cette hémopathie. Dans la bibliographie, concernant le sex-ratio de la LMC, chez l'enfant, une prépondérance de patients de sexe masculin a été évoquée mais n'a jamais été réellement démontrée, du fait du faible nombre de cas dans ces études.

Tableau VI : répartition des cas de LMC en fonction du sexe.

Adultes		Enfants	
Masculin	Féminin	Masculin	Féminin
56 (44,80%)	69 (55,20%)	7 (87,50%)	1 (12,50%)
Sex-ratio : 0,81		Sex-ratio : 7	

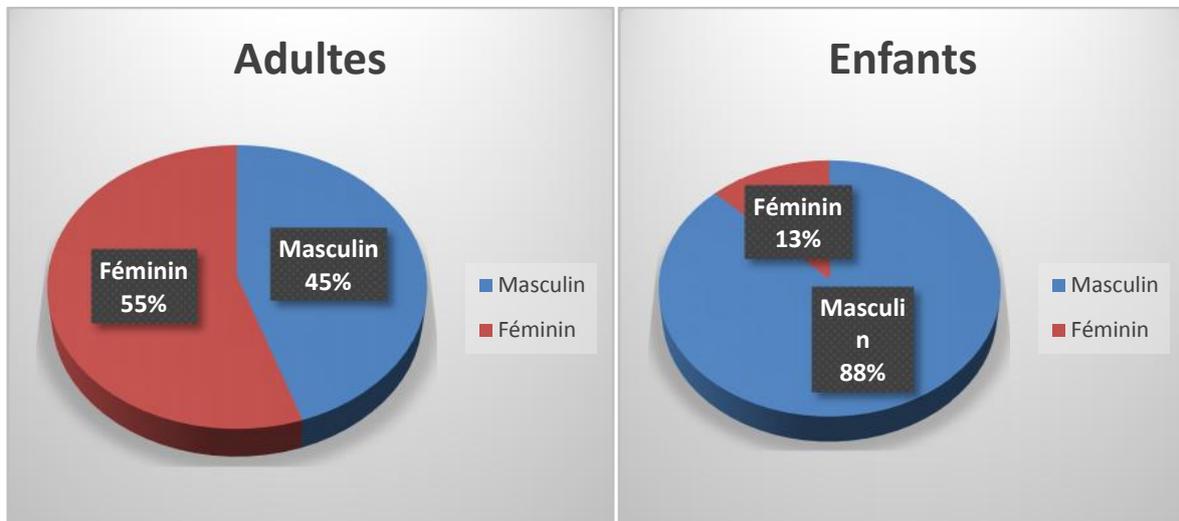


Figure 17 : répartition des cas de LMC en fonction du sexe.

Cette étude a concerné tous les patients chez lesquels une LMC a été diagnostiquée durant les neuf dernières années dans la wilaya de Constantine et qui ont été pris en charge dans les services d’hématologie et de pédiatrie du CHUC ainsi qu’au niveau de l’hôpital militaire régional. La prospection épidémiologique a permis le recrutement de 133 cas. Même si la taille de l’échantillon est suffisante pour faire une étude statistique, elle n’est pas significativement grande pour tirer des conclusions sur l’épidémiologie de cette pathologie dans l’Est Algérien. Rappelons qu’au CHU Constantine, sont orientés les patients atteints de LMC des Wilaya de l’Est et du Sud-Est Algérien. Les données recueillies donc peuvent être informatives sur la fréquence de la LMC dans cette région géographique.

S'agissant d'une étude rétrospective, les informations ont été recueillies à partir des dossiers des malades avec l'accord des médecins-chefs responsables des unités d'hospitalisation en question. Il est à signaler que les dossiers de patients atteints de LMC manquent cruellement d'informations utiles pour procéder à une enquête épidémiologique : consanguinité, présence d'antécédents familiaux de pathologies cancéreuses ou autre. Dans certains dossiers, même l'âge du patient n'est pas mentionné ! Cela a grandement limité nos investigations. En parallèle, la rareté de cette hémopathie d'une part, ainsi que la durée limitée de ce travail de recherche, ne permet pas de procéder à une enquête épidémiologique du type prospective avec un recueil direct des données par la réalisation d'un questionnaire.

II- Étude cytogénétique :

Durant notre immersion en milieu hospitalier, étalée sur une période de trois mois, aucun cas de LMC nouvellement diagnostiqué n'a été recensé au niveau des trois structures de santé mentionnées auparavant. Nous avons donc été contraint de restreindre notre étude à des patients en post-chimiothérapie. L'analyse cytogénétique a été réalisée sur 4 patients adultes atteints de LMC, après chimiothérapie et ce pour l'évaluation de la réussite du protocole thérapeutique mis en place ; réussite conditionnée par la disparition de la splénomégalie et des symptômes en rapport avec la maladie, la normalisation de la FNS, ainsi que par la réponse cytogénétique. Il est d'usage que cet examen sera effectué à 6 et 12 mois après le commencement du traitement, puis tous les 6 mois jusqu'à obtention de la rémission cytogénétique complète. Ces résultats permettront, le cas échéant, de modifier la dose prescrite ou de changer de traitement.

Les caractéristiques clinco-biologiques des patients caryotypés sont mentionnées dans le tableau ci-après.

Tableau VII: caractéristiques clinco-biologiques des patients LMC caryotypés.

N°	Aspect clinique	Aspect biologique	Caryotype
1	Homme, 48 ans, de Constantine, commerçant, LMC en phase chronique, diagnostiqué en 2014, traité par Dasatinib (100mg/j). Splénomégalie modérée avec signes anémiques, bilan cardiaque est normal.	Hémogramme : GB : 44700 /ml, HB : 14,7 g/ml, PLQ : 238000 /ml. Myélogramme : Myéloblastes 13%, Métamyélocytes 17%, Érythroblaste acidophiles 7%, PNN 57%, PNB 6%, PNE 6%	46,XY,t(9,22) (q34,q11) / 46,XY, Del(7)(p14)
2	Homme de 54, de Mila, sans profession, LMC en phase accéléré, diagnostiqué en 2015, traité par Dasatinib 100mg/j (2015) et l'Imatinib (2015-en cours). Splénomégalie importante avec des signes anémiques majeurs.	Hémogramme : GB : 818000 /ml, HB : 12,8 g/ml, PLQ : 438000 /ml.	Monosomie 7
3	Homme de 58 ans, de Jijel, enseignant, LMC en phase chronique, diagnostiqué en 2011, traité par l'imatinib. Splénomégalie modérée et état générale altéré (pâleur et asthénie).	Hémogramme : GB : 150000 /ml, HB : 11 g/ml, PLQ : 291000/ml.	/
4	Femme, 62 an, de Mila, sans profession, LMC en phase chronique, diagnostiqué le 01/12/2003, traité par l'Hydréa (2003-2010) puis l'Imatinib (2010 en cours). Douleurs osseuses, splénomégalie modérée, signes anémiques et infectieux (fièvres).	Hémogramme : GB : 13700 /ml, HB : 11,2 g/ml, PLQ : 126000 /ml.	/

Le résultat de l'analyse cytogénétique a été obtenu : pour chaque patient nous avons analysé, après sélection, 4 mitoses provenant de 3 lames différentes. Les photographies les plus exploitables (qualité satisfaisante des mitoses) sont présentées ci-après (**figures 18-25**) et légendées dans le **tableau 9**.

Cas N°01 :

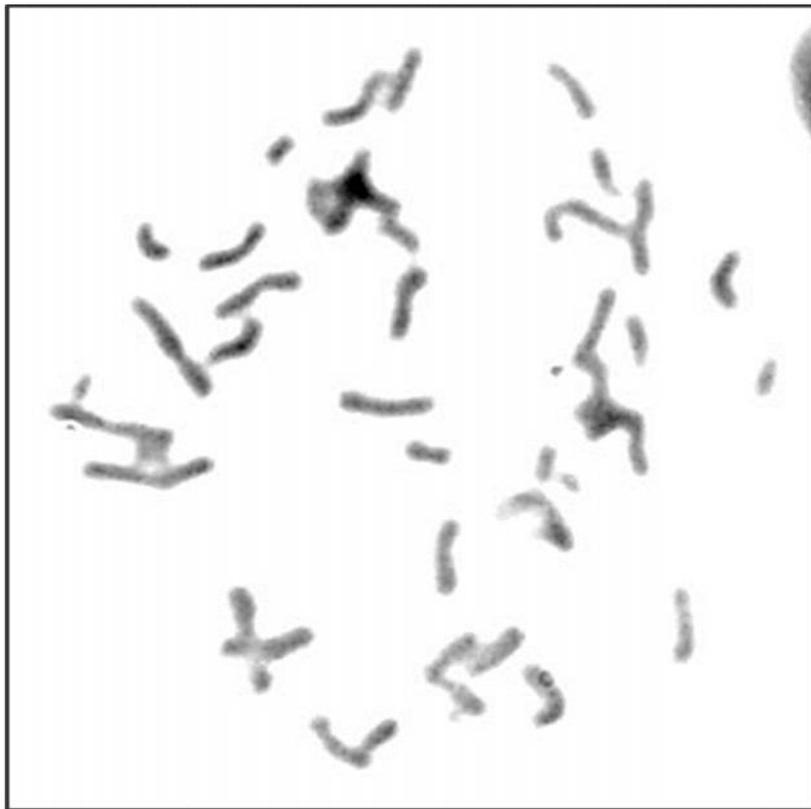


Figure 18 : chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé (Patient N°01). Grossissement 400 (10 X 40).

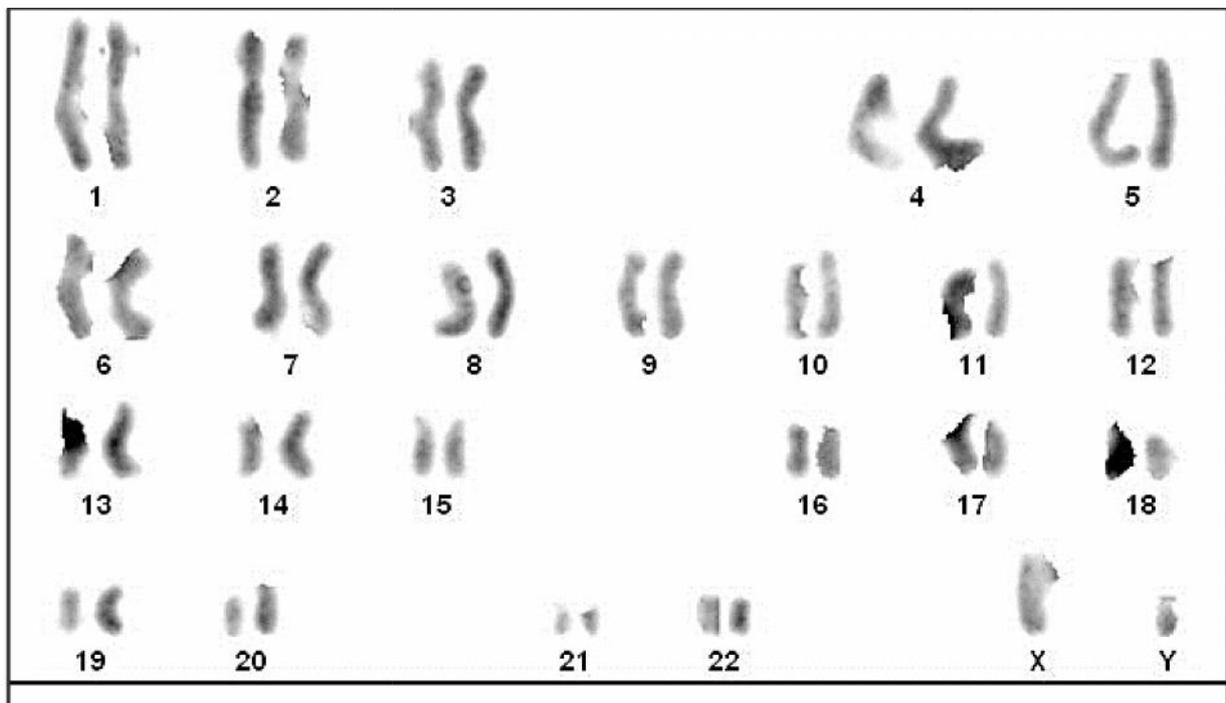


Figure 19 : caryotype du patient N°01.

Cas N°02 :

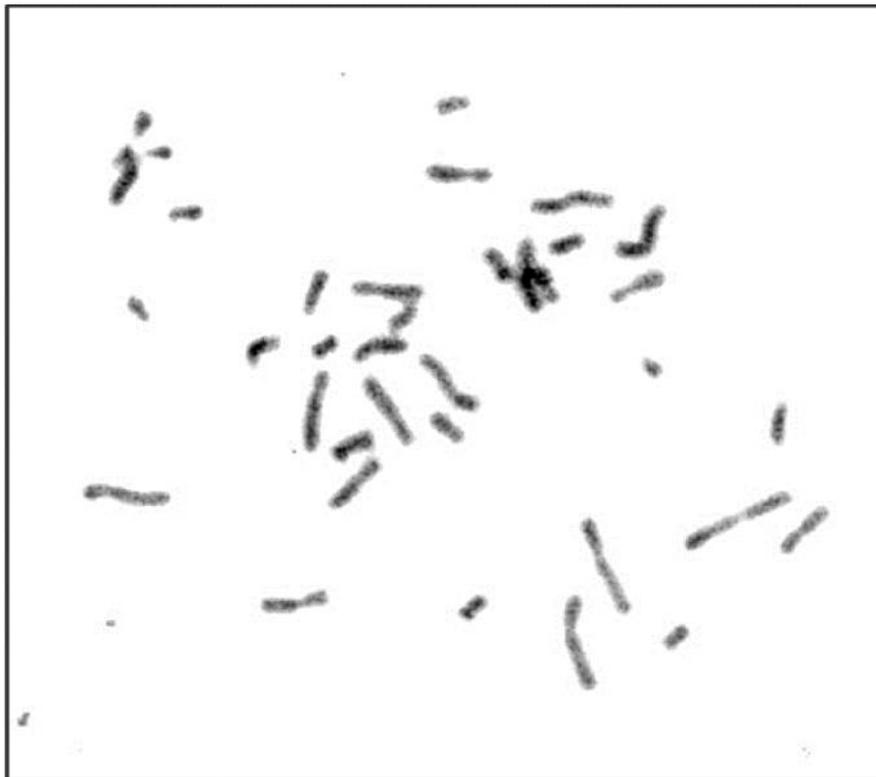


Figure 20 : Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé (Patient N°02). Grossissement 400 (10 X 40).

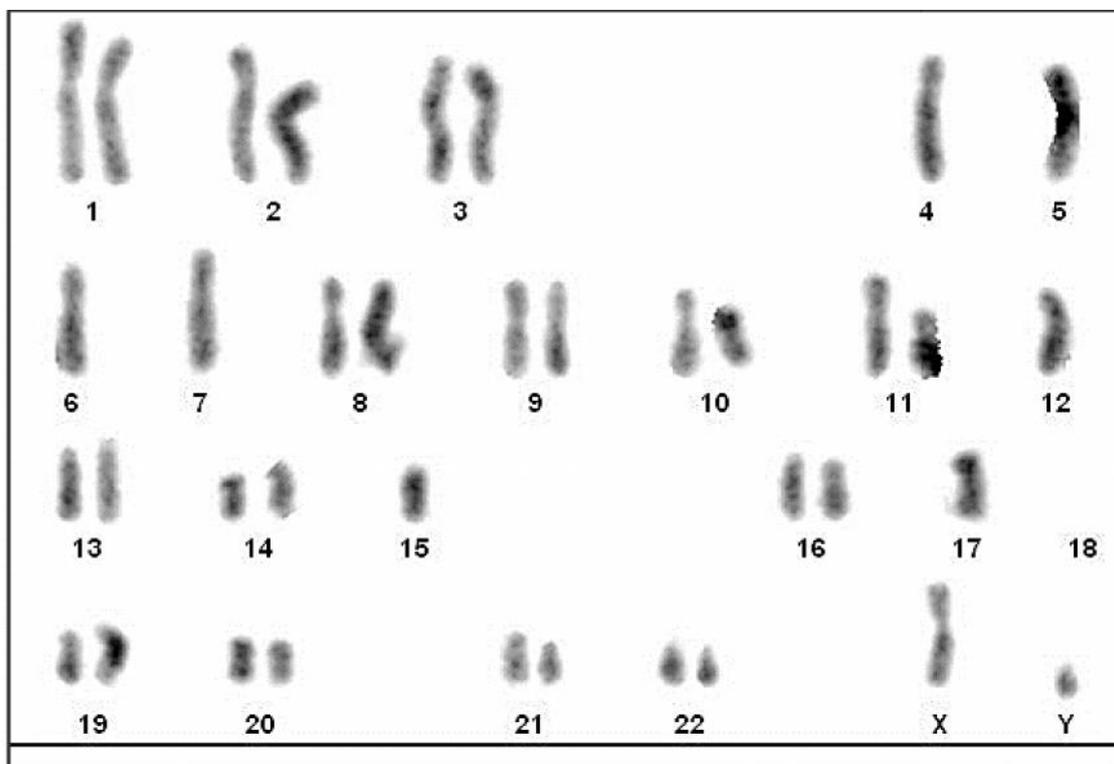


Figure 21 : caryotype du patient N°02.

Cas N°03 :

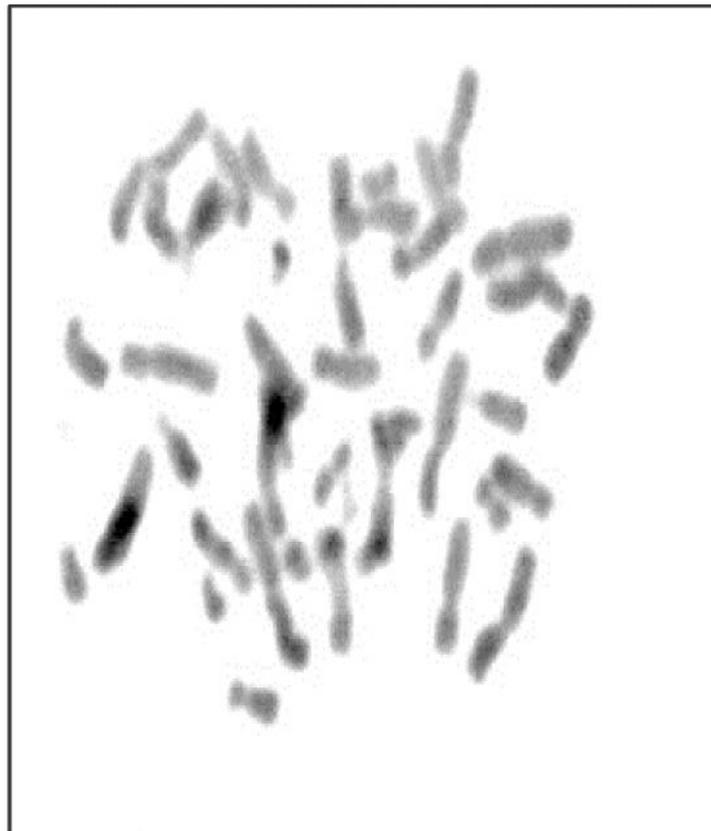


Figure 22 : Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé (Patient N°03). Grossissement 400 (10 X 40).

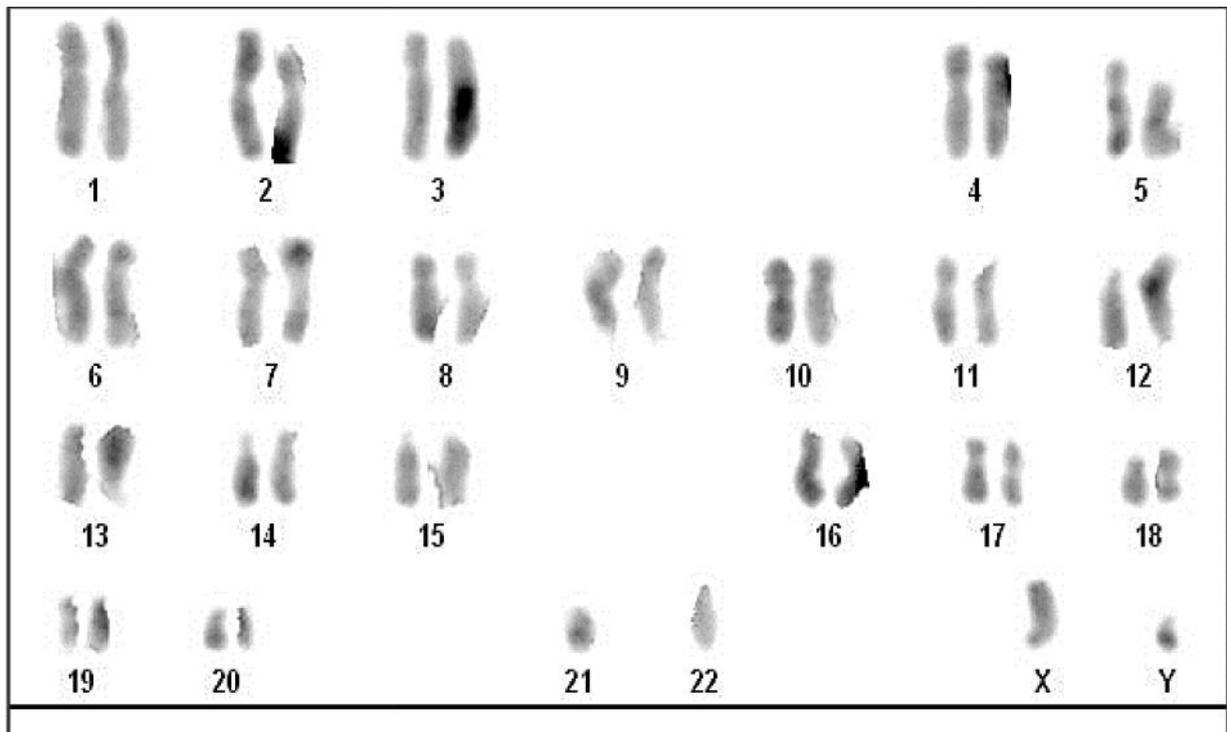


Figure 23 : caryotype du patient N°03.

Cas N°04 :

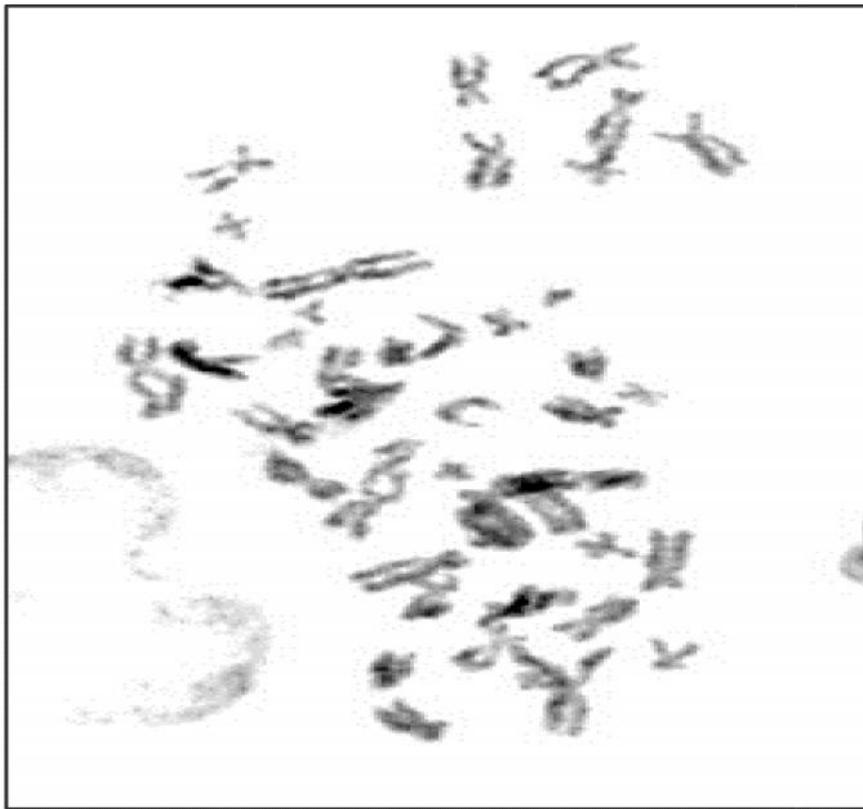


Figure 24 : Chromosomes métaphasiques d'un noyau cellulaire éclaté et dispersé (Patient N°04). Grossissement 400 (10 X 40).

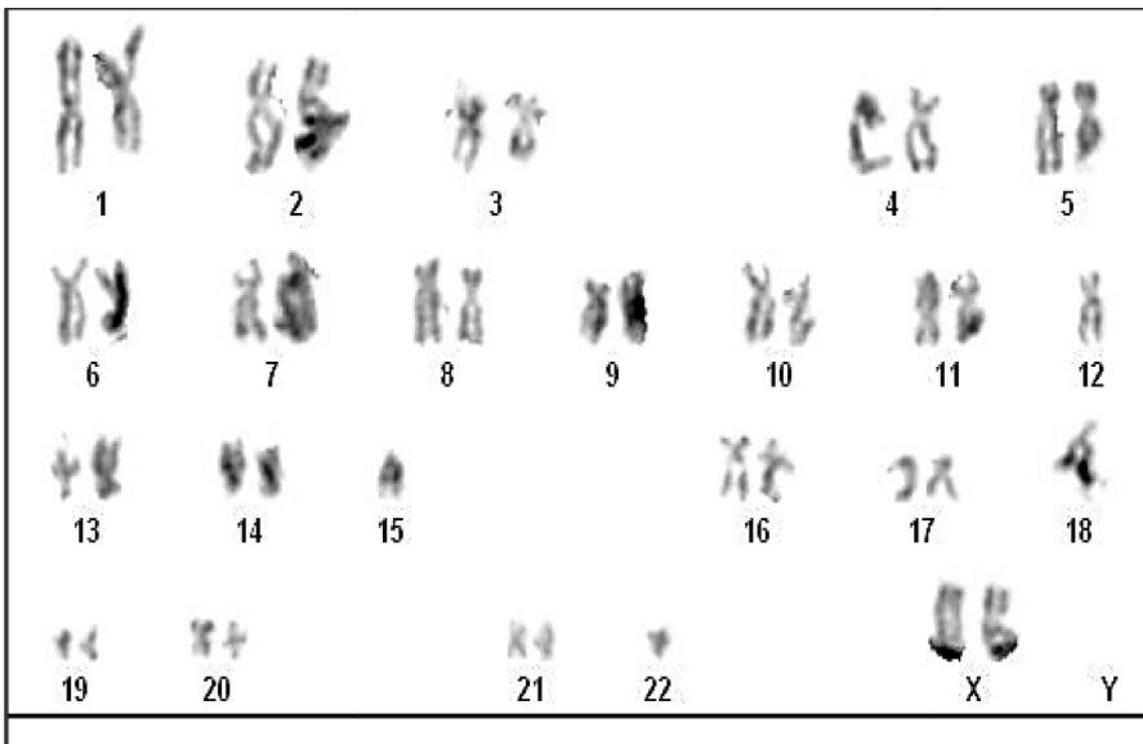


Figure 25 : caryotype du patient N°04.

Tableau VIII : résultats de l'analyse cytogénétique des patients LMC caryotypés.

	Analyse cytogénétique
Cas N°01	<p>Chromosomes chétives, mais bien individualisés, bandes R pas claires, caryotype normal, absence probable du chromosome Philadelphie, les chromosomes 9 et 22 présentent un aspect <i>a priori</i> normal. Disparition de la monosomie partielle du chromosome 7 observée initialement au diagnostic.</p> <p>Conclusion : rémission cytogénétique probable.</p>
Cas N°02	<p>Chromosomes chétives, mais bien individualisés, bandes R pas claires, caryotype aneuploïde complètement déséquilibré à 37 chromosomes : monosomie 4, 5, 6, 7, 12, 15 et 17 ainsi qu'une nullosomie 18, aspect légèrement altéré des chromosomes 9 et 22.</p> <p>Conclusion : échec thérapeutique, LMC en phase d'acutisation.</p>
Cas N°03	<p>Chromosomes chétives, mais bien individualisés, bandes R pas claires, caryotype aneuploïde à 44 chromosomes avec monosomie 21 et 22. Les deux chromosomes 9 ainsi que le seul chromosome 22 présentent un aspect <i>a priori</i> normal.</p> <p>Conclusion : résultat de l'analyse cytogénétique incompatible avec les données clinico-biologiques qui suggèrent que le patient est en phase chronique de LMC. Il est logique de penser que le résultat de ce caryotype est faussé pour cause de problème technique due probablement à une défaillance dans l'étape de l'étalement.</p>
Cas N°04	<p>Chromosomes longs, bien structurés, bien individualisés, bandes R pas claires, caryotype aneuploïde à 42 chromosomes avec monosomie 12, 15, 18 et 22. Les deux chromosomes 9 ainsi que le seul chromosome 22 présentent un aspect <i>a priori</i> normal.</p> <p>Conclusion : résultat de l'analyse cytogénétique incompatible avec les données clinico-biologiques qui suggèrent que le patient est en phase chronique de LMC. Le résultat de ce caryotype est probablement erroné, problème technique dans l'étape de l'étalement.</p>

Selon les données de la littérature, pour les LMC, le caryotype permet de mettre en évidence le chromosome Philadelphie chez 95 % des cas. Il confirme le diagnostic en retrouvant la t(9;22) (q34;q11) classique ou ses variantes, retrouvées dans 4 à 8 % des cas, au diagnostic et met aussi en évidence les anomalies additionnelles dans les cellules Philadelphie positives (5 à 10% au diagnostic). Rarement de caryotype normal (< 10% des cas), l'anomalie peut être retrouvée par FISH ou biologie moléculaire (**El Mouhdi, 2015**). Dans notre série, du fait que nous n'avons pas pu accéder à des prélèvements de patients atteints de LMC avant chimiothérapie, nos chances de mettre en évidence cette anomalies cytogénétique acquise et caractéristique de cette hémopathie maligne était très faible. S'ajoute à cela, la résolution très faible du caryotype obtenu. En effet, après la réalisation de la technique de dénaturation thermique, les bandes R obtenues n'étaient pas de très bonne qualité et ne permettaient pas une interprétation avec certitude des anomalies chromosomiques relevés. Sur les 4 patients analysés, 3 montrent un caryotype aneuploïde avec des anomalies chromosomiques de nombre. Cela peut indiquer un échec de la politique thérapeutique mise en place et/ou une possible acutisation (transformation blastique). En effet, les données de la littérature rapportent que le chromosome Philadelphie est conservé lors de la transformation aiguë, accompagné d'anomalies additionnelles stéréotypées comme la duplication du chromosome Philadelphie, les trisomies 8, 19, l'iso (17q).

Aujourd'hui, pour la LMC, la conjonction des données des aspects cliniques et biologiques sont, pour la plupart du temps, très évocateurs de cette hémopathie. Cependant, une confirmation diagnostique est nécessaire dans la majorité des cas. Les traitements proposés actuellement sont ciblés sur une activité anti-tyrosine kinase de *BCR-ABL* (ITK) et ont de telles conséquences en termes d'effets secondaires et de coûts financiers qu'ils impliquent une certitude diagnostique. De plus, l'OMS définit la LMC comme un syndrome myéloprolifératif Ph1+/- mais toujours *BCR-ABL* + ; ainsi, la mise en évidence du chromosome Ph1 suffit au diagnostic de la LMC, quel que soit la technique utilisée (**Sorel et al., 2017**). Selon **Djouadi et al(2013)**, la seule étude, à notre connaissance, ayant évalué le recours à la cytogénétique dans la prise en charge de la LMC, la prévalence en 2013 de patients algériens atteints de LMC qui ont bénéficié d'un diagnostic avec mise en évidence du transcrit *BCR/ABL* par cytogénétique ou biologie moléculaire est de 39%, avec environ 84% des cas pour lesquels ce diagnostic a été pratiqué dans le secteur privé, souvent en Tunisie, ce qui pose un problème aux patients en raison du coût(**Djouadi, 2013**).

La LMC était une maladie mortelle jusqu'en 2005 en Algérie, faute de traitement. Depuis 2007, avec l'introduction de nouveaux médicaments, la LMC est devenue une maladie chronique. Le traitement de cette hémopathie par l'Imatinib de 1^{ère} génération à un coût raisonnable depuis 2005, dont bénéficie 95% des patients, a permis d'obtenir une survie globale à 8 ans de 87,9%, et une survie sans évènement à 72%. Par contre, le suivi moléculaire de la maladie résiduelle, utile pour dépister une résistance et indiquer le passage à un ITK de seconde génération, n'est pratiqué que dans moins de 50% des cas, dont la moitié dans le secteur privé (**Abdennebi et al., 2014**).

Aujourd'hui, selon les recommandations de la Société Algérienne d'Hématologie (SAH), les modalités de la prise en charge du traitement de la LMC dans notre pays dépendent essentiellement des moyens diagnostics et de suivi. En cas de diagnostic de LMC, en 1^{ère} phase chronique posé sur les arguments cliniques et hématimétriques, en l'absence de possibilité de confirmation de l'existence du Ph, le traitement par imatinib est recommandé à la dose de 400 mg/jour selon la tolérance, l'efficacité du traitement est alors jugée sur la Réponse Hématologique qui doit être Complète (RHC) à 3 mois, posée sur les éléments suivants : rate non palpable ; taux de globules blancs inférieur à $10 \times 10^9/l$, absence de myélémie, taux de plaquettes inférieur à $450 \times 10^9/l$ et basophilie inférieure à 5%. En cas de non RHC au terme de 3 mois supplémentaires ou d'échappement au traitement, un typage HLA du patient et de sa fratrie est souhaitable afin d'envisager une allogreffe. Le deuxième cas de figure est celui où le diagnostic et le suivi peuvent être faits par cytogénétique (caryotype et/ou FISH) l'efficacité du traitement est jugée sur la Réponse Cytogénétique qui doit être Complète (RCC) à 12 mois, en son absence les doses d'imatinib sont augmentées, à 18 mois la possibilité d'allogreffe peut être envisagée, qui peut toutefois être précédée selon les possibilités d'un traitement par ITK de seconde génération (ITK2). Le troisième cas de figure est celui où le suivi moléculaire peut être entrepris, dans ce cas une réponse moléculaire majeure (RMM) doit être obtenue au terme de 18 mois de traitement, en son absence une augmentation des doses selon les mêmes modalités est entreprise et en cas d'échec l'allogreffe sera également envisagée, précédée si possible d'un traitement par ITK2.

De grands progrès ont été accomplis dans la prise en charge de nos patients dont le premier a été la maîtrise des techniques d'allogreffe, et d'accessibilité à l'imatinib à tous les patients sur tout le territoire, Néanmoins, des progrès restent à accomplir pour développer sur tout le territoire par la mise au point de techniques biologiques (caryotype, FISH, RT-PCR) qui permettront d'affiner le suivi des patients. Même s'il existe plusieurs techniques dont l'utilisation varie en fonction de la sensibilité recherchée. Malgré les avancées techniques, la cytogénétique conventionnelle reste la technique de référence pour la mise en évidence de la t(9;22)(q34;q11), dans sa forme classique ou variante, cependant, la cytogénétique moléculaire (FISH) : indiquée en cas de discordance entre les données du caryotype (qui n'identifie pas le chromosome Ph) et les données biologiques qui sont compatibles avec le diagnostic de LMC.

La présence du chromosome Philadelphie et de ses produits est considérée aujourd'hui comme un marqueur incontournable de la maladie. Sa disparition est considérée comme un pré requis à la guérison et le but ultime de toute thérapeutique. L'analyse cytogénétique des LMC présente plusieurs :

- **Avantages** : possibilité de mettre en évidence le chromosome Ph dans sa forme classique et variante ainsi que l'opportunité de révéler les anomalies caryotypiques additionnelles au chromosome Ph qui peuvent être présentes au diagnostic ou apparaître au cours de la progression de la maladie et qui semblent avoir un impact sur l'évolution des patients et sur la qualité de la réponse au traitement.
- **Limites** : une sensibilité moindre par rapport à la FISH et la biologie moléculaire qui ne permet pas de suivre la maladie résiduelle. Un autre inconvénient est la nécessité de réaliser l'analyse cytogénétique sur des échantillons médullaires pour obtenir des métaphases ; plus difficile et donc plus problématique à mettre en place que le caryotype réalisé sur sang total. D'autres aléas tels que l'échec de culture, des cultures contaminées, l'échec de prélèvement chez un patient ayant développé une fibrose médullaire après une année de traitement, etc. sont à prendre en considération.

Les moyens diagnostiques de la LMC en Algérie restent très insuffisants et se limitent dans 90% des cas à un hémogramme et un frottis sanguin (SAH, 2018). Le caryotype et la recherche du transcrit *BCR/ABL* par biologie moléculaire ne sont pratiqués que dans 10% des cas (SAH, 2018) ce qui compromet complètement le suivi thérapeutique des patients.

Conclusion
et
Perspectives

La leucémie myéloïde chronique (LMC), hémopathie maligne du groupe des néoplasies myéloprolifératives, est la conséquence de la translocation $t(9;22)(q34;q11)$ qui est à l'origine du gène de fusion *BCR-ABL1* codant une protéine tyrosine kinase à fonction exacerbée et dont le diagnostic biologique des LMC repose essentiellement sur l'hémogramme et le myélogramme. Le diagnostic génétique fait appel à la cytogénétique et la biologie moléculaire. Les premières comportent la mise en évidence du chromosome Philadelphie sur caryotype sanguin ou médullaire et/ou du réarrangement *BCR-ABL1* par hybridation *in situ* en fluorescence. Dans plus de 95 % des cas de LMC, le chromosome Ph1 peut être mis en évidence sur un caryotype conventionnel. Dans tous les cas de LMC, la FISH met en évidence un réarrangement entre les gènes *BCR* et *ABL1*.

Dans notre travail de recherche, après avoir réalisé une prospection statistique, rétrospectives, des cas de LMC recensés ces dernières années au niveau de la région de Constantine, nous avons procédé à une étude transversale sur les LMC, et pour cela nous avons effectué une analyse hématologique et cytologique (réalisation de frottis sanguins médullaires) et cytogénétique (réalisation du caryotype), pour des patients atteints de LMC recrutés au niveau de l'hôpital militaire régional de Constantine, les service de pédiatrie et d'hématologie du CHU Benbadis Constantine.

L'étude cytogénétique des LMC s'est révélée être un outil de premier choix pour la prise en charge de cette hémopathie maligne. L'association quasi-spécifique entre la LMC et la conséquence de la translocation $t(9;22)(q34;q11)$ permet de confirmer le diagnostic. Il en ressort que la difficulté souvent rencontrée pour établir un diagnostic fiable dans les hémopathies malignes de manière générale, par des examens hématologiques et cytologiques impose l'utilisation des techniques de cytogénétique classique, et éventuellement de la cytogénétique moléculaire pour lever l'ambiguïté rencontrée, dans le but de confirmer le diagnostic. Cette approche cytogénétique permet également d'établir un pronostic et assurer un suivi thérapeutique et par conséquent, la prise en charge des patients au niveau de structures hospitalières spécialisées peut être améliorée.

Après la réalisation de ce travail de recherche nous voyons comme perspectives :

- L'utilisation de la cytogénétique moléculaire représentée par les techniques de FISH, en complément de la cytogénétique classique pour aller au-delà des limites imposées par la résolution du banding et de révéler des anomalies cryptiques, comme l'est la t(9;22)(q34;q11) dans 5% des cas de LMC.
- L'utilisation de la biologie moléculaire : la technique de RT-PCR qui étudie le produit même de l'anomalie cytogénétique et place donc la détection à un niveau moléculaire. La quantification des ARNm *BCR-ABL1* par RT-PCR en temps réel et par la recherche des mutations du domaine kinase de *BCR-ABL* à l'origine de résistances plus ou moins sévères à la thérapie ciblée, constitue un bon moyen pour le diagnostic et le suivi de l'évolution de la LMC, ainsi que pour l'appréciation de la réponse moléculaire lors du traitement et l'apparition éventuelle d'une résistance conduisant à l'adaptation de celui-ci.
- Établissement d'un consensus national sur la prise en charge thérapeutique des malades par la mise en place d'un réseau pluridisciplinaire, régional et national, qui regroupera cliniciens, pathologistes, biologistes et généticiens en charge de ces hémopathies malignes.

Références bibliographiques

1. **AUBERT F, et GUITTARD P.** 1991. L'essentiel medical. *Edition Ellipses - Paris*. ISBN : 9782729855116.
2. **AFSSET-INSERM.** 2008. Cancer et environnement (rapport d'expertise collective). *Les éditions Inserm-Paris*. 889 p. ISBN : 2-8559-8868-3.
3. **AZZOUZ M.** 2016. Histologie (le tissu sanguin). Cours en ligne. Ecole supérieure en science de l'aliment et en industries agro-alimentaires (ESSAIAA). Pagination multiple.
4. **BAUNIN V.** 2013. La leucémie myéloïde chronique de l'enfant et de l'adolescent : réarrangements moléculaires *BCR-ABL1* au diagnostic. *Thèse en ligne. Université de Poitiers*. Pagination multiple.
5. **BELARBI N, et HAMADOUCHE H.** 2016. La cellule cancéreuse. Cours de Cytologie de la première année de Médecine. *Cour en ligne. Université d'Oran 1, Faculté de Médecine, Département de Médecine*. Pagination multiple.
6. **BENOSMAN C.** 2010. Contrôle de la dynamique de la leucémie myéloïde chronique par Imatinib. Mathématiques. *Thèse en ligne. Université Bordeaux 1*. Pagination multiple.
7. **BERGERAT J P.** 2003. Cancérogenèse et développement tumoral. *Cours en ligne. Faculté de Médecine- U.L.P.- Strasbourg – France Enseignement*.
8. **BERGERAT J P.** 1996. Onco-hématologie; Heures de France. ISBN : 2853851699, 9782853851695.
9. **BERNAUDIN J F.** 2014. Cancérologie : Qu'est-ce qu'un cancer? Cours IFSI; S5092PROCTUM01JFB.
10. **BICHET M.** 2016. Stratégie thérapeutique dans la LMC : Arrêt du traitement : Mythe ou réalité. *thèse en ligne. Université de Lorraine*. pagination multiple.
11. **BINET C, et ZNADECKI.** 2011. Hématologie. la partie 1 Hématologie cellulaire Oncohématologie, ISBN : 978-2-294-71223-4.
12. **BLANCHAR J M.** 2007. Oncogènes et Régulateurs du cycle cellulaire. Laboratoire : IGMM : Institut de Génétique Moléculaire.
13. **BORIES D, et DEVERGIE A.** 2003. Stratégies thérapeutiques et recommandations pour la prise en charge des patients atteints de leucémie myéloïde chronique. *Hématologie*. 9 : 497-512.
14. **BRANFORD S, HUGHES T, RUDZKI Z, et al.** 2003. Monitoring chronic myeloid leukaemia therapy by real-time quantitative PCR in blood is a reliable alternative to bone marrow cytogenetics. *Br J Haematol*. 107: 587-99.
15. **BRUMMENDORF TH, CERVANTES F, et KIM D.** 2008. Bosutinib is safe and active in patients (pts) with chronic phase (CP) chronic myeloid leukaemia (CML) with resistance or intolerance to imatinib and other tyrosine kinase inhibitors. *J Clin Oncol*. 26: 372.

16. **CHESNEL A.** 2013. Dictionnaire de technologie étymologie et définition des termes employés dans les arts et métiers (etc.) : T.S.28-29 : Dictionnaire de technologie ; 1-2, volume 29 ; Migne.
17. **CHRYSTELE B N, CAROLE B, ALAIN B, et al.** 2004. Recommandations pour la prise en charge cytogénétique de la leucémie myéloïde chronique (LMC) établies par le Groupe Français de Cytogénétique Hématologique (GFCH). *Pathologie Biologie.* 52 238–240.
18. **CREIL R, PLEYER L, Neureiter D, et al.** 2010. Chronic myeloid neoplasias and clonal overlap syndromes: Epidemiology, Pathophysiology and treatment options; Springer Sciences & business Média.ISBN: 978-3-211-79892-8.
19. **CROSS NC, WHITE HE, COLOMER D, et al.** 2015. Laboratory recommendations for scoring deep molecular responses following treatment for chronic myeloid leukemia. *Leukemia.*29: 999-1003.
20. **DEININGER MW, HODGSON JG, SHAH NP, et al.** 2016. Compound mutations in BCR-ABL1 are not major drivers of primary or secondary resistance to ponatinib in CP-CML patients. *Blood.* 127: 703-12.
21. **DEMOULIANE R G, et GOLDMAN J M.** 2014. Purchase PDF volume 101, issue 1, P56-67.pagination multiple.
22. **DJOUADI-LAHLOU K.** 2009. Approches épidémiologiques des aplasies médullaires en Algérie. *Revue Algérienne d’Hématologie.*
23. **DINE G, REHN Y, BRAHIMI S, et al.** 2013. Residual disease in chronic myeloid leukemia. *IMMBIO.* 28(4), 201-206.
24. **DOMINIQUE B, AGNÈS D, MARTINE G P, et al.** 2003. Stratégies thérapeutiques et recommandations pour la prise en charge des patients atteints de leucémie myéloïde chronique. *Hématologie.* Volume 9, Numéro 6.497-512. Pagination multiple.
25. **EL MOUHDI G.** 2015. Les aspects cliniques et cytogénétique de la leucémie myéloïde chronique, Thèse en ligne N° 186/15.Université Sidi Mohammed Ben Abdelah.pagination multiple.
26. **EDJEME M.** 2008. La classification de Tura dans la leucémie myéloïde chronique : impact pronostique. *Thèse en ligne : Université de Bamako-Mali.* Pagination multiple.
27. **Ferrant A.** 2004.Hématologie tome 1, Faculté de Médecine Unité d’Hématologie,
28. **GOLDMAN JM.** 2010.Chronic myeloid leukemia: a historical perspective.*Semin Hematol.*47: 302-11.
29. **GOLDMAN L, et PIERRE L.** 2015.Masson; Goldman's Cecil Médecine Cancérologie; *Elsevier Health Sciences.*ISBN: 2294736567, 9782294736568.
30. **GRIEURIN N B D, et POLET D.** 2013. Transplantation de cellules souches du sang. *Cours en ligne. Université de Genève.*

31. **HAMLADJI A.** 2014. National epidemiological study of acute myeloid leukemia (AML) in Algeria over a period of 5 years (2006-2010) -a multicentric cooperative study of the AML and myelodysplasia Algerian work group. *Revue Algérienne d'Hématologie*. Mai 214.
32. **HASFORD J, PFIRMANN M, HEHLMANN R, et al.** 1998. A new prognostic score for survival of patients with chronic myeloid leukemia treated with interferon- . *J Natl Cancer Inst*; 90: 850-8.
33. **HERLET S.** 2010. Les inhibiteurs de tyrosine kinase dans le traitement de la LMC : du GLIVEC® aux traitements de deuxième génération Conséquence de la sortie de la réserve hospitalière pour le pharmacien d'officine. *Thèse en ligne : Université Henri Poincaré - Nancy 1-France*. Pagination multiple.
34. **HUNTLY BJ, BENCH A, et GREEN AR.** 2003. Double jeopardy from a single translocation: deletions of the derivative chromosome 9 in chronic myeloid leukemia. *Blood*, 102: 1160-8.
35. **IMRANI H.** 2013. Regulation du cycle cellulaire et hémopathies malignes : le myélome multiple comme modèle, *Thèse en ligne. Université Mohammed V-Souissi*. Pagination multiple.
36. **KAMPEN KR.** 2012. The discovery and early understanding of leukemia. *LeukRes*.36 : 6-13.
37. **KANTARJANT H, O'BRIEN S, CORTÉS J, et al.** 2006. Results of intensive chemotherapy in 998 patients age 65 years or older with acute myeloid leukemia or high-risk myelodysplastic syndrome: predictive prognostic models for outcome; *Cancer*. 106:1090-8.
38. **KHORASHAD JS, KELLEY TW, SZANKASI P et al.** 2013. *BCR-ABL1* compound mutations in tyrosine kinase inhibitor resistant CML: frequency and clonal relationships. *Blood*. 121 :489-98.
39. **LA CAVE R, et LARSEN C J.** 2005. *Cancérologie Fondamentale. John Libbey Eurotext*. ISBN: 2742012591.
40. **LEDOUX M P, et NATARAJAN S.** 2013. Leucémie myéloïde chronique : des réponses et des questions ; CHU de Strasbourg, pôle d'onco-hématologie, France ; 19 (2) : 128-38.
41. **LEDOUX MP, et NATARAJAN A S.** 2013. Leucémie myéloïde chronique : des réponses et des questions. *mt* 2013 ; 19 (2) : 128-38.
42. **LEGUAY T, et MAHON F X.** 2005. Leucémie myéloïde chronique. *EMC-Hématologie* 2, 187-205.
43. **LEGUAY T, et MAHON F X.** 2005. Leucémie myéloïde chronique. *thèse en ligne. Université ABOU Bekr BELKAID-TLEMCEM, EMC. Hématologie*.

44. **LELEU P, et MOREAU.** 2010. Précis d'hématologie et d'oncologie. s.l: *Springer-Verlag France*, Paris.ISBN:978-2-287-99341-1.
45. **LEPORRIER M.** 1999. Hématologie. Dion initiatives sante, Velizy-Villacoublay.414 pages.
46. **MAHON FX.** 2001. Leucemie myeloide chronique et inhibiteurs de tyrosine kinase. *Rev Med Interne.* 22 : 894-899.
47. **MATASON MJ, RICHIE EK, et CONSEDINE N.** 2006. Incidence rates of the major leukemia subtypes among US Hispanics, Blacks and non-Hispanic Whites. *Leukemia lymphoma*; 47 : 2365-2370.
48. **MERLIN J L.** 2004. Biomarqueurs Moléculaires en Oncologie; *Springer*.ISBN : 2817804457, 9782817804453.
49. **MERTALSMAN R, et ENGELHARDT M.** 2011. Précis d'hématologie et d'oncologie; *Springer Science & Business Média*.ISBN: 978-2-287-99341-1.
50. **MESSAOUDI N.** 2016. Leucémie Myéloïde Chronique chez l'adulte.thèse en ligne. (Etude rétrospective sur 69 cas au CHU Bejaia) ; *thèse en ligne. Pagination multiple.*
51. **MICHEL G.** 2005. Anatomie fonctionnel de l'appareille locomoteur os-articulation-muscles.-42.ISBN: 2-7606-1974-5.
52. **MORÉRE J F, et MORNEX F.** 2011. Thérapeutique du Cancer; *Springer Sciences & Business Média*.ISBN : 2817800214, 9782817800219.
53. **NICOLAS B D G, DAMIEN P, PHILLIPPER R et al.** 2013. Transplantation de cellules souches du sang.thèse en ligne : Université de Genève. Pagination multiple.
54. **NORBERT I, et YVESCAHN J.** 2014. Hématologie : Réussir les ECNi ; *Elsevier Masson*.ISBN : 978-2294739507.
55. **NOWELL PC, et HUNGERFORD DA.** 1960. Chromosome Studies on Normal and Leukemic Human Leukocytes. *JNCI J Natl Cancer Inst.*
56. **OUCHENANE Z.** 2017. Les syndromes myéloprolifératifs; *cour en ligne.faculté de médecine Constantine -d'Hématologie.* pagination multiple.
57. **PATENAUDE R.** 1997. Survivre à la leucémie.ISBN: 978-2-8903-7900-8.
58. **PIGNON JM.** 1998. Translocation bcr-abl : méthodes diagnostiques et intérêt clinique. *Ann Biol Clin.* 56, 57-63.
59. **PREUDHOMME C, CAYUELA JM, CHOMEL JC, et al.** 2010. Recommandations du groupe FI-LMC pour la prise en charge des patients présentant des mutations du domaine tyrosine kinase deBCR-ABL dans les hémopathies malignes à chromosome Philadelphie.*Hematologie.* 16 : 65-79.
60. **REZGOUNE ML.** 2006. Contribution à l'étude cytogénétique des leucémies. Mémoire de Magistère. Université des freres menturoi Constantine 1.

61. **ROCHE LC, BOUDRY LE *et al.*** 2016. Place de la cytogénétique dans la prise en charge de la leucémie myéloïde chronique : actualisation par le Groupe francophone de cytogénétique hématologique (GFCH). *Ann Biol.* 74(5) : 511.
62. **ROSSI J Z, et NAULT J C.** 2016. Comment une cellule devient cancéreuse -et ce qu'on peut faire pour l'éviter; the conversation. Pagination multiple.
63. **ROWLEY JD.** 1973. A New Consistent Chromosomal Abnormality in Chronic Myelogenous Leukaemia identified by Quinacrine Fluorescence and Giemsa Staining. *Nature.* 243 : 290 - 293.
64. **SOCIÉTÉ ALGÉRIENNE D'HÉMATOLOGIE ET DE TRANSFUSION SANGUINE.** 2018. En ligne : <https://www.hematologie-dz.com>. Consulté le 21 mai 2018.
65. **SAVITZ DA, et ANDREWS KW.** 1997. Review of epidemiologic evidence on benzene and lymphatic hematopoietic cancers; *Am J Ind Med*; 31:287-95.
66. **SEBAHOUN G.** 2005. *Hématologie clinique et biologique.* Arnette groupe liaisons SA, Rueil-Malmaison. ISBN: 2718410531, 9782718410531.
67. **SEMIN P, et SPEARS A S.** 1995. Clinical manifestations of chronic granulocytic leukemia. *22 (4):380-95.*
68. **SOREL N, CAYSSIALS É, BRIZARD F *et al.*** 2017. Actualisation des traitements et du suivi moléculaire dans la prise en charge de la leucémie myéloïde chronique. *Ann Biol Clin.* 75(2) : 129-45
69. **SNYDER R, et KALF GF.** 1997. A perspective on benzene leukemogenesis; *Crit Rev Toxicol*; 24:177-209.
70. **TEFFERI A, THIELE J, et VARDIMAN JW.** 2009. The 2008 WorldHealthn Organization Classification System for MyeloproliferativeNeoplasms. *Cancer* September 1. Pagination multiple.
71. **TREUIL P.** 2008. La leucémie myeloïde chronique et son traitement par l'imatinib. *Act Pharm.* 474: 25-30.
72. **TULLIEZ M.** 2007. Traitement de la leucémie myéloïde chronique en 2007. *Rev Francoph Lab,* 25-29, 395.
73. **ZEKKARI N.** 2014. Les Aspects cytohématologiques de la leucémie myéloïde chronique et leurs impacts pronostic ; Thèse en ligne N°: 08. Université Mohammed V-Souissi. pagination multiple.
74. **ZUNIC P.** 2016. Hématopoïèse. cour en ligne: Université Saint-pierre, France. Pagination multiple.

Annexes

Annexe I : Aspect cytologique des LMC (Zandeckiet al., 2007)

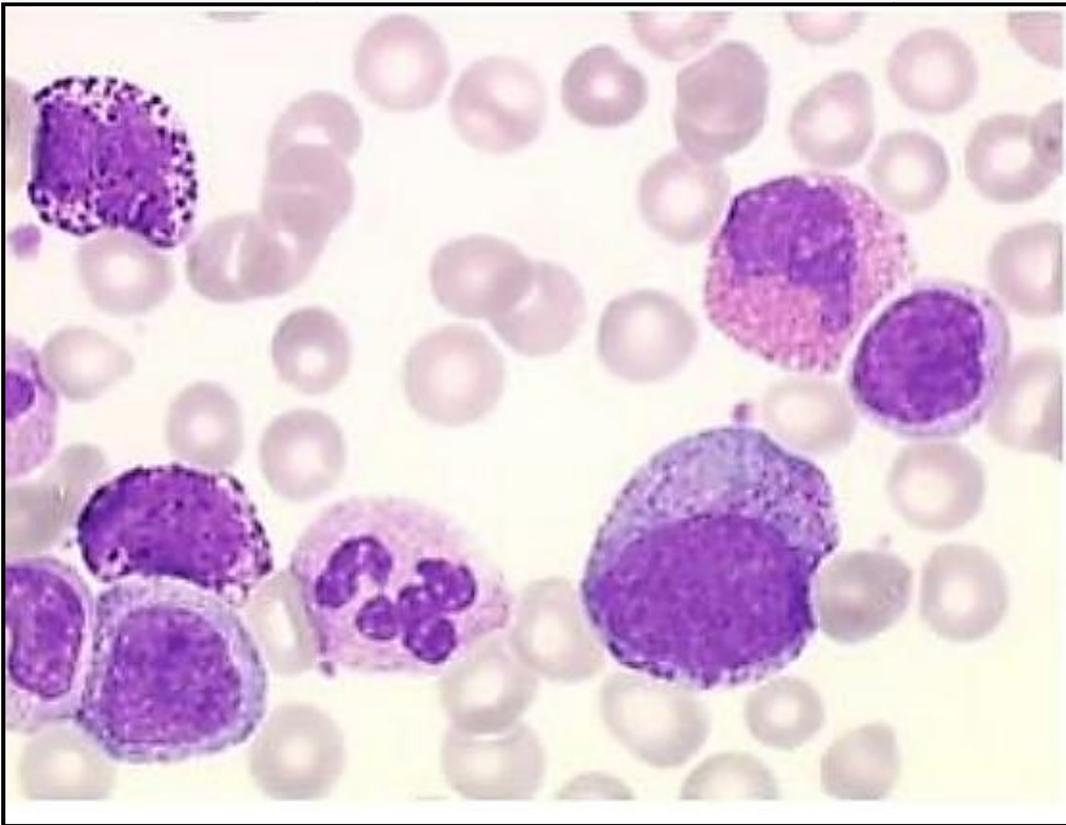


Figure 01 : Frottis sanguin typique d'une LMC au diagnostic. (colorant : MGG)
(Grossissement X 100)

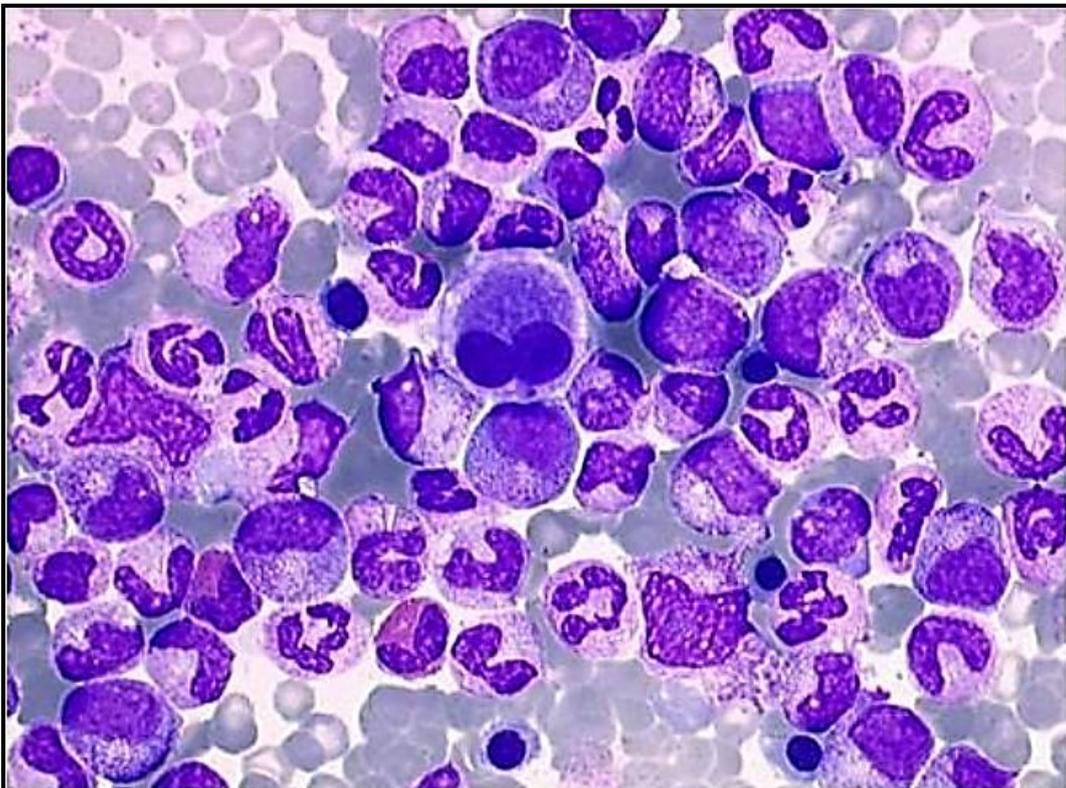


Figure 02 : Frottis médullaire typique, richement cellulaire d'une LMC. (Colorant MGG)
(Grossissement X100)

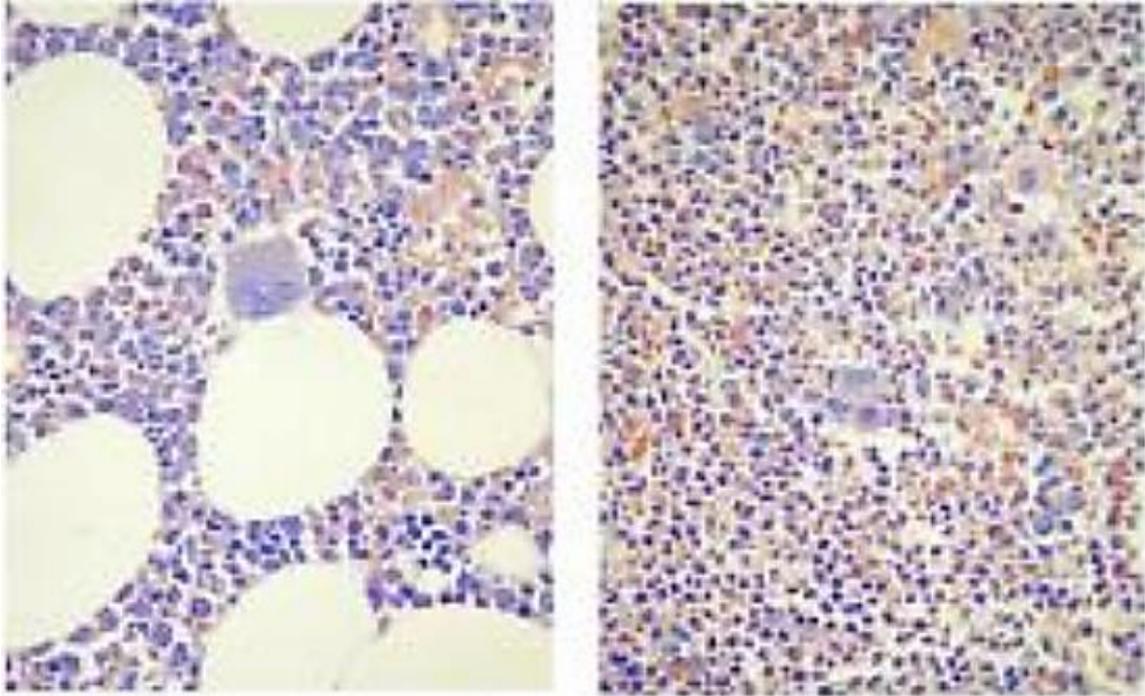


Figure 03 : Biopsie ostéo-médullaire présentant une moelle normal et une moelle en phase
chronique de la LMC. (Colorant MGG)
(Grossissement X100)

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

Autres remarques :

Analyses biologiques			
Examen	Type cellulaire	Valeurs normales	Obs
Hémogramme	Polynucléaires neutrophiles	2 à 7,5 x 10 ⁹ /l (45-70%)	
	Polynucléaires éosinophiles	0,04 à 0,5 x 10 ⁹ /l (1-3%)	
	Polynucléaires basophiles	0,01 à 0,1 x 10 ⁹ /l (0-0,8%)	
	Lymphocyte	1,5 à 4 x 10 ⁹ /l (20-40%)	
	Monocyte	0,2 à 1 x 10 ⁹ /l (2-10%)	
	Plaquettes	200000 à 500000 /ml	
	Myélémie		
	Blastose		
	Type de myélémie		
	Type de blastose		
Myélogramme	Myéloblastes	0,1 à 3,5 %	
	Promyélocytes	0,5 à 5 %	
	Myélocytes Neutrophiles	5 à 20 %	
	Myélocytes éosinophiles	0,1 à 3 %	

	Myélocytes basophiles	0 à 0,05 %	
	Métamyélocytes	10 à 30 %	
	Polynucléaires neutrophiles	7 à 25 %	
	Polynucléaires éosinophiles	0,2 à 3 %	
	Polynucléaires basophiles	0 à 0,5 %	
	Proérythroblastes	0,5 à 3 %	
	Érythroblastes basophiles	10 à 30 %	
	Érythroblastes poly-chromatophiles	10 à 30 %	
	Érythroblastes acidophiles	10 à 30 %	
	Lymphocytes	5 à 30 %	
	Plasmocytes	0,1 à 3,5 %	
	Monocytes	0 à 3 %	
	Mégacaryocytes	++	
	Conclusion		
Cytologie	Lignée proliférative		
	Rapport nucléo-cytoplasmique		
	Chromatine	Fine	
		Condensé (en motte)	
	Nucléole	Nombre	
		Aspect	
	Contour nucléaire	Régulier	
		Irrégulier	
	Basophilie cytoplasmique	Modérée	
		Importante	
	Vacuole cytoplasmique	Présente	
		Absentes	
		Nombre	
	Granulations lymphocytaires		
	Granulations azurophiles		
	Coloration PAS		
Bâtonnet d'AUER			
Peroxydase			
Noir de soudan			
Ombre de Gumprecht			
Analyses biochimiques	Uricémie	0,2-0,4 g/l	
	Hémoglobine	13-17 g/l	
	Phosphatase alcaline	40-150 UI/ml	
	Vitamine B 12	160-900 mg/l	
	gammaglobuline		
	LDH	240 UI/l	
	Glycémie	0,6-0,9 g/l	
	Bilirubine	<10 mg/l	
	Créatinine	5-10 mg/l	
	Albumine	36-45 g/l	
	Protéine sérique	61-76 g/l	
	CPK	< 70 UI/l	
	Na ⁺ / K ⁺	3,15-3,47 mg/l / 0,15-0,21 mg/l	

	Acide urique	40-60 mg/l	
	TGO/TGP	< 40UI /ml /< 45UI /ml.	
Analyse hématologique	Vitesse de sédimentation	5-15 mm/h	
	Hématocrite	0,38 – 0,50 (38 à 50 %)	
	WBC	4000-10000 mm ³	
	RBC	4-5,5 million /ml	
	MCV	85-95 μ ³	
	MCH	28-32 pg	
	MCHC	32-43 %	
	Microcytose/macrocytose		
	Normochromie/hypochromie		
Bilans préthérapeutiques	Système ABO		
	Rhésus		
	Bilan cardiaque		
	Bilan hépatique		
	Uricémie		
	T. Quick (Tx Prothrombine)	> 65 ± 5 %	
	T. Céphaline	/	

Compte rendu clinique et biologique :

Cytologie :

Cytogénétique :

Conclusion générale :

Résumés

Cytogenetic study of Chronic Myelogenous Leukemia (CML) in the region of Constantine.

Abstract:

Chronic Myeloid Leukaemia (CML) is a type of the myeloproliferative neoplasm, characterized by monoclonal proliferation of myeloid cells. It manifests by splenomegaly and massive leukocytosis with passage into the blood of immature cells of the granulocyte line greater than 20%. In Algeria, CML represents 250 new cases per year (about 0.4 cases per 100,000 inhabitants), the median age at diagnosis is at 44 years old. Nowadays, this diagnosis is frequently made during a routine checkup. The blood cells count highlights neutrophil leukocytosis, myelemia, as well as basophilic. The diagnosis of CML requires the detection of the Philadelphia chromosome or Ph1 (observed in more than 95% of cases) and the *BCR-ABL1* molecular rearrangement, a direct consequence of the translocation t(9;22)(q34;q11). In our research work, as a first step, we tried to identify the epidemiological, clinical and biological characteristics of CML patients in the region of Constantine. Afterwards, we proceed to the application of classical cytogenetic techniques on a sample of these patients, recruited at the level of the different health structures of the region, and this in order to be able to bring some elements of answer as to the diagnosis and the molecular follow-up of this hemopathy. The management of CML has been exceptionally improved through the use of tyrosine kinase inhibitors, whose leader is imatinib. In developed countries, most patients diagnosed today have a life expectancy close to that of the general population. This therapeutic efficacy can be regularly controlled thanks to a suitable molecular monitoring, based on the quantification of *BCR-ABL1* mRNAs by RT-PCR in real time and by the search for mutations of the *BCR-ABL* kinase domain, which cause more resistance or less severe to the targeted therapy, which allows to consider, if necessary, a change of ITK. The implementation of these methods, mainly cytogenetic and molecular biology, in Algeria could greatly improve the survival of our patients.

Keywords: malignant hemopathies, chronic myelogenous leukemia, cytogenetic.

(CML) التحليل الخلوي الوراثي لسرطان الدم النخاعي المزمن في منطقة قسنطينة.

:

(LMC) هو واحد من تتميز
بتكاثر وحيد النسيلة من الخلايا النخاعية. يتجلى ذلك من خلال زيادة كبيرة في الكريات البيضاء مع زيادة
مرور الخلايا المفصصة النواة غير الناضجة إلى الدم 20%. في الجزائر ابيضاض الدم المزمن
يمثل 250 حالة جديدة في كل عام (0.4 100000). متوسط العمر عند التشخيص
هو 44 . حاليا يتم إجراء التشخيص أثناء الفحص الروتيني. تعداد التحليل الدموي يبرز تزايد في
كريات الدم البيضاء مرور الخلايا المفصصة النواة غير الناضجة إلى الدم،
تشخيص ابيضاض الدم المزمن يتطلب التعرف على الصبغي فيلاديلفيا ph1)
95 % (ترتيب الجزيء BCR-ABL نتيجة مباشرة
المتبادل بين الصبغيات (9;22)(q34;q11).

بداية حاولنا التعرف على الخصائص الوبائية السريرية والبيولوجية للمرضى المصابين
بابيضاض الدم المزمن في مدينة قسنطينة. بعد ذلك بدأنا في تطبيق تقنيات التحليل الوراثي
الخلوي الكلاسيكي على عينة من المرضى المعنيين على مستوى الهياكل الصحية في المنطقة وهذا من
جل جلب بعض عناصر الإجابة عن التشخيص والمتابعة الجزيئية .
تم تحسين ابيضاض الدم
التيروزين كينا من بينهم والأكثر أهمية يمانتينيب،
تشخيصهم حاليا لديهم الحياة مقارب لـ . يمكن التحكم في هذه الفعالية العلاجية بشكل
منتظم بفضل المراقبة الجزيئية استنادًا إلى تقدير الكميات من *mRNAs BCR-ABL1*
RT-PCR في الوقت الحقيقي وعن طريق البحث عن طفرات في مجال كيناز BCR-ABL
بالمزيد من المقاومة أو أقل فعالية المستهدفة، يمكن أن يجبرنا تغيير في
مثبطات التيروزين كيناز.

إن تطبيق هذه وخاصة علم الوراثة الخلوية والبيولوجيا الجزيئية، في الجزائر يمكن أن ت
بشكل كبير في نوعية مدة حياة المرضى.

المفتاحية: الخبيثة في الدم التحليل الخلوي الوراثي

Année universitaire : 2017-2018

**Présenté par : DEMBRI Moncef,
DREBIN Nesrine,
MERABET Abdelkader.**

Analyse cytogénétique des leucémies myéloïdes chroniques (LMC) dans la région de Constantine.

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Génétique

La leucémie myéloïde chronique (LMC), fait partie des syndromes myéloprolifératifs, caractérisée par une prolifération monoclonale des cellules myéloïdes. Elle se manifeste par une splénomégalie et une hyperleucocytose massive avec une myélémie supérieure à 20%. En Algérie, la LMC représente 250 nouveaux cas par an (environ 0,4 cas pour 100 000 habitants). L'âge médian au diagnostic est de 44 ans. De nos jours, ce diagnostic se fait fréquemment au cours d'un examen de routine. La numération formulesanguine met alors en évidence une hyperleucocytose à polynucléaires neutrophiles, une myélémie, ainsi qu'une basophilie. Le diagnostic de la LMC nécessite la mise en évidence du chromosome Philadelphie ou Ph1 (observé dans plus de 95 % des cas) et du réarrangement moléculaire *BCR-ABL1*, conséquence directe de la translocation (9;22) (q34;q11).

Dans notre travail de recherche, dans un premier temps, nous avons essayé de dégager les caractéristiques épidémiologiques, cliniques et biologiques des malades atteints de LMC dans la région de Constantine. Par la suite, nous avons procédé à l'application des techniques de cytogénétique classique sur un échantillon de ces patients, recrutés au niveau des différentes structures de santé de la région, et ce pour permettre d'apporter quelques éléments de réponse quant au diagnostic et au suivi moléculaire de cette hémopathie.

La prise en charge des LMC a été exceptionnellement améliorée grâce à l'utilisation d'inhibiteurs de tyrosine kinase dont le chef de file est l'imatinib. En effet, dans les pays développés, la plupart des patients diagnostiqués aujourd'hui ont une espérance de vie voisine de celle de la population générale. Cette efficacité thérapeutique peut être régulièrement contrôlée grâce à un suivi moléculaire adapté, basé sur la quantification des ARNm *BCR-ABL1* par RT-PCR en temps réel et par la recherche des mutations du domaine kinase de BCR-ABL à l'origine de résistances plus ou moins sévères à la thérapie ciblée, ce qui permet d'envisager, si nécessaire, un changement d'ITK. La mise en place de ces procédés, essentiellement de cytogénétique et de biologie moléculaire, en Algérie pourrait grandement améliorer la survie de nos patients.

Mots-clefs : Hémopathies malignes, LMC, Cytogénétique

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

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

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

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