

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Animale

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم بيولوجيا حيوان

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie Animale

Spécialité : Génétique Moléculaire

N° d'ordre :
N° de série :

Intitulé:

***LEUCEMIE MYELOIDE CHRONIQUE
ET BIOLOGIE MOLECULAIRE***

Présenté et soutenu par :

HANNACHI Maya Haoua

NAFIR Bouchra

BAOUTA Kaouther

Jury d'évaluation :

Encadreur : M^f. LATRECHE Fethi (MA.A - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 1 : P^f. SATTI Dalila (Professeur- Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 2 : D^f. SEDRATI Khadidja (MC.A-Université Frères Mentouri, Constantine 1).

***Année universitaire
2021 - 2022***

AVANT PROPOS

Un petit historique s'impose. Le cancer est encore aujourd'hui diagnostiqué par des images. À partir d'une biopsie, on examine une couche très mince au microscope pour se prononcer, parfois avec difficulté. Pendant une centaine d'années, les anatomopathologistes se sont échangé des lames et ont confronté leurs avis, parfois divergents, pour améliorer leur expertise.

On a ainsi construit un corpus de savoirs autour de ces images, mises en relation avec l'évolution clinique de la maladie, soit spontanée soit après un traitement (chirurgie, chimiothérapie, radiothérapie...). Durant ce siècle, des traitements ont été mis au point, assez empiriquement. Par exemple, les cancers du testicule sont guéris par le cisplatine, les cancers du sein par des antihormones.

Cette situation a perduré jusque dans les années 1980 et 1990. À cette époque, on a commencé à découvrir les anomalies génétiques à l'origine de certains cancers. Ce fut d'abord le cas pour les leucémies, simples, car elles résultent assez souvent de quelques anomalies, comme d'une translocation : deux chromosomes se cassent et se recollent de façon anormale. Plusieurs leucémies ont ainsi été associées à de telles translocations récurrentes et on a pu alors assez facilement caractériser les gènes impliqués.

On distingue deux types de leucémies selon la catégorie de cellules sanguines atteintes. Les leucémies lymphoïdes concernent les lymphocytes, les leucémies myéloïdes toutes les autres cellules sanguines. Ces leucémies n'ont pas les mêmes âges de survenue, les mêmes pronostics, les mêmes marqueurs de surface...

Schématiquement, dans certaines leucémies lymphoïdes, les translocations provoquent l'augmentation de l'expression de certains gènes maîtres de la prolifération. Les cassures chromosomiques juxtaposent des séquences d'ADN régulatrices à des gènes maîtres dont elles amplifient l'expression, un peu comme un variateur de son pour un morceau de musique.

Dans les leucémies myéloïdes, on retrouve plutôt des gènes dits de fusion, issus de deux fragments de gènes différents et raboutés pour n'en former qu'un seul, après le remaniement des chromosomes. Souvent, au moins l'un des deux gènes initiaux est très important dans le contrôle de la différenciation des cellules sanguines qui est *de facto* perturbée.

Ainsi, à partir des années 1990, la cancérologie passe d'une culture de l'image, fondée sur la morphologie cellulaire et riche d'un langage parfois très fleuri à une autre dont l'assise est génétique. Et l'espoir est grand ! Forts des modèles relativement simples des leucémies, dont la première utilité a été de fournir une classification, on imagine que l'on va rapidement tout comprendre et peut-être tout guérir.

Cet espoir n'a-t-il pas aussi été renforcé par la découverte des oncovirus ?

En effet, un certain nombre de cancers sont liés à des virus. Si l'on sait rarement se débarrasser de ces microorganismes, on peut au moins limiter le risque de contamination, voire s'en prémunir par un vaccin. Les cancers du foie (liés à l'hépatite B) et du col de l'utérus (liés au papillomavirus) sont les deux modèles pour lesquels on dispose de vaccins efficaces.

L'oncologie virale a été extrêmement importante historiquement, les virus ayant été découverts avant les gènes. D'ailleurs, certains virus ont permis de découvrir des gènes du cancer. Dans les années 1950, des biologistes étaient persuadés que le cancer était une maladie exclusivement virale. Les virus du cancer ont été traqués pendant trente ans, ce qui fut une des difficultés de la recherche sur les cancers ! On en a trouvé, indiscutablement, mais les cancers d'origine virale néanmoins restent rares.

Reprenons notre histoire. Les espoirs que j'évoquais ont rapidement dû être tempérés, car les leucémies ne sont pas représentatives de tous les cancers. Elles résultent souvent de quelques (1, 2 ou 3) anomalies génétiques.....

Hugues de Thé

REMERCIEMENTS

Au terme de notre Master, nous nous faisons l'agréable devoir de présenter nos remerciements les plus chaleureux et les plus vifs à Mr LATRECHE F pour son entière disponibilité, son aide, ses orientations, ses précieux conseils, sa patience et surtout sa confiance. Nous lui sommes reconnaissantes aussi d'avoir suscité en nous la passion du devoir accompli. Nous tenons à remercier également Mme SATTI D en nous faisant l'honneur de présider le jury d'évaluation de ce mémoire. C'est aussi avec plaisir, que nous exprimons nos remerciements à Mme SEDRATI K, qui a bien voulu examiner notre travail.

DEDICACES

Je dédie ce travail,

A ma chère maman *Abla* qui m'a doté d'une éducation digne, pour tous ses sacrifices, son amour, sa tendresse et ses prières tout au long de mes études.

A mon support dans ma vie, mon cher père *Nasser* qui nous a quitté trop tôt, ce 21 décembre 2021, Allah yarahmou, il m'a beaucoup appris, m'a supporté et m'a dirigé vers la gloire,.

A mes chères amies *Bouchra et Amina* pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral et à qui je souhaite plus de succès.

A ma chère sœur *Mélissa* pour son appui, son amour et ses encouragements
A toute ma famille pour leur soutien et plus particulièrement à ma tante *Nora* qui m'a arrosé de tendresse et d'espoirs.

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infallible.

Merci d'être toujours là pour moi.

Maya Haoua

Je dédie ce travail:

A mes chers parents *Dounia et Rabah* pour leur soutien leurs sacrifices leurs encouragements et leur confiance.

A mon frère *Wail* et mes sœurs *Amani et Rahma*.

A mes grands parents *Fatima et Smail*, ainsi qu'à toute ma famille.

A toutes mes amies surtout *Haoua Hannachi* que j'adore et à sa petite famille.

Bouchra

Je dédie ce modeste travail accompagné d'un profond amour :

A mes très chers parents, source de soutien, d'amour et d'affection,

A mon mari et mon fils, source de bonheur, d'espoir et de motivation,

A mes chers frères et sœurs et leurs enfants, source de joie,

A tous mes amis, tout particulièrement *Soria*,

A mon encadreur et mon trinôme qui m'a beaucoup aidée,

A vous cher lecteur.

Kaouther

TABLE DE MATIERES

	Page
<i>AVANT PROPOS</i>	I
<i>REMERCIEMENTS</i>	III
<i>DEDICACES</i>	IV
TABLE DE MATIERES	V
RESUMES	IX
LISTE DES TABLEAUX	XII
LISTE DES FIGURES	XIII
LISTE DES ANNEXES	XIV
LISTE DES ABREVIATIONS	XV
INTRODUCTION	1
PARTIE I. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	
CHAPITRE 1. GENERALITES SUR LA LMC	4
1.1. RAPPELS	4
1.1.1. La lignée lymphoïde	4
1.1.2. La leucémie, un cancer	4
1.1.3. La leucémie myéloïde chronique (LMC)	5
1.2. EPIDEMIOLOGIE	9
1.3. HISTORIQUE	10
1.4. ETIOLOGIE	11
1.5. ASPECTS CLINIQUES	11
1.6. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE	13
1.6.1. Diagnostic clinique	13

1.6.2. Diagnostic cyto-génétique	14
1.6.2.1. Hémogramme	14
1.6.2.2. Myélogramme	14
1.6.2.3. Caryotype	15
1.6.2.4. Technique FISH (Hybridation in situ en fluorescence)	16
CHAPITRE 2. LMC ET BIOLOGIE MOLECULAIRE.....	18
2.1. PHYSIOPATHOLOGIE MOLECULAIRE	18
2.1.1. Le chromosome Philadelphie	18
2.1.2. Le gène <i>ABL</i>	18
2.1.3. Le gène <i>BCR</i>	19
2.1.4. Le gène de fusion <i>BCR-ABL</i>	20
2.2. DIAGNOSTIC MOLECULAIRE.....	22
2.2.1. Le Southern-blot	22
2.2.2. RT-PCR (Polymerase Chain Reaction) en temps réel ou quantitative.....	23
CHAPITRE III. LMC ET TRAITEMENT.....	23
3.1. SCORE PRONOSTIQUE	27
3.1.1. Score de Sokal	27
3.1.2. Score de Sokal modifié	28
3.1.3. Score de Hasford	28
3.1.4. Score ELTS	29
3.2. HISTORIQUE DU TRAITEMENT	29
3.3. LES INHIBITEURS DE LA TYROSINE KINASE.....	30
3.3.1. Imatinib (Gleevec®)	31
3.3.2. Dasatinib (Sprycel®)	31
3.3.3. Nilotinib (Tasigna®).....	31

3.3.4. Bosutinib (Bosulif®)	31
3.3.5. Ponatinib (Iclusig®)	32
3.4. REPONSE AU TRAITEMENT	33
3.4.1. Réponse hématologique	33
3.4.2. Réponse cytogénétique	33
3.4.3. Réponse moléculaire	34
3.5. ROLE DE L'INSTABILITE GENETIQUE DANS LA RESISTANCE AUX ITK	34
PARTIE II. METHODOLOGIE	37
PARTIE III. RESULTATS	39
1. CARACTERISTIQUES EPIDEMIOLOGIQUES	39
1.1. LMC et incidence	39
1.2. LMC et sexe	41
1.3. LMC et âge	42
1.4. LMC et caractéristiques biologiques	44
1.5. LMC et caractéristiques cliniques	45
1.6. LMC et évolution	46
1.7. LMC et score pronostic	48
2. APPORT DE LA BIOLOGIE MOLECULAIRE	50
2.1. Dans le diagnostic de la LMC	50
2.1.1. Recherche du transcrit BCR-ABL1 par RT-PCR	50
2.1.2. Résultats de la RT-PCR dans la recherche du type de transcrit BCR-ABL1 ...	51
2.2. Dans le suivi de la maladie	52

2.3. Recherche de mutations	57
DISCUSSION	58
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	66
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	68
ANNEXES	71

Résumé

La leucémie myéloïde chronique (LMC) est une hémopathie clonale acquise de la cellule souche, faisant partie des néoplasies myéloprolifératives. Elle est caractérisée par la translocation $t(9;22)(q34;q11.2)$ qui résulte en la formation du chromosome de Philadelphie et du réarrangement *BCR-ABL*. Dans de rares cas, la $t(9;22)(q34;q11.2)$ peut être cryptique et n'est donc pas détectable par cytogénétique conventionnelle. Le réarrangement *BCR-ABL* se détecte de préférence par biologie moléculaire. Cependant, en présence d'une variante complexe de la translocation de Philadelphie, le réarrangement *BCR-ABL* peut ne pas être détectable par biologie moléculaire. Dans ce cas, une analyse par FISH est recommandée. La leucémie myéloïde chronique est un modèle de cancérogenèse. Son pronostic a été exceptionnellement amélioré grâce aux inhibiteurs de tyrosine kinase ou ITK (imatinib, dasatinib, nilotinib, bosutinib, ponatinib). Le suivi moléculaire, basé sur la quantification des ARNm *BCR-ABL* par RQ-PCR et l'analyse mutationnelle du domaine tyrosine kinase d'ABL, facilite la vérification de l'efficacité thérapeutique. L'étude cytogénétique (caryotype, FISH) et la biologie moléculaire (RT-PCR) sont actuellement des examens clés pour le diagnostic et le suivi thérapeutique. Malgré l'importance de la leucémie myéloïde chronique et sa gravité, cette pathologie reste peu documentée en Algérie. Notre travail se résume en une étude bibliographique ayant pour objectifs la mise en évidence des caractéristiques épidémiologiques, cliniques, hématologiques, cytogénétiques et moléculaires de la leucémie myéloïde chronique. Comme nous n'avons pas effectué d'étude pratique, nous avons présenté des résultats émanant d'études algériennes qui ont été ensuite discutés en fonction des données de la littérature.

Mots clés : Leucémie myéloïde chronique ; Chromosome Philadelphie ; ITK ; Gène *BCR* ; Gène *ABL* ; Biologie moléculaire.

ملخص

سرطان الدم النخاعي المزمن هو مرض دم نسيلى مكتسب من الخلايا الجذعية ، ينتمى إلى الأورام التكاثرية النخاعية. يتميز بازفاء في الصبغيات (9 t ؛ 22) (q34 ؛ q11.2) مما يؤدي إلى تكوين كروموسوم فيلادلفيا وإعادة ترتيب BCR-ABL. في حالات نادرة ، قد يكون (9 t ؛ 22) (q34 ؛ q11.2) خفياً وبالتالي لا يمكن اكتشافه بواسطة علم الوراثة الخلوي التقليدي. يُفضل اكتشاف إعادة ترتيب BCR-ABL بواسطة البيولوجيا الجزيئية. ومع ذلك ، في ظل وجود متغير معقد من الانتقال في كروموسوم فيلادلفيا ، قد لا يمكن اكتشاف إعادة ترتيب BCR-ABL بواسطة البيولوجيا الجزيئية. في هذه الحالة ، يجرى تحليل FISH. إن سرطان الدم النخاعي المزمن يعتبر نموذج للسرطان. تم تحسين تشخيصه بشكل استثنائي بفضل مثبطات التيروسين كيناز أو ITK (imatinib ، dasatinib ، bosutinib ، nilotinib ، ponatinib). إن المراقبة الجزيئية ، بناءً على التقدير الكمي لـ BCR-ABL mRNAs بواسطة RQ-PCR والتحليل الطيفي لمجال التيروسين كيناز ، تسهل التحقق من الفعالية العلاجية. تعد الدراسة الوراثة الخلوية (النمط النووي ، FISH) والبيولوجيا الجزيئية (RT-PCR) حالياً من الاختبارات الرئيسية للتشخيص والمراقبة العلاجية. على الرغم من أهمية سرطان الدم النخاعي المزمن وشدته ، إلا أن هذا المرض لا يزال ضعيف التوثيق في الجزائر. يمكن تلخيص عملنا في دراسة ببيوغرافية بهدف تسليط الضوء على الخصائص الوبائية والسريية والدموية والخلوية والجزيئية لسرطان الدم النخاعي المزمن. بما أننا لم نجري دراسة عملية ، فقد قدمنا نتائج لدراسات جزائرية التي تمت مناقشتها بعد ذلك بناءً على مراجع ببيوغرافية.

الكلمات المفتاحية: سرطان الدم النخاعي المزمن؛ كروموسوم فيلادلفيا ؛ ITK ؛ جين BCR ؛ جين ABL ؛ البيولوجيا الجزيئية.

LISTE DES TABLEAUX

	Page
Tableau 1. Phases de la maladie.....	12
Tableau 2. Récapitulatif de la symptomatologie clinique de la LMC.....	13
Tableau 3. Définition des critères de réponse au traitement.....	35
Tableau 4. Taux d'incidence de la LMC de 1994 à 2009.....	39
Tableau 5. Taux d'incidence de la LMC de 2010 à 2014.....	40
Tableau 6. Répartition des cas de LMC selon le sexe.....	41
Tableau 7. Répartition des cas de LMC selon la tranche d'âge.....	43
Tableau 8. Répartition des cas de LMC selon les caractéristiques biologiques.....	45
Tableau 9. Répartition des cas de LMC selon les caractéristiques cliniques.....	46
Tableau 10. Répartition des cas de LMC selon les phases de la maladie au diagnostic.....	47
Tableau 11. Répartition des cas de LMC selon la classification de Sokal.....	48
Tableau 12. Résultats de la RT-PCR dans Le diagnostic de la LMC.....	50
Tableau 13. Type de transcrit BCR-ABL1.....	51
Tableau 14. Fréquence et type de réponse moléculaire chez 17 patients dont le transcrit BCR-ABL1 a été identifié.....	53
Tableau 15. Fréquence et type de réponse moléculaire chez 15 patients dont le transcrit BCR-ABL1 n'a pas été identifié.....	54
Tableau 16. Fréquence et type de réponse moléculaire durant les 24 mois du traitement chez 72 nouveaux patients.....	56
Tableau 17. Type de mutation.....	57

LISTE DES FIGURES

	Page
Figure 1. Schéma de la production des cellules sanguines.....	7
Figure 2. Schéma de la formation du chromosome Philadelphie.....	8
Figure 3. Myélogramme montrant une hyperplasie granuleuse.....	15
Figure 4 Présentation du chromosome Philadelphie sur le Caryotype à la phase chronique de la LCM.....	16
Figure 5. Gène de fusion BCR-ABL1 détecté par FISH.....	17
Figure 6. Le gène <i>ABL</i>	19
Figure 7. Le gène <i>BCR</i>	20
Figure 8. Différents gènes de fusion <i>BCR-ABL1</i> et leurs protéines résultantes.....	21
Figure 9. Détection des transcrits par RT-PCR.....	26
Figure 10. Schéma thérapeutique pratique d'un nouveau cas de leucémie myéloïde chronique (LMC) diagnostiquée en phase chronique.....	32
Figure 11. Taux d'incidence de la LMC de 1994 à 2009.....	40
Figure 12. Taux d'incidence de la LMC de 2010 à 2014.....	41
Figure 13. Répartition des cas de LMC selon le sexe.....	42
Figure 14. Répartition des cas de LMC selon la tranche d'âge (étude 1).....	43
Figure 15. Répartition des cas de LMC selon la tranche d'âge (étude 2).....	44
Figure 16. Répartition des cas de LMC selon les phases de la maladie au diagnostic.....	47
Figure 17. Répartition des cas de LMC selon la classification de Sokal.....	49
Figure 18. Type de transcrit BCR-ABL1.....	52

LISTE DES ANNEXES

	Page
Annexe 1. Hematopoiese.....	69
Annexe 2. Classification des hémopathies malignes.....	70
Annexe 3. Les mutations du domaine kinase de <i>BCR-ABL</i>	71

LISTE DES ABREVIATIONS

<i>ABL</i> :	Décrit par Abelson
<i>ACA</i> :	Anomalies cytogénétiques additionnelles
<i>ADN</i> :	Acide désoxyribonucléique
<i>ADNc</i> :	ADN complémentaire
<i>ARN</i> :	Acide ribonucléique
<i>ARNm</i> :	ARN messenger
<i>ATP</i> :	Adénosine triphosphate
<i>BCR</i> :	Break point cluster region
<i>BCR-ABL</i> :	Gène de fusion
<i>B</i> :	Lymphocyte B
<i>CCyR</i> :	Réponse cytogénétique complète
<i>CHR</i> :	Réponse hématologique complète
<i>CMR</i> :	Réponse moléculaire dite complète
<i>CSL</i> :	Cellules souches leucémiques
<i>FISH</i> :	Hybridation in situ en fluorescence
<i>ETOS</i> :	European Treatment and Outcome Study for chronic myeloid leukemia
<i>IFNα</i> :	Interféron α
<i>IM</i> :	Imatinab
<i>ITK</i> :	Inhibiteur de la tyrosine kinase
<i>KD</i> :	Kilo dalton
<i>KB</i> :	Kilobase
<i>LMC</i> :	Leucémie myéloïde chronique
<i>MDR</i> :	Multidrug-resistance
<i>M-bcr</i> :	Major breakpoint cluster region
<i>m-bcr</i> :	Minor breakpoint cluster
<i>NK</i> :	Natural killer
<i>PCR</i> :	Polymerase Chain Reaction
<i>Ph</i> :	Chromosome Philadelphie

RT-QPCR :	<i>Retrotranscription quantitative real time polymerase chain reaction</i>
RT-PCR :	Reverse Transcriptase- Polymerase Chain Reaction
RCC :	Rémission cytogénétique complète
RM :	Réponse moléculaire
RMC :	Réponse moléculaire complète
RMM :	Réponse moléculaire majeure
RMP :	Réponse moléculaire profonde
T :	Lymphocyte T
TK:	Tyrosine kinase
Mbc :	Micro breakpoint cluster

INTRODUCTION

La leucémie myéloïde chronique (LMC), syndrome myéloprolifératif rare représentant 2 à 5 % des leucémies de l'enfant et 15 % des leucémies de l'adulte, est une hémopathie maligne appartenant au groupe des syndromes myéloprolifératifs (SMP) ou néoplasies myéloprolifératives selon la classification OMS 2008 et son actualisation de 2016 **(3, 64)**

La LMC constitue un des modèles d'étude privilégiés de la leucémogénèse car les cellules tumorales sont caractérisées par un échange de matériel chromosomique : la translocation t(9;22), qui entraîne la formation d'un chromosome 22 anormal, dénommé chromosome Philadelphie (Ph). La translocation conduit à la formation du gène de fusion BCR-ABL. Des expériences in vitro et in vivo ont démontré que la protéine Bcr-Abl, par son activité tyrosine kinase dérégulée, était responsable de la maladie **(74)**.

La protéine chimérique, codée par le transcrit de fusion BCR-ABL issu de ce réarrangement, a une activité tyrosine kinase constitutivement dérégulée et est directement responsable de la transformation leucémique.

En l'absence de traitement, la LMC évolue en 3 à 5 ans vers une leucémie aiguë rapidement mortelle. Les traitements tels que l'hydroxyurée ou le busulfan ne modifient que très peu la survie des patients. L'allogreffe de moelle osseuse permet de guérir les malades mais ne peut être proposée qu'à un nombre limité de patients. L'interféron alpha (INF- α) a amélioré la survie des patients répondeurs mais ces derniers sont peu nombreux et les effets secondaires ont rendu son utilisation limitée. Aujourd'hui, l'imatinib mésylate, premier inhibiteur de tyrosine kinase spécifique de la protéine Bcr-Abl, est devenu le traitement de première intention de cette hémopathie, faisant de la LMC un exemple d'hémopathie à thérapeutique ciblée. Des résultats à long terme de ce nouveau médicament découleront l'attitude du clinicien vis-à-vis de la greffe allogénique de moelle osseuse qui est, jusqu'à aujourd'hui, considérée comme le seul traitement curatif **(25, 34)**

Le diagnostic de LMC bien qu'il soit toujours évoqué sur les arguments cliniques (âge ; splénomégalie) et hématimétriques (hyperleucocytose et myélémie), nécessite actuellement d'être confirmé, soit par la recherche du chromosome Ph en cytogénétique, qui

permet en outre de détecter les anomalies chromosomiques additionnelles (ACA) ou par méthode FISH qui permet en plus de détecter les cas de Ph masqué et les délétions d'ABL, soit par biologie moléculaire par RT-PCR qualitative méthode permettant de détecter avec certitude le transcrit de fusion bcr/abl. En effet il existe de rares cas de LMC dite atypique ne possédant pas le Ph. Par ailleurs il constitue la donnée biologique indispensable à la surveillance de la réponse au traitement par les ITK, qui se fait sur la réponse cytogénétique pouvant être évaluée sur le caryotype conventionnel ou la FISH et la réponse moléculaire nécessitant la RT-PCR en temps réel, paramètre le plus précis d'appréciation de la maladie résiduelle.

En Algérie, l'incidence de la LMC était plus faible où elle a été évaluée à 0,40/100.000 ha en 2004 (23) les premières allogreffes ont été faites en 1998. Ainsi entre 1998 et 2005 les patients ne pouvant être allogreffés n'ont été traités que par l'hydroxyurée. Ce n'est qu'à partir de 2005 que les premiers patients ne possédant pas de donneur HLA compatible ou trop âgés pour être greffés ont été mis sous imatinib. A partir de 2007, après avoir validé cette molécule pour son efficacité et sa tolérance, l'indication en 1ère intention de l'allogreffe dans la LMC en première phase chronique a été abandonnée. Actuellement, les modalités de la prise en charge du traitement, de la LMC dans notre pays dépendent essentiellement des moyens diagnostics et de suivi.

L'étude cytogénétique (caryotype, FISH) et la biologie moléculaire (RT-PCR) sont actuellement des examens clés pour le diagnostic et le suivi thérapeutique (23).

Malgré l'importance de la leucémie myéloïde chronique et sa gravité, cette pathologie reste peu documentée en Algérie.

Notre travail se résume en une étude bibliographique ayant pour objectifs la mise en évidence des caractéristiques épidémiologiques, cliniques, hématologiques et cytogénétiques de la leucémie myéloïde chronique.

Comme nous n'avons pas effectué d'étude pratique, nous avons présenté des résultats émanant d'études algériennes qui ont été ensuite discutés en fonction des données de la littérature.

Nous avons trouvé intéressant de présenter en un premier temps les caractéristiques épidémiologiques de la LMC telles que l'incidence, le sexe, l'âge, les caractéristiques biologiques et cliniques, les phases de la LMC et le score pronostic, en nous basant sur des résultats émanant d'études algériennes effectuées sur des périodes différentes englobant des approches épidémiologiques.

Dans un deuxième volet, nous avons présenté l'apport de la biologie moléculaire dans le diagnostic et le suivi de la LMC en prenant en compte les résultats émanant d'études algériennes.

PARTIE I.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1.

GENERALITES SUR LA LMC

1.1. RAPPELS

1.1.1. La lignée lymphoïde

La moelle osseuse est le siège de la production des cellules sanguines à l'origine des différentes lignées cellulaires. Deux lignées sont à l'origine des futures cellules sanguines : les cellules myéloïdes et les cellules lymphoïdes.

La lignée myéloïde donnera :

- les plaquettes qui contribuent au processus de coagulation du sang,
- les globules rouges qui transportent l'oxygène,
- deux types de globules blancs : les granulocytes (ou polynucléaires) et les monocytes qui jouent un rôle dans le système immunitaire en luttant contre les infections.

La lignée lymphoïde, quant à elle, donnera un autre type de globules blancs : les lymphocytes qui jouent un rôle dans le processus du système immunitaire (figure 1, annexe 1).

1.1.2. La leucémie, un cancer

Un cancer apparaît lorsque certaines cellules échappent au cycle de régulation de l'organisme, se multiplient anormalement et prolifèrent de manière anarchique, incontrôlable et au détriment des autres cellules. L'ensemble des cellules du corps peut être concerné par ce dérèglement et les cellules peuvent devenir cancéreuses. Les cellules du sang peuvent donc être concernées et donner genèse à des cancers du sang de type leucémie ou lymphome.

La leucémie est un type de cancer du sang. Il existe différentes formes de leucémie en fonction du type de cellules sanguines touchées (annexe 2).

Le terme « myéloïde » se rapporte à la moelle osseuse, c'est-à-dire le tissu contenu dans les os où sont produites toutes les cellules du sang et indique que la maladie prend son origine dans les cellules myéloïdes, qui sont des cellules immatures évoluant normalement en globules rouges, globules blancs ou plaquettes **(1)**.

Le terme « chronique » signifie que la maladie s'installe progressivement et qu'elle évolue lentement dans un premier temps.

1.1.3. La leucémie myéloïde chronique (LMC)

La LMC fait partie des maladies du sang regroupées sous le nom de « syndromes myéloprolifératifs » (67).

Dans la leucémie myéloïde chronique, la moelle osseuse produit beaucoup trop de cellules sanguines myéloïdes à différents stades de maturation, comprenant notamment des cellules connues sous le nom de granulocytes, de métamyélocytes et de myéloblastes immatures. Les plaquettes et les basophiles (différentes cellules myéloïdes responsables, en partie, des réponses allergiques) sont souvent également en excès lors du diagnostic. La production excessive de cellules sanguines myéloïdes dans la moelle osseuse empêche la production normale de globules rouges, dont le rôle dans le transport de l'oxygène à destination des cellules de l'organisme est essentiel. Cette surproduction peut aussi réduire le nombre de plaquettes (thrombocytopenie). Or, les plaquettes sanguines jouent un rôle crucial en cas de saignement (68).

Le diagnostic de leucémie myéloïde chronique est établi à la suite d'un examen de routine ou sur la base de symptômes tels qu'un manque de tonus ou une fatigue créée par l'anémie, la survenue de saignements, des douleurs ou une gêne abdominale, et plus rarement suite à l'apparition d'ecchymoses, du fait de l'insuffisance en plaquettes. L'augmentation de taille de la rate, connue sous le nom de splénomégalie, provoque une gêne dans l'abdomen et dans la poitrine sur le côté gauche, une sensation de satiété précoce lors des repas et une gêne intestinale. Les autres symptômes possibles incluent une fièvre, un essoufflement et des douleurs osseuses. Lors du diagnostic, la plupart des patients présentent une numération leucocytaire (nombre de globules blancs circulant dans le sang) supérieure à la normale (68).

La maladie est liée à l'apparition d'une anomalie liée à la fusion de deux chromosomes des cellules souches de la moelle osseuse, provoquant l'apparition d'un petit chromosome anormal, le chromosome Philadelphie (figure 2). Cette anomalie résulte de l'assemblage par erreur d'un gène du chromosome 9, dénommée *ABL*, avec un gène du chromosome 22,

nommé *BCR*. Cela produit le gène dit *BCR-ABL* qui est présent uniquement dans les cellules de la maladie. Ce gène produit anormalement une enzyme, la tyrosine kinase, elle même responsable de la production accrue des globules blancs.

La LMC est un syndrome myéloprolifératif représentant 15 à 20% des leucémies chez l'adulte. L'incidence de la maladie est de 1/100000 en France et dans la plupart des pays occidentaux. L'âge médian des patients au diagnostic est de 55 ans avec une incidence légèrement plus élevée chez les hommes **(40)**.

L'histoire naturelle de la maladie comporte trois phases de manière constante, une phase chronique de 3 à 5 ans qui évolue vers une phase dite « accélérée », où la différenciation cellulaire est progressivement altérée, pour aboutir à une phase de leucémie aigüe « phase blastique » de mauvais pronostic, même à l'ère des thérapies ciblées. Cette dernière se caractérise par un arrêt de la différenciation et une accumulation de blastes dans la moelle osseuse et le sang périphérique. Actuellement dans la majorité des cas, le diagnostic est fait de manière fortuite à l'occasion d'un bilan de santé systématique. Dans d'autres cas, la maladie est découverte devant une fatigue ou des douleurs abdominales révélant une splénomégalie. L'étiologie de la maladie est inconnue et les seules conditions qui ont pu être identifiées sont l'exposition aux rayonnements ionisants ; comme la survenue de LMC chez les survivants des bombes atomiques à Nagasaki et Hiroshima en 1945 **(39)**.

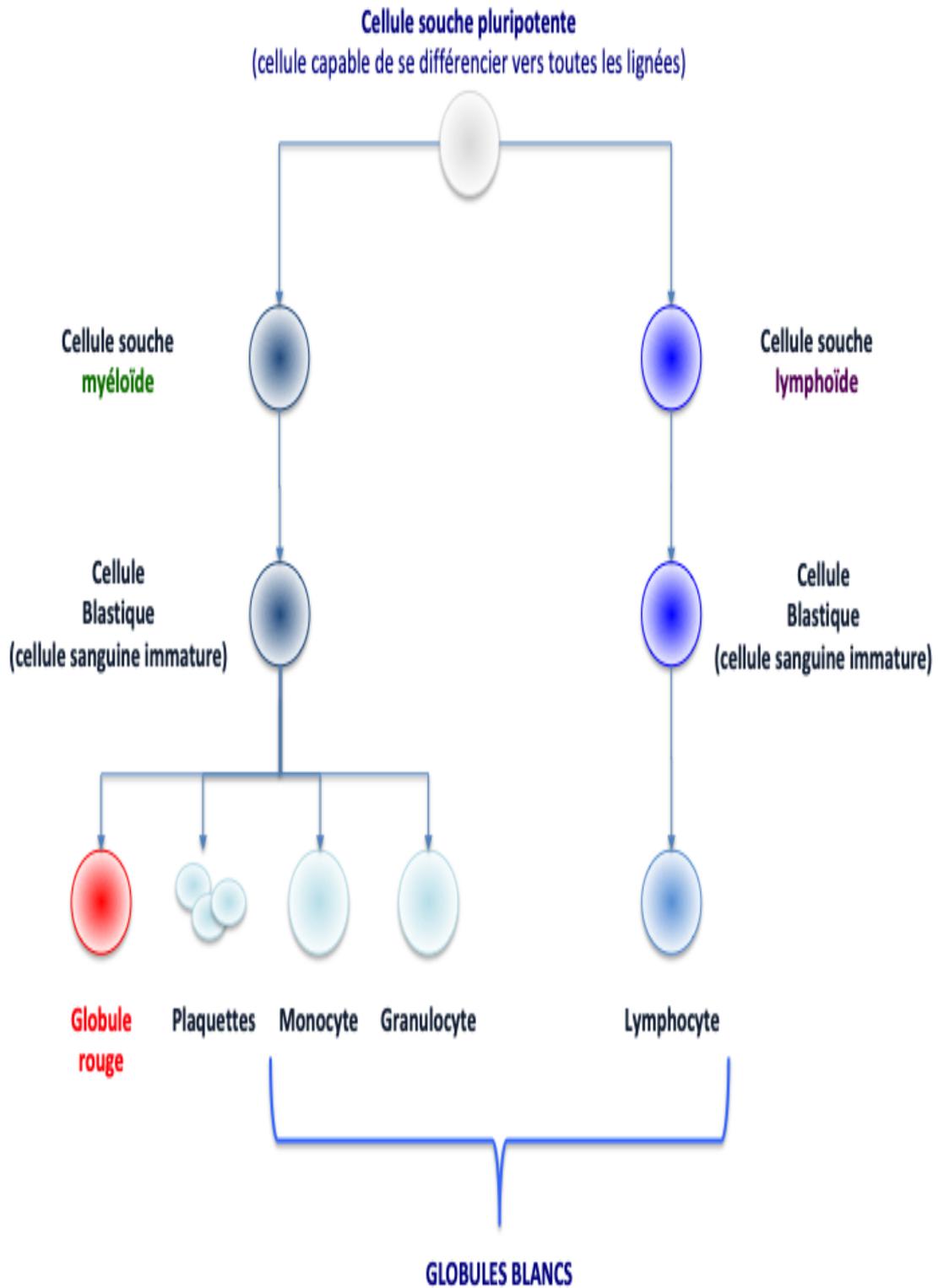


Figure 1. Schéma de la production des cellules sanguines (70)

Actuellement, la mortalité liée à la maladie a très fortement diminué depuis l'introduction en clinique des inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK), cela expliquant l'augmentation de la prévalence liée à la population sous traitement et les nouveaux cas diagnostiqués tous les ans. Malgré le succès des thérapies, 25 à 30% des patients ne tolèrent pas les ITK en première ligne, ce qui nécessite des changements thérapeutiques. Les greffes de moelle osseuse ne sont plus pratiquées en première ligne et leur utilisation est réservée à des cas de LMC résistants aux thérapies multiples (60).

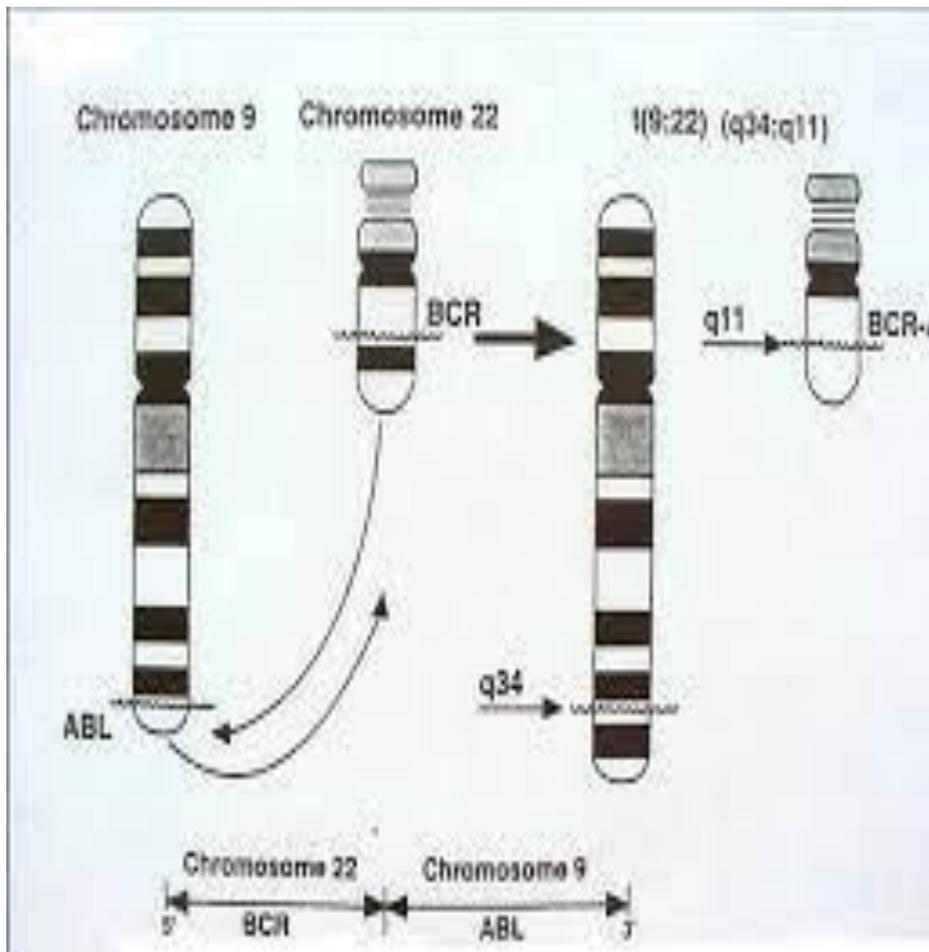


Figure 2. Schéma de la formation du chromosome Philadelphie (60)

1.2. EPIDEMIOLOGIE

La LMC représente 15% des leucémies de l'adulte, avec une incidence évaluée entre 10 et 15 cas/million/an, sans aucune restriction géographique majeure ou différence ethnique. En France, en 2012, 807 nouveaux cas de LMC ont été recensés, soit une incidence estimée entre 0,6 et 1 pour 100 000 habitants **(34)**.

Cette pathologie touche préférentiellement les hommes avec un sexe ratio compris entre 1,3 et 1,8 **(7)**. L'âge médian au diagnostic se situe entre 60 et 65 ans en Europe, mais est plus faible dans les pays où la population est plus jeune **(56)**. Plus précisément, en France, selon le recueil de données de l'institut de veille sanitaire, l'âge médian de survenue de cette pathologie chez l'homme est de 62 ans et de 64 ans chez la femme.

La prévalence de la LMC est en hausse constante en raison de l'allongement de la durée de survie obtenu grâce à un traitement ciblé. Chez l'enfant et l'adolescent, La LMC représente 2 à 3 % des leucémies pédiatriques avec une incidence évaluée entre 0,6 et 1,2 par million d'enfants par an. Son incidence augmente avec l'âge : elle est extrêmement rare dans la petite enfance (incidence de 0,7/million d'enfants/an) pour les enfants âgés de 1 à 14 ans mais plus fréquente chez les adolescents (incidence de 1,2/million d'enfants/an) pour représenter 9 % des hémopathies malignes chez l'adolescent **(22)**. L'âge médian au diagnostic est évalué à 11 ans dans les diverses études de cette population. En 2017, une étude rétrospective sur 10 ans portant sur le diagnostic de LMC dans la population pédiatrique française (113 cas) confirmait cet âge médian au diagnostic à 11,6 ans ainsi qu'une prévalence plus élevée de la maladie chez les patients de plus de 10 ans qui représente en moyenne 70 % de la population pédiatrique atteinte de LMC **(70)**. On remarque une augmentation de l'incidence chez les patients masculins, comme dans la population adulte. Les études établissent un sexe ratio compris entre 1,2 et 1,5 garçon pour 1 fille. Enfin, environ 5 à 10 % des cas de LMC pédiatrique sont diagnostiqués en phase avancée (accélérée et blastique), ce qui représente une proportion plus élevée que chez les adultes pour laquelle on estime à 3 % de phase accélérée et 2 % de phase blastique au diagnostic **(12)**.

1.3. HISTORIQUE

Au XIX^{ème} siècle, le premier cas de leucémie fut décrit en 1827 par le français Alfred Velpeau qui observa chez un patient un agrandissement de la rate et du foie associé à de la fièvre, une faiblesse généralisée, ainsi qu'un sang épais. Plus tard, Alfred Donné décrit le cas d'un patient présentant à l'autopsie une hypertrophie de la rate et dont le sang semblait semi-purulent au microscope. La première description de leucémie fut néanmoins créditée à John Hughes Bennett décrit la leucémie à Édimbourg en 1845 (30).

Ce n'est qu'en 1960 que de la pathogénèse de la maladie débute, Peter C. Nowell fait l'association entre la maladie et la présence d'une anomalie non constitutionnelle récurrente du caryotype en mettant en évidence un chromosome anormalement petit, le chromosome philadelphie qui fut caractérisé par Janet Rowley en 1973. Il s'agissait du chromosome 22 raccourci (22q-) résultant d'un échange réciproque de fragment entre les bras longs des chromosomes 9 et 22 : c'est une translocation t(9;22) (q34;q11) (51).

Groffen *et al* identifient les gènes responsables de cette translocation grâce à la biologie moléculaire, il s'agit du gène ABLI (décrit par Abelson) localisé sur le bras long du chromosome 9 et du gène BCR (break point cluster region) représentant la zone de cassure sur le chromosome 22 (32).

En 1984, il a été démontré que cette anomalie moléculaire était à l'origine d'une activité dérégulée de l'enzyme tyrosine kinase (TK).

George Daley et son équipe en 1990 ont mis par la suite le pouvoir oncogénique de cette protéine de fusion BCR-ABLI dans la leucémogénèse (21).

Ensuite grâce à la compréhension moléculaire de pathogénèse, Drucek *et al* ont permis de cibler la protéine *BCR-ABLI* en inhibant l'activité tyrosine kinase, ce qui a révolutionné l'approche thérapeutique de la LMC (25).

1.4. ETIOLOGIE

Aucune étiologie ni de facteur génétique n'est identifiée à l'origine de la LMC. Cependant, on note une augmentation du risque de la maladie après chaque 10 ans à partir de 30 ans et aussi une fréquence plus élevée chez l'homme que chez la femme. Certaines études ont montré une augmentation du nombre de LMC chez les personnes exposées aux radiations ionisantes et au benzène. Cette hypothèse est appuyée par une augmentation de l'incidence de la maladie chez les survivants de la bombe atomique d'Hiroshima. Des études de laboratoire ont aussi montré une augmentation du nombre de réarrangement *BCR-ABL1* dans des cellules exposées aux irradiations qui au départ étaient indemnes de réarrangements (13).

1.5. ASPECTS CLINIQUES

Le diagnostic de la maladie s'effectue dans la majorité des cas (> 90 %) au moment de la phase chronique. En l'absence de traitement, la LMC est mortelle, avec une évolution en 3 à 5 ans comportant une phase accélérée puis une phase dite blastique résultant d'une transformation aiguë prenant l'aspect d'une leucémie aiguë secondaire (75). Il existe ainsi un passage progressif d'une hyperproduction chronique d'éléments matures variés de la lignée myéloïde à une prolifération rapide de cellules immatures (hiatus de maturation et emballement d'un ou plusieurs sous-clones). Dans de rares cas, la maladie sera diagnostiquée en phase accélérée voire blastique, où les manifestations cliniques et biologiques de la pathologie seront plus marquées et dont le délai de prise en charge devra être plus rapide (38, 69) (tableau 1).

Non traitée, la leucémie myéloïde chronique passe par 3 phases:

- **Phase chronique:** une phase chronique indolente initiale qui peut durer 5 à 6 ans.
- **Phase accélérée:** échec du traitement, aggravation de l'anémie, thrombopénie ou thrombocytose progressives ou aggravation persistante de la splénomégalie, évolution clonale, augmentation des basophiles du sang, et augmentation des blastes osseux ou sanguins (jusqu'à 19%).

- **Phase blastique:** accumulation de blastes dans les sites extramédullaires (p. ex., os, système nerveux central, ganglions lymphatiques, peau), blastes dans le sang ou la moelle augmentés à $\geq 20\%$.

La phase blastique conduit à des complications d'évolution rapide similaires à celles observées dans la leucémie aiguë (sepsis, hémorragies). Certains patients progressent directement de la forme chronique vers la phase blastique.

Tableau 1. Phases de la maladie (31)

Phase de maladie (selon l'OMS) Phase myélocytaire chronique	Leucémie myéloïde chronique sans signes d'accélération ou de transformation blastique
Phase accélérée	<ul style="list-style-type: none"> • 10-19% de blastes dans le sang périphérique ou dans la moelle • Basophilie $> 20\%$ • Thrombocytopénie persistante ($< 100 \times 10^9/l$) sans relation avec le traitement ou • Thrombocytose persistante ($< 1000 \times 10^9/l$) sous traitement • Progression de la splénomégalie et de la leucocytose sous traitement • Anomalies cytogénétiques surajoutées <p>* un ou plusieurs critères doivent être remplis</p>
Phase blastique	$> 20\%$ de blastes dans le sang périphérique ou dans la moelle présentation extramédullaire

1.6. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

1.6.1. Diagnostic clinique

Cet examen consiste à évaluer les symptômes cliniques et en une mesure très précise de l'importance de la splénomégalie à des fins diagnostiques et pronostiques. La mesure est indispensable au diagnostic selon un consensus d'expert de l'European Leukemia Net (tableau 2) (77).

Tableau 2. Récapitulatif de la symptomatologie clinique de la LMC (77)

<u>Symptômes/ phase de la LMC</u>	Phase chronique	Phase d'accélération	Phase blastique
Altération de l'état général (AEG)	<ul style="list-style-type: none"> • Fièvre • Pâleur • Asthénie • Perte de poids 	<ul style="list-style-type: none"> • ↑ fièvre • ↑ ± marquée des autres signes 	<ul style="list-style-type: none"> • AEG +++ • ↑fièvre • sueurs nocturnes
Syndrôme tumoral	<ul style="list-style-type: none"> • Splénomégalie 	<ul style="list-style-type: none"> • ↑splénomégalie 	<ul style="list-style-type: none"> • splénomégalie +++ • hépatomégalie • adénopathies • douleurs osseuses
Remarques	<ul style="list-style-type: none"> • Leucostase pulmonaire ou cérébrale • Hyperviscosité : confusion mentale, AVC • Hyperuricémie : crise de goutte 	<ul style="list-style-type: none"> • Début de l'évolution cytogénétique • Début de la résistance au traitement 	<ul style="list-style-type: none"> • Lésions hémorragiques • Proliférations blastiques extramédullaires

1.6.2. Diagnostic cyto-génétique

L'hémogramme et le myélogramme sont indispensables au diagnostic

1.6.2.1. Hémogramme

Permet d'orienter le diagnostic en montrant une hyperleucocytose à prédominance surtout granulocytaire (au moment du diagnostic le taux des leucocytes est généralement de l'ordre 100.10⁹/litre pour une normale comprise entre 4. 10⁹/litre et 10.10⁹/litre) une anémie (taux d'hémoglobine inférieur à 11g/dl), une thrombocytose (comprise entre 400.10⁹/litre à 700. 10⁹/litre pour une valeur normale comprise entre 150.10⁹/litre et 400.10⁹/litre) (47).

1.6.2.2. Myélogramme

Un myélogramme est systématiquement réalisé au diagnostic afin de préciser la phase de la maladie et de réaliser le caryotype initial. Les frottis médullaires montrent une hyperplasie importante de la lignée granuleuse à tous les stades de maturation sans anomalie morphologique des lignées granuleuse et érythroblastique. Le nombre de blastes permettra de définir le stade de la maladie. Concernant les mégacaryocytes, ces derniers sont souvent en nombre augmenté avec le plus souvent un aspect morphologique anormal : de petite taille et à noyaux hypolobés (figure 3).

Cela consiste en la recherche du chromosome Philadelphie Ph, présent chez 95% des patients, au niveau de la moelle osseuse. Dans les autres 5%, on pense qu'il s'agit d'un Ph masqué par translocation complexe ou d'autres anomalies.

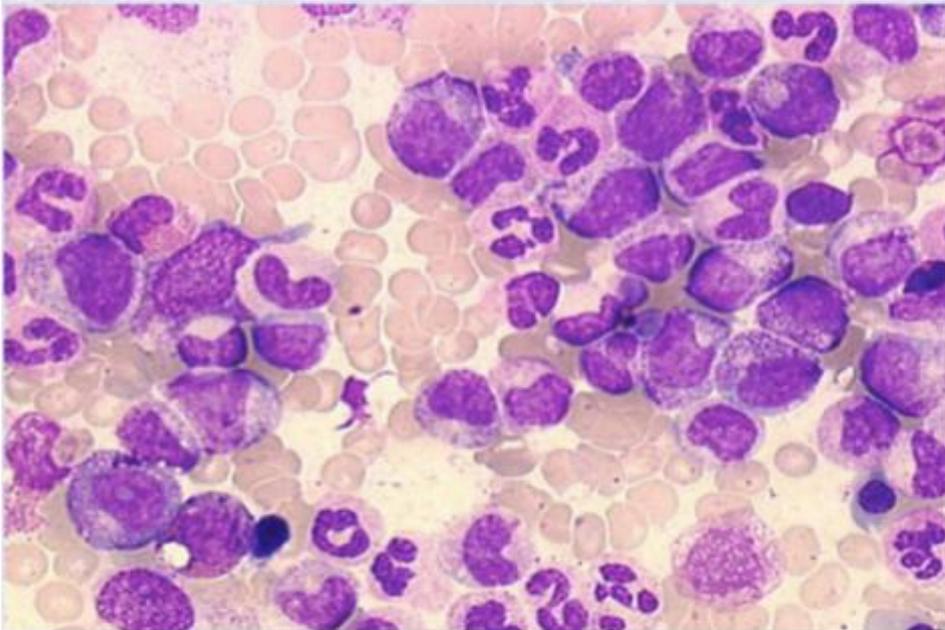


Figure 3. Myélogramme montrant une hyperplasie granuleuse (75)

1.6.2.3. Caryotype

Un caryotype médullaire conventionnel sera systématiquement réalisé afin de mettre en évidence la présence du chromosome Philadelphie (95 % des cas) et confirmer ainsi le diagnostic. Il permet également la détection d'éventuelles anomalies cytogénétiques additionnelles (ACA) dont les plus fréquentes sont : la duplication du chromosome Philadelphie, les trisomies 8 et 19 et un isochromosome (17q). Ces anomalies clonales surajoutées dans les métaphases Ph1+ (ACA/Ph1+) constituent une évolution clonale de la maladie et sont considérées comme un critère d'échec au traitement et un critère d'évolution de la maladie (27) (figure 4).

Cette technique comporte quand même quelques inconvénients : elle nécessite dans la plupart des cas le prélèvement médullaire 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.

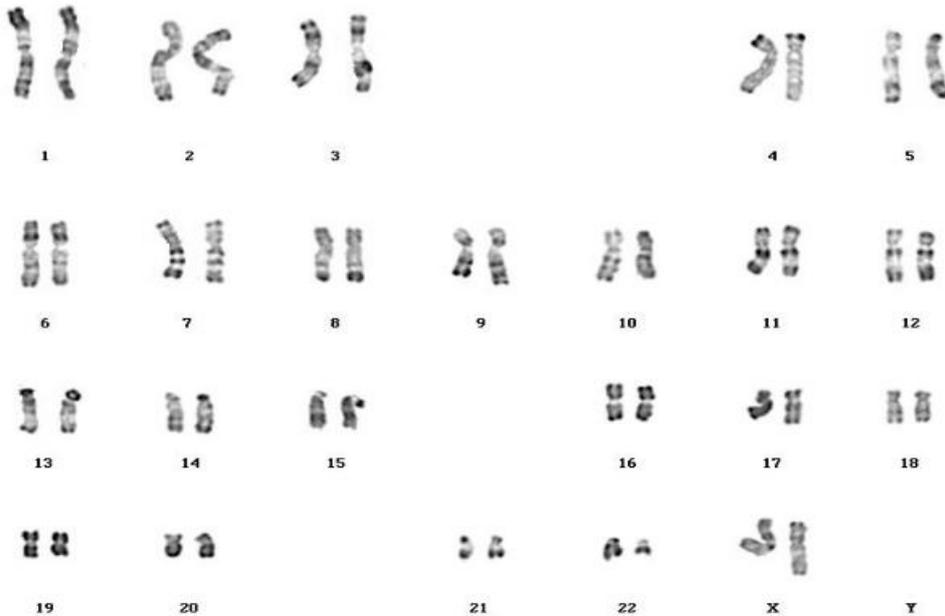


Figure 4. Présentation du chromosome Philadelphie sur le Caryotype à la phase chronique de la LCM (3)

1.6.2.4. Technique FISH (Hybridation in situ en fluorescence)

Ce n'est pas un examen obligatoire mais elle permet de détecter les chromosomes «masqués» non détectés par le caryotype conventionnel. Elle est plus rapide et plus sensible que celui-ci mais ne permet pas de mettre en évidence d'autres anomalies cytogénétiques additionnelles.

Le principal avantage de la FISH est la possibilité d'analyser rapidement un grand nombre de cellules même dans les échantillons présentant un nombre insuffisant de métaphase (58).

Cette technique consiste à hybrider sur une coupe tissulaire une séquence spécifique d'acides nucléiques (ADN ou ARN) et une séquence complémentaire d'acides nucléiques marquée, ici

par fluorescence. Elle a une très forte spécificité mais elle est peu sensible du fait des difficultés d'accessibilité de la sonde vers sa cible. Dans la LMC, on utilise des sondes spécifiques des gènes *BCR* (chromosome 22) et *ABL* (chromosome 9). La sonde de *BCR* est verte et celle d'*ABL* rouge-rosé. 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 (54) (figure 5).

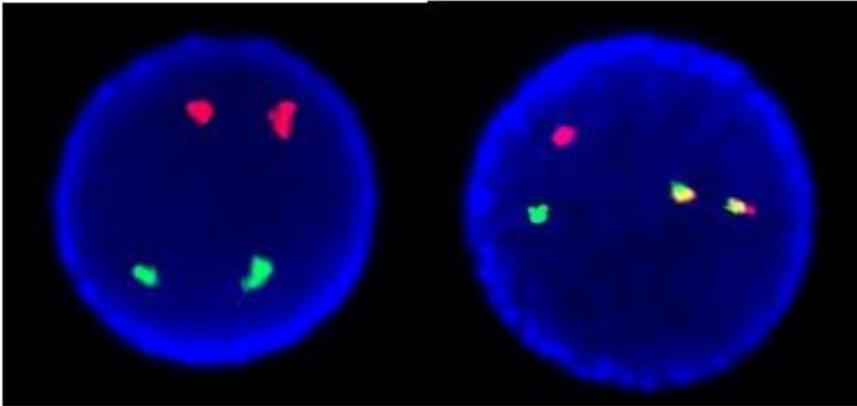


Figure 5. Gène de fusion BCR-ABL1 détecté par FISH.

A gauche : cellule normale (sonde BCR en vert, sonde ABL en rouge).

A droite : détection du gène de fusion BCR-ABL1 en jaune (71).

CHAPITRE 2.

LMC ET BIOLOGIE MOLECULAIRE

2.1. PHYSIOPATHOLOGIE MOLECULAIRE

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).

2.1.1. Le chromosome Philadelphie

Le chromosome Philadelphie (Ph est visible au caryotype standard dans la quasi-totalité (95 %) des cas de LMC. Ce chromosome 22 raccourci (mentionné 22q-), est issu de la translocation réciproque entre le bras long du chromosome 9 en position q34 et le bras long du chromosome 22 en position q11. Cette translocation $t(9;22)(q34;q11)$ entraîne, d'un point de vue moléculaire, la juxtaposition du segment 3' de l'oncogène Abelson (*c-ABL1*) et de la partie 5' du gène *BCR* (*breakpoint cluster region*) au niveau du bras long du chromosome 22 (32).

2.1.2. Le gène *ABL*

Le gène *ABL1* tire son nom du virus d'Abelson de la leucémie murine. Chez l'homme, l'oncogène *ABL* est situé sur le bras long du chromosome 9 (q34), et il est exprimé dans une grande variété de types cellulaires dont les lignées hématopoïétiques, la rate, le thymus, le testicule. Ce gène occupe un locus de 230 kb et comporte 12 exons dont 2 alternatives de l'exon 1 (1A et 1B). Il est transcrit en deux ARNm de 6 ou 7 kb selon que l'exon 1A ou 1B soit alternativement transcrit, et code pour une protéine de 145 KD.

Les cassures chromosomiques sur le gène *ABL1* se font en des points variables de la région 5' du gène mais le plus souvent au niveau de l'intron 1 (20) (figure 6).

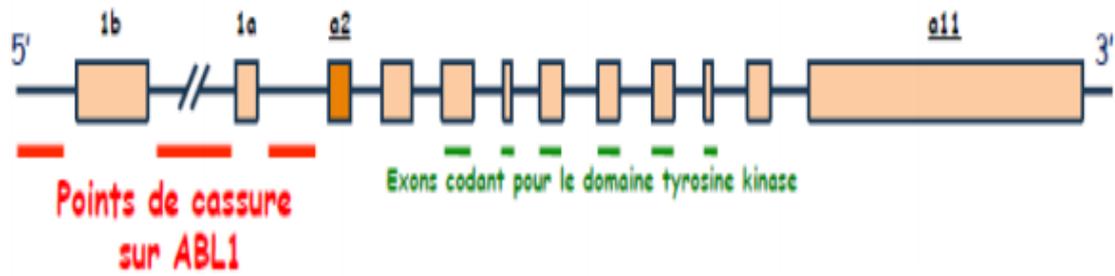


Figure 6. Le gène *ABL* (45)

2.1.3. Le gène *BCR*

Le nom du gène *BCR* provient de la détermination du point de cassure du chromosome 22 dans la LMC, qui intéresse une région très limitée, dénommée « breakpoint cluster region ». Le gène *BCR* occupe un locus de 135kb et comprend 23 exons. Les 5 exons à l'intérieur de la zone de cassure *M-bcr* (major breakpoint cluster region) correspondent aux exons 12 à 16. Ils sont aussi appelés b1, b2, b3, b4 et b5. Il est transcrit en ARNm de 4,5 ou 6,7 kb et code une protéine cytoplasmique de 160 kb d'expression ubiquitaire.

Les cassures chromosomiques de la LMC surviennent presque exclusivement dans la région de 5,8 kb du gène *BCR*, appelée région *M-bcr*, en dehors des exons, et essentiellement entre les exons 13 et 14 ou 12 et 13. Néanmoins, des cassures sont possibles dans chacune des cinq zones définies dans le *M-bcr*. La cassure peut également se situer au niveau de l'intron 1, appelé minor breakpoint cluster (*m-bcr*) ou au niveau de l'exon 19, micro breakpoint cluster (*μ-bcr*) (54). Ces différents types de réarrangement peuvent entraîner la production de différentes protéines de poids moléculaire différent avec comme conséquence une activité tyrosine Kinase plus ou moins intense (29) (figure 7).

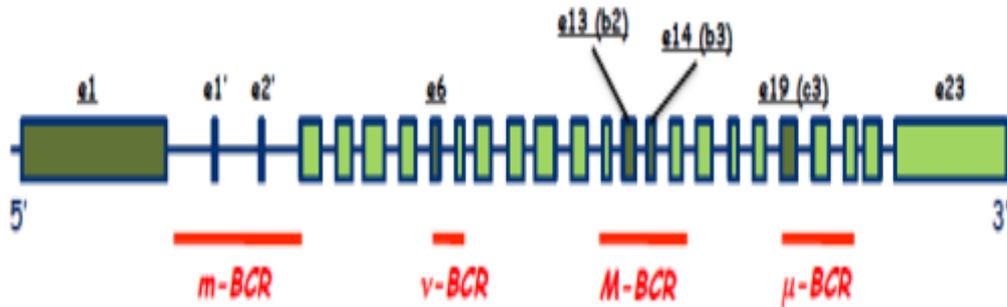


Figure 7. Le gène *BCR* (45)

2.1.4. Le gène de fusion *BCR-ABL*

La translocation t(9 ;22) entraîne la formation d'un gène de fusion sur le chromosome 22 et ce gène de fusion hybride comporte la partie 5' du gène *BCR* et la partie 3' du gène *ABL1*.

Ce gène *BCR-ABL1* hybride est transcrit en ARNm de 8,5 kb lequel est traduit en une protéine hybride p210 (appelée également oncoprotéine P210 ou P210 BCR-ABL) composé de deux variants différents de 25 acides aminés selon que l'exon b3 est incorporé ou non dans le gène hybride. En cas de cassure type m-bcr, les exons 2 à 11 disparaissent du chromosome 22, et le transcrit obtenu est plus court (7 kb) (27).

La translocation des chromosomes 9 et 22 forme donc un gène anormal, appelé gène *BCR-ABL1*, issu de la fusion des gènes *ABL1* et *BCR*. Ce nouveau gène va coder pour une nouvelle protéine anormale, appelée protéine de fusion BCR-ABL1.

Il peut y avoir différents points de cassure au niveau du gène *BCR* entraînant la formation de 3 types de protéines différentes.

Lors des recombinaisons, les protéines chimériques BCR-ABL1 issues de M-bcr, m-bcr ou μ -bcr, présentent respectivement un poids moléculaire de 210, 190 ou 230 KD.

Ces protéines ne diffèrent entre elles que par leur contenu en domaines de la protéine BCR (32). La protéine BCR-ABL1 qui est présente chez 95% des patients est de p210 (correspondant aux transcrits a2b2 et a2b3). Cette protéine de fusion p210 BCR-ABL1 hérite donc à la fois des domaines de phosphorylation de la protéine ABL1, mais également des autres domaines que l'on retrouve sur la protéine BCR (27) (figure 8).

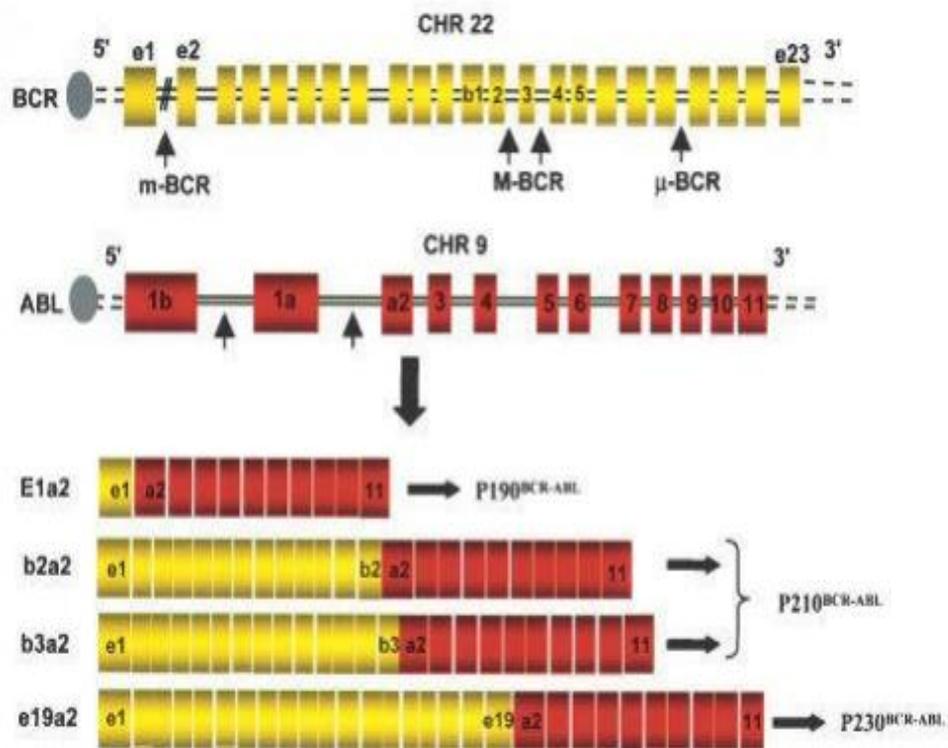


Figure 8. Différents gènes de fusion *BCR-ABL* et leurs protéines résultantes (57)

Chez 5 % des patients, BCR/ABL peut être mis en évidence alors que le caryotype est normal. Dans ces LMC Ph- BCR/ABL+, d'aspect et d'évolution habituels, c'est le seul marqueur de la population maligne et on doit recourir à la biologie moléculaire (et/ou l'hybridation in situ)

pour identifier ces cas et les suivre. Environ 5 % des cas évoquant avant tout au départ des LMC n'ont ni Ph ni fusion BCR/ABL. Des nuances hématologiques distinguent ces hémopathies, d'évolution plus défavorable.

Des anomalies chromosomiques additionnelles (chromosomes surnuméraires + 8, + Ph, + 19, présence d'un iso 17q) et/ou géniques (frappant p53, p16, Rb) sont quasi constantes au moment de la TA. Elles résultent d'une instabilité génomique, qui dépend de BCR-ABL et est partie intégrante de la LMC. Elle pourrait être liée, au moins en partie, à une méthylation anormale de divers sites de l'ADN. Le nombre et la nature de ces anomalies influencent le pronostic, le choix thérapeutique et l'évolution de la maladie.

2.2. DIAGNOSTIC MOLECULAIRE

La technique du Southern-blot permet la détection de la translocation BCR-ABL mais elle n'est plus guère utilisée.

Le diagnostic moléculaire va permettre d'identifier et de quantifier les transcrits BCR-ABL présents dans la moelle osseuse et dans le sang, par RT-PCR-quantitative. Il est absolument nécessaire de réaliser cette étape. Cela permet également, par évaluation par rapport aux taux initiaux, d'apprécier l'évolution de la LMC.

2.2.1. Le Southern-blot

Cette méthode a été la première disponible pour l'analyse moléculaire de la translocation BCR-ABL. Elle permet la mise en évidence des réarrangements chromosomiques de BCR-ABL sous forme de modifications des fragments obtenus après digestion enzymatique et hybridation avec une sonde BCR.

Cette technique consiste tout d'abord à digérer l'ADN par des enzymes de restriction, le fragmenter puis le colorer.

On effectue une électrophorèse pour séparer les fragments, une dénaturation de l'ADN bicaténaire, puis on réalise le transfert de l'ADN sur une membrane en nitrocellulose. On met en contact l'échantillon avec une sonde marquée (composés radioactifs, fluorescents)

spécifique, ici le gène *BCR*. Après hybridation, la sonde en excès est éliminée et l'hybridation est visualisée sur un film autoradiographique.

Cette technique est actuellement peu employée en pratique quotidienne et a été largement supplantée par la RT-PCR (54).

2.2.2. RT-PCR (Polymerase Chain Reaction) en temps réel ou quantitative

La recherche du transcrite de fusion *BCR-ABL1*, dans le sang, est indispensable au diagnostic et permet de définir le type de transcrite. Elle représente indirectement le nombre de cellules leucémiques présentes dans l'organisme. Elle nécessite une étape préalable d'extraction des ARN à partir des globules blancs totaux et une étape de rétrotranscription de l'ARN en ADNc. La recherche du transcrite se fait ensuite par PCR multiplex (utilisant plusieurs couples d'amorces) en point final permettant d'amplifier tous les types de transcrits *BCR-ABL1* quel que soit leur point de cassure. La visualisation de la taille du transcrite amplifié sur gel d'agarose permet de définir les points de cassure. Le type de transcrite supposé sera confirmé par PCR simplex avec le couple d'amorce adéquat. Le typage du transcrite au diagnostic est fondamental afin de choisir le bon couple d'amorces pour la quantification du transcrite *BCR-ABL1* qui se fait par PCR en temps réel sur l'ADNc obtenu après les étapes d'extraction et de rétrotranscription (RT-QPCR) (*retrotranscription quantitative real time polymerase chain reaction*).

La RT-PCR (Reverse Transcriptase- Polymerase Chain Reaction) met en évidence le transcrite BCR-ABL à partir de cellules médullaires ou plus facilement, à partir d'un prélèvement sanguin (72).

C'est une variante de la PCR classique qui permet de visualiser en temps réel l'augmentation du taux de transcrite que l'on cherche à quantifier, après avoir synthétisé de l'ADN complémentaire à partir d'ARNm.

Le principe de la PCR est basé sur un cycle dont chaque étape possède sa propre température qui dépend de la séquence à détecter :

- La dénaturation de l'ADN ;

- L'hybridation entre la matrice d'ADN et les amorces spécifiques du gène à étudier ;
- La polymérisation où s'effectue la synthèse de l'ADN complémentaire à partir de l'amorce. Les produits issus du cycle d'amplification servent de matrice pour le cycle suivant. Il y a répétition de ce cycle de synthèse-dénaturation de sorte à obtenir une amplification exponentielle du gène cible.

Compte tenu de la grande dispersion des points de cassure sur l'ADN lors d'une LMC, l'amplification directe de celui-ci est impossible. Il faut donc utiliser une enzyme : la Reverse Transcriptase qui convertit l'ARNm en ADNc (ADN complémentaire, plus stable que l'ARNm). La réaction d'amplification peut alors avoir lieu en utilisant une sonde complémentaire de la séquence BCR et une d'ABL.

L'intérêt de la RT-PCR dans la LMC est de pouvoir quantifier de manière précise le taux de transcrit BCR-ABL et donc de suivre le taux résiduel de la maladie des patients sous traitement.

Le système de détection des molécules amplifiées repose sur deux techniques :

- les agents intercalants se fixant directement à l'ADN double brin ;
 - une sonde fluorogénique s'hybridant de manière spécifique sur le fragment amplifié.
- Les stratégies de quantification sont nombreuses car il est difficile d'obtenir des résultats fiables et reproductibles.

La PCR en temps réel permet une détection en « tube fermé » des produits de PCR formés après chaque cycle d'amplification et non plus des produits finaux. Cette technique est donc plus précise car contient beaucoup plus de mesures. La mesure s'effectue à l'aide d'une molécule reporter fluorescente. L'intensité de la fluorescence émise par la molécule reporter augmente à chaque cycle de PCR. Il est alors possible de tracer une courbe et de repérer les différentes phases de la cinétique PCR. Une relation entre le niveau de la réponse au traitement, le nombre de cellules leucémiques et la valeur du ratio BCR-ABL/ABL a été clairement établie (15).

Même si de grands efforts ont été faits pour standardiser cette technique, son interprétation demande une bonne expertise. Mieux comprendre la signification clinique de la MRD après un traitement par inhibiteur de tyrosine kinases (ITK) permet d'analyser et d'étudier précisément l'impact des ITK sur les cellules leucémiques in vivo.

La grande majorité des patients atteints de LMC présentent des réarrangements moléculaires de type *BCR-ABL1* au niveau de la région M-*BCR* du gène *BCR* sur le chromosome 22. Les réarrangements moléculaires principaux sont de type b2a2 et b3a2. Dans la population adulte, une plus grande prévalence de sujet exprime le réarrangement moléculaire de type b3a2 (figure 9).

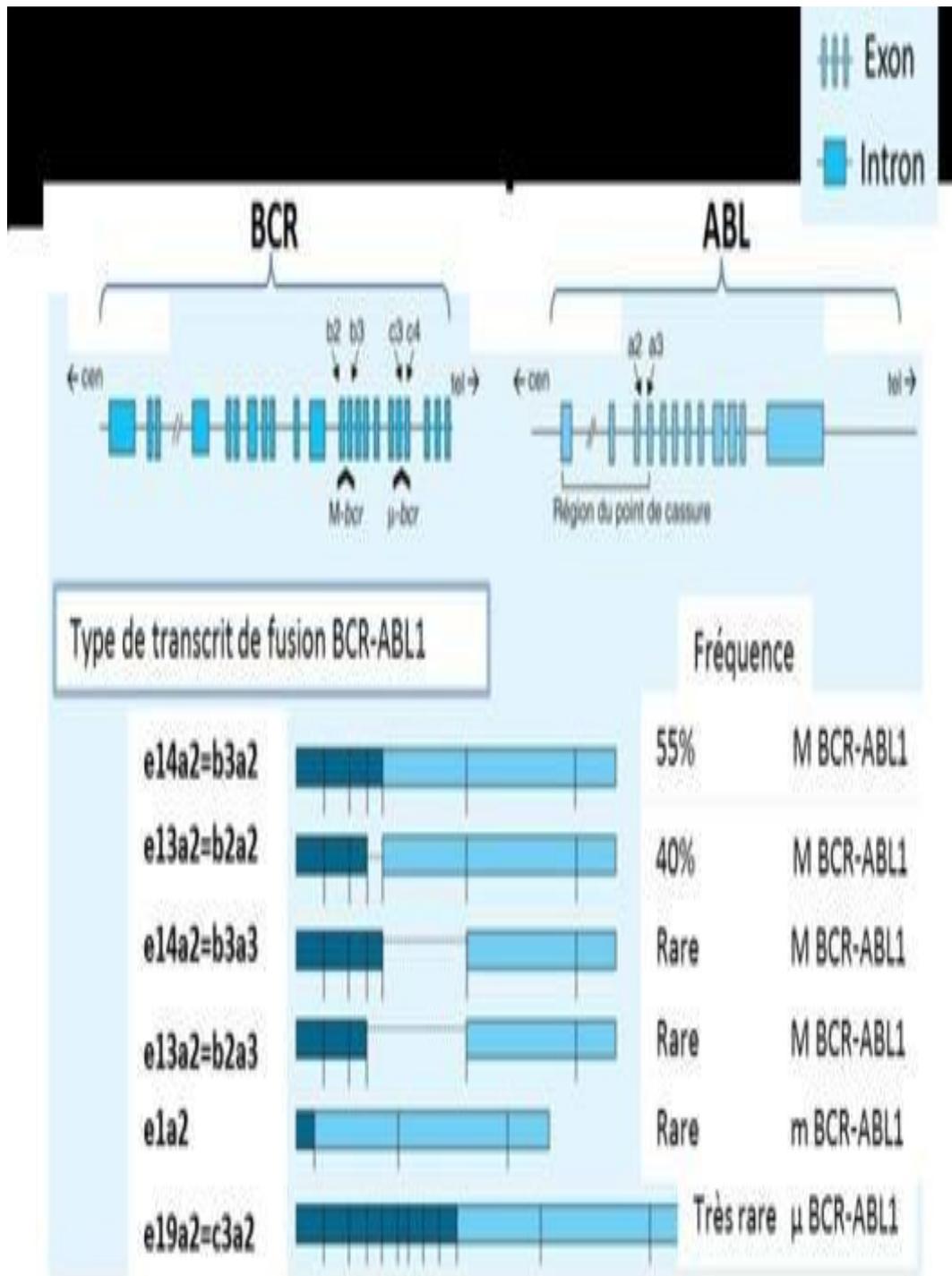


Figure 9. Détection des transcrits par RT-PCR (76)

CHAPITRE III.

LMC ET TRAITEMENT

3.1. SCORE PRONOSTIQUE

Une fois le diagnostic réalisé, les patients atteints de LMC sont soumis à une évaluation de risque de la maladie par des scores pronostiques qui permettent de prédire statistiquement l'évolution de la maladie en se basant sur des caractéristiques cliniques et biologiques et contribuent ainsi à aider le médecin à la prise de décision pour instaurer la thérapie et mettre en place une stratégie pour prévenir ou prendre en charge des possibles complications.

Il existe plusieurs types de scores pour classer les patients en plusieurs groupes de risques différents, mais les plus utilisés sont le score de Sokal et le Score de Hasford (pour l'évaluation du risque avant l'instauration du traitement. Les facteurs pronostiques calculés dans ces différents types de scoring permettent de déterminer l'issue de la LMC et prévoir les chances de guérison ou le risque de réapparition de la maladie) (33, 53).

3.1.1. Score de Sokal

Etabli en 1984, ce score prend en compte au moment du diagnostic des facteurs pronostiques indépendants comme la taille de la rate, le sexe ainsi que différents paramètres de l'hémogramme (les pourcentages de blastes et d'hématocrite et le taux de plaquettes). Etabli à partir de cohortes traitées par Busulfan et Hydroxyurée, le score de Sokal permet de séparer les patients en trois groupes selon le taux de survie globale, afin d'appréhender l'évolution de patients traités par chimiothérapie conventionnelle. Le groupe évalué à risque faible comprend les patients dont le calcul de l'indice est $< 0,80$. Les patients de ce groupe ont une survie globale médiane de 5 ans et un taux de survie à 2 ans évalué à 90 % avec un risque d'évolution péjoratif < 20 % par an. Pour le groupe à risque élevé, dont l'indice calculé est $> 1,2$, la survie globale médiane est de 2,5 ans avec un taux de survie à 2 ans évalué à 65 %. Le groupe intermédiaire correspond aux patients dont l'indice de calcul est compris entre 0,80 et 1,20 et dont la survie globale médiane est évaluée à 4 ans.

3.1.2. Score de Sokal modifié

Etabli 1 an après (1985) pour les patients de moins de 45 ans. L'étude princeps avait pour but de déterminer dans une population de patients plus jeune (625 patients âgés de 5 à 45 ans), les patients candidats à une greffe de moelle osseuse en fonction du risque associé au traitement conventionnel. La répartition en trois groupes en fonction du calcul de l'indice est similaire au score de Sokal initial.

Pour les 42 groupes à risque faible et intermédiaire, le taux de survie global à 2 ans était de 89 % et de 74 % à 3 ans. Pour le groupe à risque faible, il a été observé une mortalité à 2 ans de 9 % et une survie médiane de 5,5 ans. Pour le groupe à risque élevé, un risque de mortalité de 30 % a été observé dans les 2 ans suivant le diagnostic.

Ces indices fournissent une indication sur le potentiel évolutif spontané de la maladie et comme reflet de la masse tumorale mais ils sont moins performants pour donner un pronostic pour les patients traités par Interféron α (IFN α) .

3.1.3. Score de Hasford

Etabli en 1998, ce score était adapté aux patients traités par Interféron α , les classant en trois groupes statistiquement différents concernant la survie globale. Cet indice est calculé à partir de l'âge, de la taille de la rate, du pourcentage de blastes circulants, de l'éosinophilie, de la basophilie et du taux de plaquettes.

Le groupe à risque faible comprend les patients avec indice calculé ≤ 780 et dont la médiane de survie est évaluée de 96 mois. Le groupe intermédiaire comprend les scores entre 781 et 1480 et présente une survie médiane de 65 mois. Tandis que le groupe à risque élevé, score > 1481 , présente une survie médiane de 42 mois.

Score EUTOS (European Treatment and Outcome Study for chronic myeloid leukemia) développé en 2011 et testé sur un groupe de patients traités en première intention par Imatinib et dans le but de prédire la rémission cytogénétique complète (RCC) à 18 mois après le début du traitement. Une RCC (0% de métaphases Ph1+) à 18 mois a en effet été associée à une survie sans progression plus importante. A 5 ans, la survie sans progression du groupe à

risque élevé était de 82 % contre 90 % pour le groupe à risque faible. Les principaux facteurs prédictifs d'une RCC à 18 mois sont la taille de la rate (mesurée en cm du débord costal) et le pourcentage de polynucléaires basophiles circulants dans le sang. Ce score permet de classer les patients en deux groupes en fonction du risque de non obtention de la RCC à 18 mois. Si le score est > 87 alors le risque est considéré comme élevé tandis que le risque est considéré comme faible si l'indice calculé est ≤ 87 .

3.1.4. Score ELTS

Etabli en 2015, à partir des données au diagnostic de 2205 patients adultes atteints de LMC en phase chronique. Ainsi, ce score sert de référence pour l'évaluation prospective de l'efficacité anti-leucémique à long terme et de la survie globale des patients traités par l'Imatinib en première ligne. Ce score établi pour la population adulte inclut les paramètres accentuant significativement la probabilité de décès imputable à la LMC. Parmi les facteurs de risque de progression et décès on retrouve un âge plus avancé, un fort pourcentage de blastes circulants, un faible taux de plaquettes et une augmentation de la taille de la rate. Ce score classe les patients en trois groupes : risque faible (score $\leq 1,5680$), intermédiaire ($1,5861 < \text{score} < 2,2185$) et élevé (score $> 2,2185$).

3.2. HISTORIQUE DU TRAITEMENT

Lorsqu'une LMC est suspectée chez un patient, il est toujours orienté vers un centre hospitalier spécialisé en hématologie ou en cancérologie. Après confirmation du diagnostic, le médecin hospitalier choisit la thérapie la plus adaptée au stade de la maladie et au patient.

En dehors de la greffe de moelle osseuse, dont l'indication reste limitée, la LMC a longtemps été une pathologie sans traitement curatif, la chimiothérapie n'étant qu'à visée symptomatique.

La splénectomie et l'arsenic ont constitué les tout premiers traitements. Le busulfan en 1953 puis l'hydroxyurée (HYDREA®) dans les années 1970 ont fait leur apparition dans l'arsenal thérapeutique. Le traitement reposait alors sur une cytoréduction grâce à ces agents alkylants. La durée moyenne de la phase chronique était de l'ordre de 3 ans et la LMC était une affection constamment mortelle.

Ce n'est qu'en 1980 que l'interféron-alpha (IFN-G) a permis une amélioration de la survie globale des patients avec obtention de rémissions cytogénétiques complètes et durables (59).

Au début des années 1980 également, il a été établi que la greffe de moelle allogénique était un traitement curatif permettant la disparition du chromosome Ph mais applicable chez une minorité de patients en raison de leur âge avancé ou de l'absence de donneur. La possibilité de faire disparaître le chromosome Ph a permis alors d'envisager des stratégies d'autogreffe avec ou sans mobilisation de cellules souches avec une amélioration de la survie démontrée dans une méta-analyse (démarche consistant à rassembler les résultats de plusieurs essais cliniques conduits séparément). Néanmoins le taux de rechute étant plus important, l'allogreffe classique ou non-myéloablative ou encore à conditionnement d'intensité réduite est aujourd'hui la référence en matière de greffe.

La démonstration de l'effet synergique entre l'IFN-G et l'aracytine par le groupe d'études de la LMC en France a représenté, jusqu'à l'introduction des inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK), le traitement standard hors greffe.

La découverte récente des ITK, plus spécifiques, tel que le mésylate d'imatinib (IM) a réellement bouleversé la prise en charge des malades en modifiant leur médiane de survie mais également la surveillance du traitement. Néanmoins certains patients sous IM présentent des résistances ou une absence de réponse thérapeutique en dépit de l'expression avérée de la molécule cible. Même si cette proportion reste faible, celles-ci font actuellement l'objet de recherches, ce qui a mené à la seconde génération d'ITK : dasatinib et nilotinib, et de bien d'autres molécules encore à l'essai (31).

3.3. LES INHIBITEURS DE LA TYROSINE KINASE

Les ITKs sont le traitement de référence de la LCM quel que soit la phase de la maladie. Ils sont divisés en 3 générations (63) (figure 10) :

- première génération (Imatinib),
- deuxième génération (Dasatinib, Nilotinib, Bosutinib),
- troisième génération (Ponatinib).

3.3.1. Imatinib (Gleevec®)

Se fixe au domaine kinase de BCR-ABL1 sous sa forme inactive, interrompant ainsi les signaux de prolifération cellulaire. L'imatinib bloque également d'autres kinases, comme celles du PDGFR et de KIT. Il est indiqué dans le traitement des adultes et des enfants atteints de LMC Ph+ nouvellement diagnostiquée en phase chronique, de même que chez les patients atteints de LMC Ph+ en phase chronique, accélérée ou blastique après échec du traitement par l'interféron.

3.3.2. Dasatinib (Sprycel®)

Plus puissant que l'imatinib. Se fixe aussi bien à la forme active qu'à la forme inactive de la kinase de BCR-ABL1 pour bloquer les signaux de prolifération cellulaire. Le dasatinib inhibe également les kinases de la famille SRC, du PDGFR et de KIT. Approuvé chez les adultes qui ont récemment reçu un diagnostic de LMC en phase chronique Ph+. Également approuvé chez les adultes ayant affiché une résistance ou une intolérance à un traitement antérieur de la LMC en phase chronique, accélérée ou blastique, ainsi que chez les enfants et adolescents atteints de LMC en phase chronique Ph+.

3.3.3. Nilotinib (Tasigna®)

Agit de manière très semblable à l'imatinib, mais est plus puissant. Le nilotinib bloque également les kinases du PDGFR et de KIT. Il est indiqué chez les adultes et les enfants de 1 an et plus dans le traitement de la LMC Ph+ en phase chronique nouvellement diagnostiquée; dans le traitement de la LMC en phase chronique ou accélérée chez les adultes résistants ou intolérants à un traitement antérieur; et chez les enfants âgés de 1 an et plus résistants ou intolérants à un traitement antérieur par un ITK.

3.3.4. Bosutinib (Bosulif®)

Se fixe aux sites actifs et inactifs de la protéine BCR-ABL1 pour bloquer les signaux de prolifération cellulaire. Agit aussi sur les kinases de la famille SRC. Le bosutinib est approuvé dans le traitement des patients adultes atteints de LMC Ph+ en phase chronique nouvellement

diagnostiquée et dans le traitement de la LMC en phase chronique, accélérée ou blastique en cas de résistance ou d'intolérance à un traitement antérieur.

3.3.5. Ponatinib (Iclusig®)

Inhibe de nombreuses tyrosines kinases, y compris BCR-ABL1. Actif sur toutes les mutations de BCL-ABL1, y compris T3151. Le ponatinib est indiqué pour le traitement de patients adultes atteints de LMC en phase chronique, accélérée ou blastique ou encore chez des adultes atteints de LMC en phase chronique, accélérée ou blastique porteurs de la mutation T3151. Non recommandé pour la LMC en phase chronique nouvellement diagnostiquée (37).

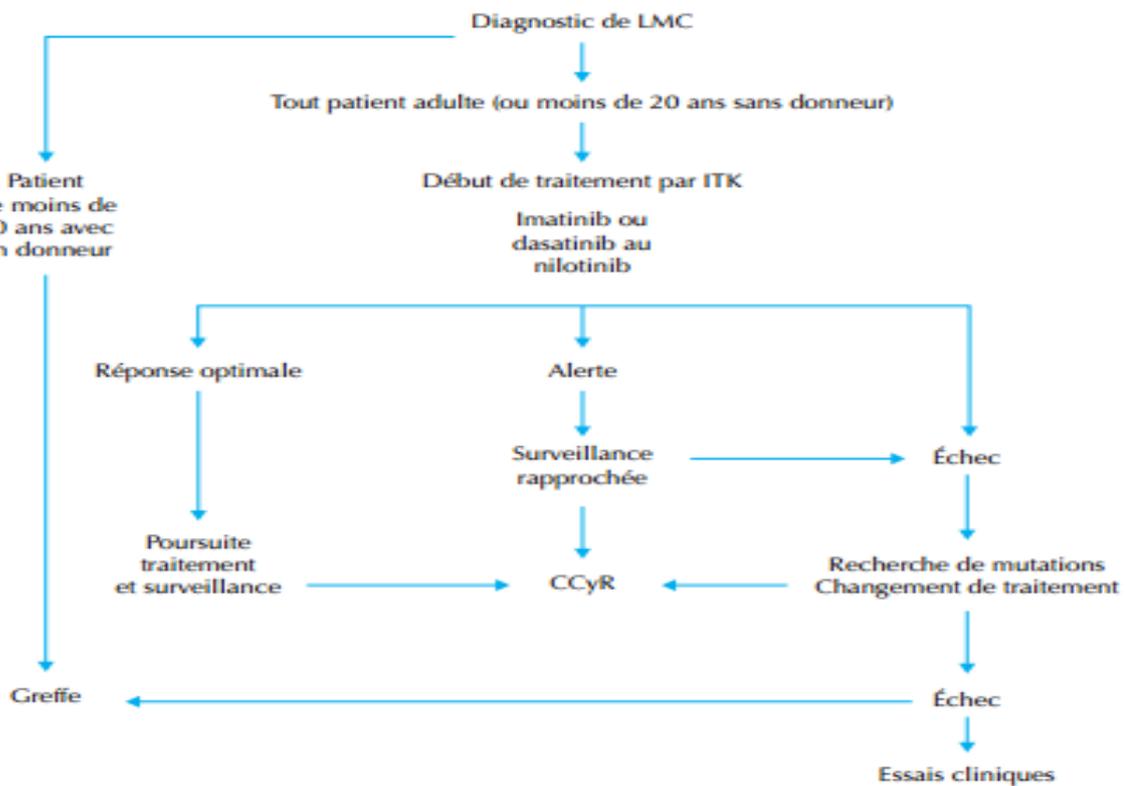


Figure 10. Schéma thérapeutique pratique d'un nouveau cas de leucémie myéloïde chronique (LMC) diagnostiquée en phase chronique.

ITK : inhibiteur de tyrosine kinase ; CCyR : réponse cytogénétique complète (43)

3.4. REPONSE AU TRAITEMENT

La surveillance de l'efficacité du traitement de la LMC se fait par des analyses sanguines et médullaires. On définit différents niveaux de réponse, pour chacun desquels il existe un délai d'obtention maximal considéré comme une réponse optimale. La notion de réponse « suboptimale » qui a été employée est à présent délaissée au profit de la notion d'alerte, qui doit entraîner une surveillance rapprochée (42, 43, 55) (tableau 3).

3.4.1. Réponse hématologique

La réponse hématologique complète (CHR) est définie comme l'obtention d'une normalisation de la numération et de la formule sanguine. Elle doit être obtenue en trois mois de traitement pour qualifier d'une réponse optimale. La surveillance de l'hémogramme se fait par deux semaines jusqu'à CHR puis tous les trois mois.

3.4.2. Réponse cytogénétique

La réponse cytogénétique est évaluée sur l'analyse d'au moins 20 métaphases médullaires. Elle est dite minimale pour la persistance de 66 à 95 % de métaphases médullaires comportant le chromosome de Philadelphie, mineure pour la persistance de 36 à 65 % de métaphases positives, partielle pour la persistance de 1 à 35 % de métaphases positives et complètes (réponse cytogénétique complète (CCyR)) en l'absence de chromosome de Philadelphie sur toutes les métaphases observées. Dans le cadre d'une réponse optimale, le patient sous traitement doit présenter une réponse cytogénétique au moins minimale à trois mois, partielle à six mois et complète à 12 mois. Si la réponse est seulement mineure à six mois, il s'agit d'une alerte. Les autres cas et la perte de la CCyR sont des échecs du traitement qui doivent motiver une nouvelle ligne thérapeutique. Cette importance de la réponse cytogénétique est confirmée par les études de cohortes : 78 % des patients ayant atteint une CCyR sont en vie dix ans après le diagnostic. La CCyR est donc considérée comme l'objectif du traitement. Jusqu'à son obtention, un caryotype médullaire doit être réalisé tous les trois à six mois, puis sa persistance et une éventuelle évolution clonale doivent être évaluées par caryotype tous les 12 à 24 mois.

3.4.3. Réponse moléculaire

Il a été montré que parmi les patients ayant atteint la CCyR, deux groupes se distinguent encore sur le plan pronostique, selon que le transcrit de fusion *BCR-ABL* reste ou non détectable : la réponse moléculaire majeure (MMR) a donc été définie comme un rapport d'expression de *BCR-ABL* et d'un gène de contrôle inférieur ou égal à 0,1 % (15). La MMR doit être atteinte en 18 mois de traitement dans le cadre d'une réponse optimale. Cependant, les patients n'obtenant pas de MMR ne sont pas considérés en échec du traitement : il s'agit d'une alerte nécessitant un suivi rapproché. La perte de la MMR est en revanche considérée comme un échec du traitement. Une réponse moléculaire dite complète (CMR) a été définie comme l'indétectabilité de *BCR-ABL* en RT-PCR.

Les recommandations de l'European Leukemia Network (ELN) guident le clinicien confronté à des alertes ou à des échecs (15, 33). En cas d'échec du traitement, un changement d'ITK doit être immédiatement réalisé et une allogreffe peut être proposée en fonction des patients.

3.5. ROLE DE L'INSTABILITE GENETIQUE DANS LA RESISTANCE AUX ITK

La possibilité de suivre des cellules leucémiques par des outils moléculaires a permis de démontrer de manière claire l'évolution clonale de la LMC avec survenue successive de mutations du domaine ABL-kinase : En effet, les techniques de PCR avec des oligonucléotides spécifiques ou l'utilisation des techniques de séquençage à haut débit permettent de montrer que plusieurs sous-clones peuvent émerger du clone Ph1 initial, avec l'apparition de mutations additionnelles qui sont sélectionnées sous l'effet du traitement (17).

La présence d'un excès de stress oxydatif associé à des défauts de réparation d'ADN favorise la survenue permanente d'altérations génomiques avec notamment des mutations du domaine kinase du gène *BCR-ABL*.

La conséquence clinique de ce phénomène est l'apparition d'une résistance à l'ITK utilisée avec augmentation des niveaux du transcrit *BCR-ABL* éventuellement suivi d'une rechute cytogénétique ou hématologique. On connaît actuellement plus de 100 mutations du domaine ABL-kinase et la disponibilité des ITK de 2^{ème} et 3^{ème} génération permet d'utiliser le traitement adéquat après détection d'une mutation donnée.

Tableau 3. Définition des critères de réponse au traitement

Tableau 1. Définition des critères de réponse au traitement^{*}.

Réponse	Définition	Bilan	Délai d'obtention réponse optimale	Alerte	Échec
Réponse hématologique complète (CHR)	Normalisation de la numération et de la formule sanguine	NFS	3 mois		Absence ou perte de CHR
Réponse cytogénétique minimale	t(9;22) sur 66 à 95 % des métaphases observées	Caryotype médullaire	3 mois		Non obtenue à 3 mois
Réponse cytogénétique mineure	t(9;22) sur 36 à 65 % des métaphases observées	Caryotype médullaire			Non obtenue à 6 mois
Réponse cytogénétique partielle (pCyR)	t(9;22) sur 1 à 35 % des métaphases observées	Caryotype médullaire	6 mois	Non obtenue à 6 mois	
Réponse cytogénétique complète (CCyR)	Absence de t(9;22) sur toutes les métaphases observées	Caryotype médullaire	12 mois pour imatinib, 6 mois pour dasatinib et nilotinib		Non obtenue à 12 mois ou perte de CCyR quel que soit le moment
Réponse moléculaire majeure (MMR)	Transcrit <i>BCR-ABL</i> détecté avec un ratio < 0,1 % par rapport au contrôle**	Biologie moléculaire sur sang		Perte de la MMR, quel que soit le moment	
Réponse moléculaire complète (CMR)	Absence de détection du transcrit <i>BCR-ABL</i>	Biologie moléculaire sur sang			

NFS : numération, formule sanguine.

* « La MMR était initialement définie comme une diminution de 3 log du transcrit *BCR-ABL* par rapport à une valeur référence établie chez des patients nouvellement diagnostiqués et non encore traités. Pour des raisons de standardisation, elle est actuellement définie par rapport au niveau d'expression d'un gène de contrôle dit "domestique" [34] ».

La mutation T315I, qui empêche la fixation de l'IM, de Dasatinib et de Nilotinib à leur site, entraîne une résistance à toutes ces drogues et seul Ponatinib reste efficace chez ces patients. L'une des questions essentielles concernant la résistance aux ITK a été au cours des dernières années, la question du niveau hiérarchique des altérations génomiques au niveau de l'hématopoïèse. En effet, si les anomalies identifiées surviennent dans une cellule souche très primitive, l'éradication de celle-ci pourrait être plus difficile. L'équipe de Skorski a pu montrer que l'instabilité génomique entraînant une résistance aux ITK a son origine dans la cellule souche primitive. En effet, cette équipe a utilisé un modèle murin de LMC pour montrer que le stress oxydatif qui est à l'origine de l'instabilité génomique était plus élevé dans les cellules souches primitives quiescentes et moins élevé dans les progéniteurs hématopoïétiques (18).

Le traitement par les ITK entraîne une réversion de ces anomalies dans les progéniteurs mais pas dans les cellules souches primitives qui continuent à accumuler les anomalies génétiques additionnelles. Il a été étudié par des techniques moléculaires associées à des techniques de détection de cellules souches, la présence d'une mutation ABL-kinase dans les cellules souches leucémiques (10).

Ces dernières, ne sont détectables et quantifiables que par des tests fonctionnels, soit *in vitro*, soit *in vivo* par leur capacité de générer des cellules capables de s'autorenouveler et de se différencier. Ainsi, il a été montré que les cellules souches les plus primitives permettant d'initier les cultures à long-terme (LTC-IC) étaient porteuses de mutations T315I. Ces études ont montré la coexistence, dans la moelle osseuse de patients ayant développé une mutation T315I, des cellules souches exprimant BCR-ABL sauvage et celles ayant BCR-ABL muté, démontrant l'existence d'une évolution clonale sous traitement (3).

D'autres mécanismes de résistance aux ITK ont été démontrés au niveau des CSL de LMC, avec notamment la quiescence, qui est une des fonctions essentielles des cellules souches hématopoïétiques. La dormance prolongée des cellules souches leucémiques est une cause majeure de résistance et de persistance (18). Les mécanismes qui sont responsables de la persistance des CSL sont probablement intrinsèques et extrinsèques, avec notamment des signaux de survie fournis par la niche hématopoïétique.

PARTIE II. METHODOLOGIE

Notre travail consiste en une recherche bibliographique concernant la leucémie myéloïde chronique.

Nous avons trouvé intéressant de présenter en un premier temps les caractéristiques épidémiologiques de la LMC telles que l'incidence, le sexe, l'âge, les caractéristiques biologiques et cliniques, les phases de la LMC et le score pronostic, en nous basant sur des résultats émanant d'études algériennes effectuées sur des périodes différentes englobant des approches épidémiologiques.

Ceci nous a permis aussi d'effectuer une comparaison concernant les deux périodes.

Dans un deuxième volet, nous avons présenté l'apport de la biologie moléculaire dans le diagnostic et le suivi de la LMC en prenant en compte des résultats émanant d'études algériennes.

Pour cela nous avons utilisé les résultats des études suivantes :

- Etude 1 (23) : Etude épidémiologique nationale de la Leucémie Myéloïde Chronique en Algérie : travail coopératif et multicentrique sur une période de 16 ans. À propos de 1927 Cas (1994 – 2009)
- Etude 2 (24) : Approche épidémiologique de la Leucémie Myéloïde Chronique. Etude Algéro-Tunisienne à propos de 1349 cas sur 05 ans (2010 à 2014).

Il s'agit dans les deux périodes d'études rétrospectives, la source d'information était représentée essentiellement par les dossiers médicaux et les fiches de consultation des patients.

La collecte d'information était réalisée grâce à l'établissement d'une fiche technique diffusée aux différents services d'hématologie. Cette dernière était dupliquée, remplie et retournée au service d'hématologie de l'hôpital central de l'Armée (HCA) pour l'exploitation des données.

Quatorze services d'hématologie ont participé : le centre Pierre et Marie curie d'Alger, le centre hospitalo-universitaire (CHU) Beni Messous, Hôpital central de L'Armée, centre anticancéreux de Blida, CHU Tizi Ouzou, CHU de Sétif, CHU Constantine , CHU Annaba,

CHU Batna, CHU d'Oran, EHU d'Oran , CHU de Sidi Belabbes et le CHU de Tlemcen , EPH Mascara.

- Etude 3 (50) : Intérêt de la quantification par la QRT-PCR dans le diagnostic et le suivi moléculaire de la maladie résiduelle chez les patients atteints de leucémie myéloïde chronique traités par Imatinib Mesylate.

Une étude réalisée au niveau du service de biochimie de l'EHU d'Oran, de type descriptif, observationnelle à recueil prospectif sur 4 ans, entre le 1er Mars 2013 et le 31 Avril 2017, ayant concerné les patients admis au niveau du service d'hématologie et de thérapie cellulaire de l'EHU d'Oran.

Un total de 144 patients a été recruté dont 112 nouveaux cas, adressés pour confirmation diagnostique de LMC et 32 anciens patients atteints de LMC suivis au niveau du service d'hématologie et de thérapie cellulaire de l'EHU d'Oran.

Concernant l'étude de l'apport de la biologie moléculaire dans le diagnostic et le suivi de la LMC, Une RT-PCR Multiplex était réalisée à la recherche des transcrits de fusions BCR-ABL1. Le suivi moléculaire était assuré en quantifiant les transcrits de fusion par une QRT-PCR en temps réel, tous les 3 mois la première année puis tous les 3 à 6 mois selon les recommandations de l'European Leukemia Net (ELN).

Etude 4 (66) : Intérêt de la recherche des transcrits BCR-ABL par biologie moléculaire dans la leucémie myéloïde chronique.

Etude prospective réalisée au niveau du service d'immunologie de l'Hôpital Central de l'Armée « Mohamed Seghir Nakach » de Blida sur une période de 4 mois, de Février à Juin 2017 et portant sur 40 patients adressés au service d'immunologie pour suspicion de LMC.

Une fiche de renseignement a été remplie pour chaque patient incluant des informations telles que l'âge, le sexe, la région, la date de prélèvement, les manifestations clinico-biologiques et la recherche du transcrit BCR-ABL1.

PARTIE III. RESULTATS

1. CARACTERISTIQUES EPIDEMIOLOGIQUES

1.1. LMC et incidence

Le taux d'incidence de la LMC est en progression et passe de 0,19 en 1994 à 0,40 en 2004 et atteint 0,44 en 2009 selon deux études algériennes étude 1 et étude 2. Le taux d'incidence globale étant de 0,46 entre 2005 et 2009. Ce taux est de 0,56 en 2010 et grimpe à 0,57 en 2013. Le taux d'incidence globale étant de 0,53 entre 2010 et 2014. On observe un nombre moyen de nouveau cas par année de 155 de 2010 à 2014 alors qu'il n'est que de 88 entre 1994 à 2004 (tableaux 4 et 5, figures 11 et 12).

Tableau 4. Taux d'incidence de la LMC de 1994 à 2009 (23)

Année	Effectif	Taux d'incidence
1994	53	0,19
1995	69	0,25
1996	85	0,30
1997	68	0,31
1998	89	0,30
1999	74	0,25
2000	78	0,26
2001	99	0,32
2002	118	0,38
2003	105	0,33
2004	130	0,40
2005	121	0,37
2006	150	0,45
2007	170	0,50
2008	182	0,54
2009	155	0,44
Total	1746	0,34

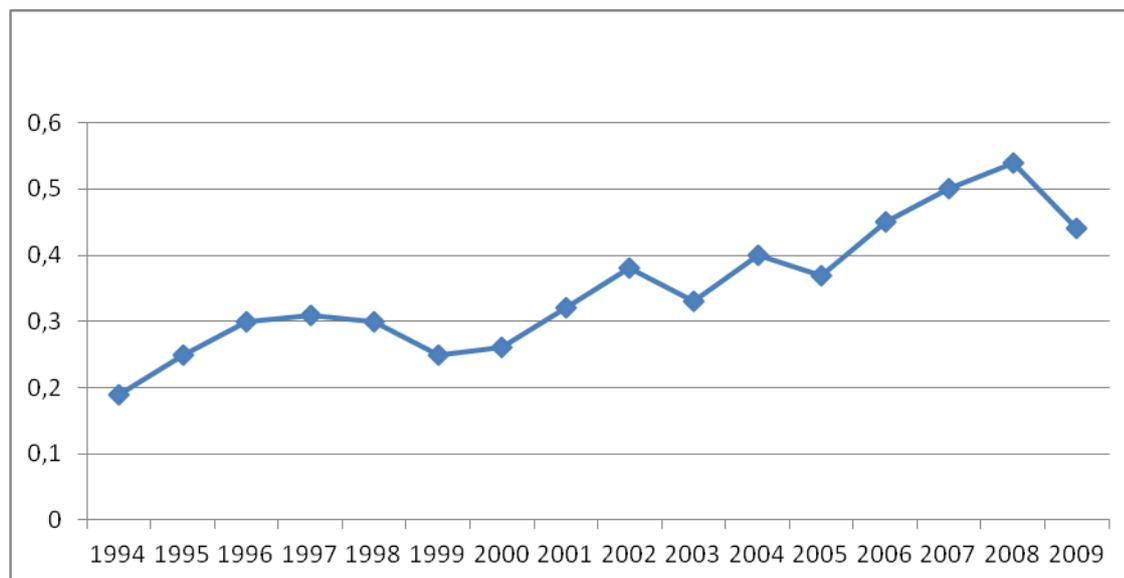


Figure 11. Taux d'incidence de la LMC de 1994 à 2009 (23)

Tableau 5. Taux d'incidence de la LMC de 2010 à 2014 (24)

Année	Effectif	Taux d'Incidence
2010	200	0,56
2011	207	0,56
2012	189	0,50
2013	219	0,57
2014	185	0,48
Total	1000	0,53

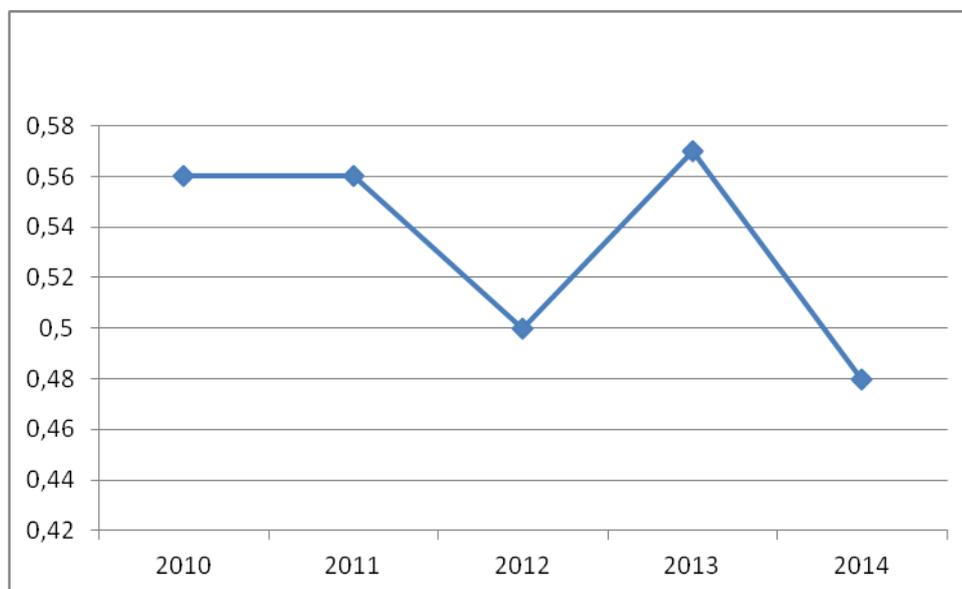


Figure 12. Taux d'incidence de la LMC de 2010 à 2014 (24)

1.2. LMC et sexe

La répartition des cas de LMC selon le sexe retrouve une légère prédominance masculine avec 927 femmes et 1000 hommes et un Sexe Ratio de 1,07 (étude1). Presque le même résultat est obtenu dans une autre étude (étude 3) ou parmi 72 patients, 37 sont des hommes (Sexe Ratio de 1,05) (tableau 6, figure 13).

Tableau 6. Répartition des cas de LMC selon le sexe (23, 50)

Sexe	H	F	Total	Sexe ratio H/F
Effectif	1000	927	1927	1,07
Fréquence %	51,89	48,10	100	
Sexe	H	F	Total	Sexe ratio H/F
Effectif	37	35	72	1,05
Fréquence %	51,38	48,61		

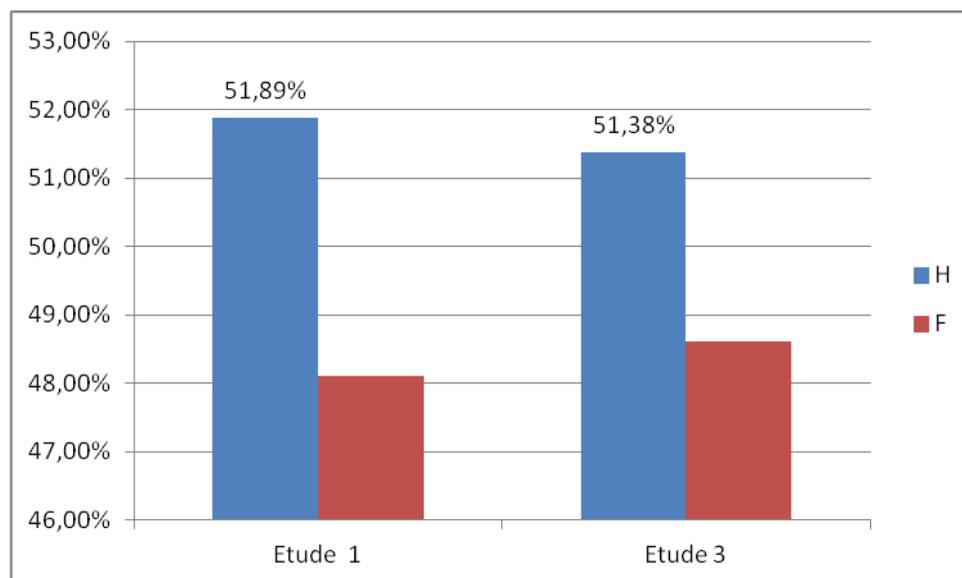


Figure 13. Répartition des cas de LMC selon le sexe (23, 50)

1.3. LMC et âge

L'âge est indiqué dans 1900 cas (étude 1) (23); l'âge moyen est de 43,5 ans ; la répartition selon les tranches d'âge retrouve un pic de fréquence dans la tranche allant de 36 à 45 ans avec un nombre de 544 cas soit 28,63% et deux autres pics l'un entre 26 et 35 ans : 449 soit 23.63% et l'autre entre 56 et 65 ans : 438 (23.05%).

Dans la deuxième étude (24), l'âge n'étant mentionné que pour 998 patients, l'âge médian étant de 48 ans, on retrouve un taux de 24,54% chez les patients dont la tranche d'âge est comprise entre 40 et 49 ans. Notons comme même que 21,74% sont des patients âgés entre 30 et 39 ans et 21,24% est le taux représentant les malades dont la tranche d'âge est comprise entre 50 et 59 ans. Donc dans les deux périodes, les taux les plus élevés de la LMC sont retrouvés chez le jeune adulte (tableau 7, figures 14 et 15).

Tableau 7. Répartition des cas de LMC selon la tranche d'âge (23, 24)

Tranche d'âge (ans)	0-15	16-25	26-35	36-45	45-55	56-65	>66	Total
Effectif	9	147	449	544	196	438	117	1900
Fréquence	4,73	7,73	23,63	28,63	10,31	23,05	6,15	100

Tranche d'âge (ans)	<20	20-29	30-39	40-49	50-59	60-69	70-79	≥80	Total
Effectif	24	120	217	245	212	113	56	11	998
Fréquence	2,4	12,02	21,74	24,54	21,24	11,32	5,61	1,1	100

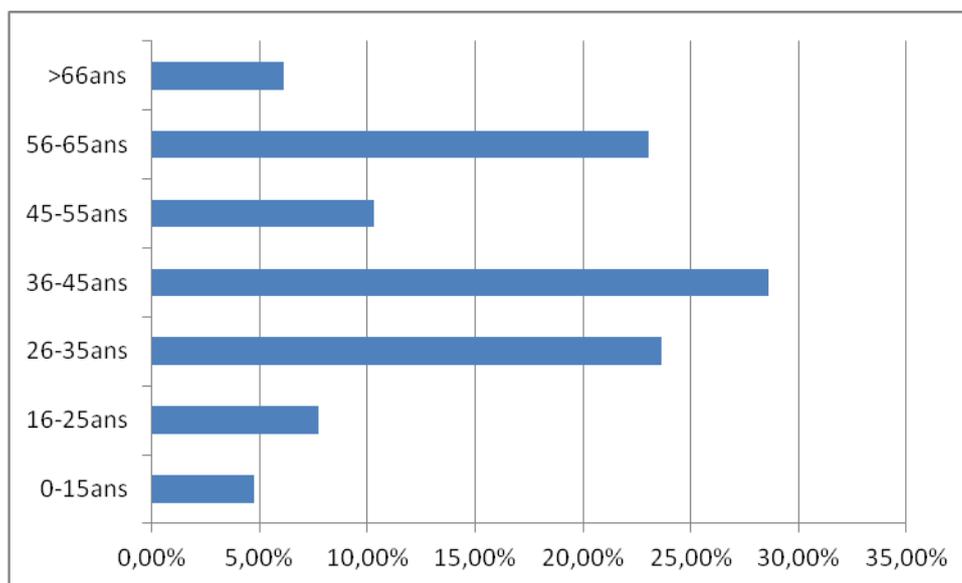


Figure 14. Répartition des cas de LMC selon la tranche d'âge (étude 1) (23)

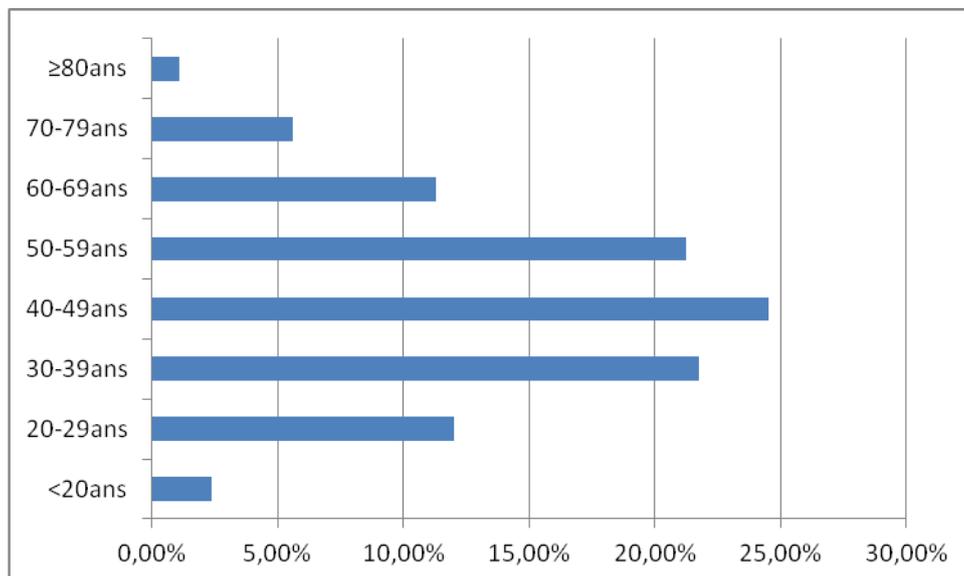


Figure 15. Répartition des cas de LMC selon la tranche d'âge (24)

1.4. LMC et caractéristiques biologiques

Les caractéristiques biologiques sont perturbées au cours de la LMC, ce qui est observé dans les deux études algériennes, étude 2 et étude 3 (23, 50).

Si on considère seulement l'hémogramme de l'étude 3 (50), il montre des résultats pathologiques dans 97,22% des cas (70 cas/ 72).

Une hyper leucocytose est observé chez 64 patients présentant un taux de 88,88%. Le nombre de leucocytes présente un intervalle de 3,21 à 2210 10^9 Leucocyte/L avec une moyenne de 123,3 10^9 Leucocyte/L.

Le nombre de plaquettes est perturbé dans 62,5% des cas, ce taux concerne 45 patients dont une thrombocytose de 86,66% des cas et une thrombopénie de 13,33 % des cas avec une moyenne de 374 10^9 G/L [55,4-2797].

L'anémie est observée chez 55 patients (76,38%) dont l'intervalle du taux d'hémoglobine va de 5,3 à 14,2 g/dl.

La myélémie est retrouvée à un taux de 95,83% avec des extrêmes allant de 4 à 80% d'après notre série (tableau 8).

Tableau 8. Répartition des cas de LMC selon les caractéristiques biologiques (24, 50)

Etude (référence)	1349	72
Caractéristique biologique		
Leucocytes (10⁹/L) Médiane, [Intervalle]	171,2 [34,7 - 984,8]	123,3 [3,21-2210]
Hémoglobine (g/dl) Médiane, [Intervalle]	10,2 [4,5-17]	9,7 [5,3-14,2]
Plaquettes (10⁹/L) Médiane, [Intervalle]	394,07 [85 - 1340]	374 [55,4-2797]
Myélémie N(%) ou % [Intervalle]	43,2 [10 - 98%]	69 (95,83)

1.5. LMC et caractéristiques cliniques

Les caractéristiques cliniques ont été mentionnées pour 1164 patients et 28 patients selon l'étude (étude 2 et étude 4). On retrouve une splénomégalie dans 81,5% et 75% des cas, une asthénie dans 44,3% et 25% des cas, un amaigrissement dans 22,6% et 21,43% et des sueurs profuses dans 13,8% et 14,29%. Les hémorragies cutanées et sous cutanées (ecchymoses et

hématomes), les douleurs osseuses et les thromboses ne sont retrouvées que dans la première étude dans les proportions suivantes : 13,5%, 7,8%, et 0,9% respectivement, ceci pourrait être expliqué par la différence de l'effectif, plus important dans l'étude 2 (24) (tableau 9).

Tableau 9. Répartition des cas de LMC selon les caractéristiques cliniques (24, 66)

Effectif	N = 1164	N = 28
Signe clinique	N(%)	N(%)
Splénomégalie	952 (81,5)	21(75)
Asthénie	516 (44,3)	7 (25)
Amaigrissement	263 (22,6)	6 (21,43)
Sueurs profuses	161 (13,8)	4 (14,29)
Hémorragies	97 (13,5)	0 (0)
Douleurs ostéo- articulaires	91 (7,8)	0(0)
Thrombose	11 (0,9)	0 (0)
Crise de goutte	9 (0,8)	0 (0)
Autres Signes	165 (14,2)	2 (7,14)

1.6. LMC et évolution

Les patients en phase chronique d'après les résultats des 2 études algériennes (étude 1 et étude 3) représentent 88% et 94,4% de la population de patients de LMC. La phase d'accélération représente des taux plus faibles (9% et 4,2%). Les taux les plus bas représentent la phase blastique affichant 3% et 1,4% (tableau 10, figure 16).

Tableau 10. Répartition des cas de LMC selon les phases de la maladie au diagnostic (24, 50)

	1195	72
LMC-PC N(%)	1051 (88)	68 (94,4)
LMC-PA N(%)	107 (9)	3 (4,2)
LMC-PB N(%)	37 (3)	1 (1,4)

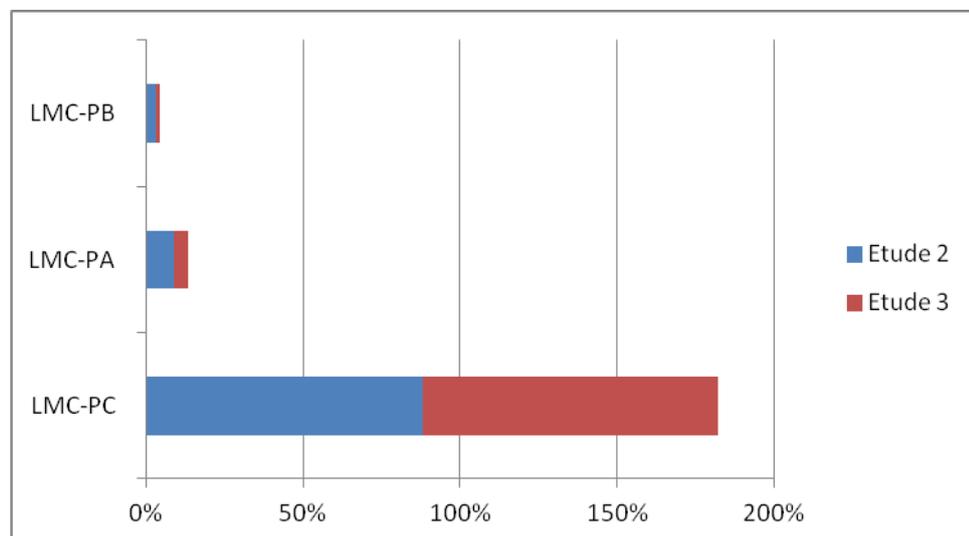


Figure 16. Répartition des cas de LMC selon les phases de la maladie au diagnostic (24, 50)

1.7. LMC et score pronosticue

Sur 591 cas de LMC, 275 patients présentaient le risque intermédiaire (46,53%), 207 patients présentaient le score élevé (35,02%) et 109 patients présentaient le risque faible (18,44%) (23).

Concernant la deuxième étude, le score de Sokal est mentionné sur les fiches dans 607 cas. On note la prédominance du risque intermédiaire qui représente 55,5% (316 cas) suivi du risque élevé dans 170 cas soit 25,8%. Le faible risque ne représente que 18,7% soit 121 cas (24) (tableau 11, figure 17).

Tableau 11. Répartition des cas de LMC selon la classification de Sokal (23, 24)

Effectif	591	607
Score Sokal		
Faible (n/%)	109 (18,44)	121 (18,7)
Intermédiaire (n/%)	275 (46,53)	316 (55,5)
Elevé (n/%)	207 (35,02)	170 (25,8)

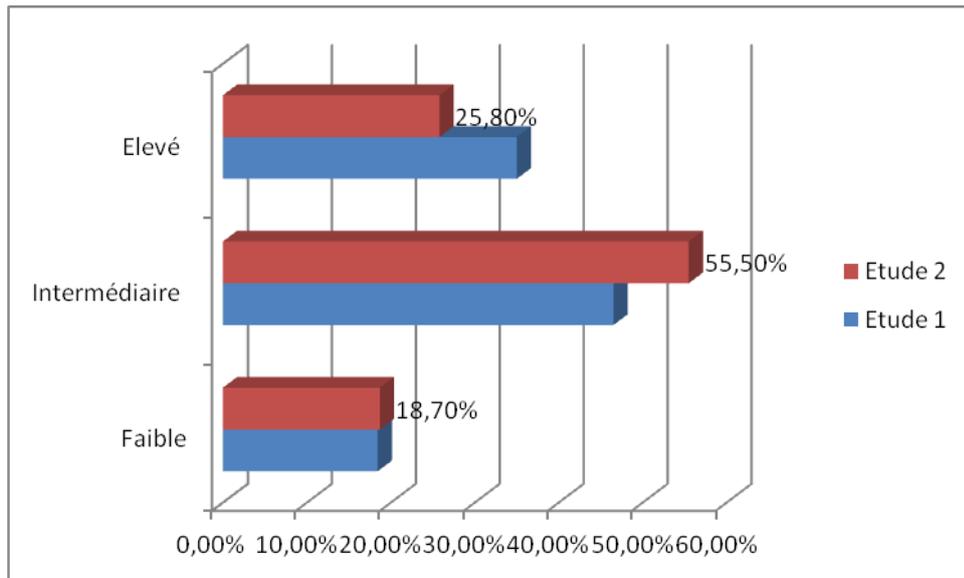


Figure 17. Répartition des cas de LMC selon la classification de Sokal (23, 24)

2. APPORT DE LA BIOLOGIE MOLECULAIRE

2.1. Dans le diagnostic de la LMC

2.1.1. Recherche du transcrit BCR-ABL1 par RT-PCR

Etude 3 (50)

L'étude moléculaire par RT-PCR et concernant 144 patients (112 nouveaux et 32 anciens) a montré les résultats suivants :

- Parmi les 112 suspicions de LMC, le diagnostic a été confirmé chez 72 patients (64,28%).
- Parmi les 32 anciens patients, le transcrit BCR-ABL1 a été identifié chez 17 malades (53,12%).

Etude 4 (66)

- Parmi les 40 cas de LMC, le diagnostic a été confirmé chez 28 patients représentant un taux élevé de 70% (tableau 12).

Tableau 12. Résultats de la RT-PCR dans Le diagnostic de la LMC

Etude/Effectif	50 (112)	50 (32)	66 (40)
N(%) identification du transcrit BCR-ABL1	72(64,28)	17(53,12)	28(70)

2.1.2. Résultats de la RT-PCR dans la recherche du type de transcrit BCR-ABL1

Etude 3 (50)

- Parmi 89 patients (72 nouveaux et 17 anciens), ou le transcrit BCR-ABL1 a pu être détecté, 87 patients, 52 (58,4%) ont présenté le transcrit majeur b3a2, 35 patients (39, 3 %) le transcrit b2a2. Un transcrit rare a été observé chez deux patients, il s'agit du transcrit e19a2 (2,2%) (tableau 13, figure 18).

Tableau 13. Type de transcrit BCR-ABL1

Type de transcrit	Anciens malades (17/32)	Nouveaux malades (72/112)	Total (89/ 144)
b3a2	9 (52,94)	43 (59,7)	52 (58,4%)
b2a2	7 (41,17)	28 (38,8)	35 (39, 3 %)
e19a2	1 (0,58)	1 (1,3)	2 (2,2%)

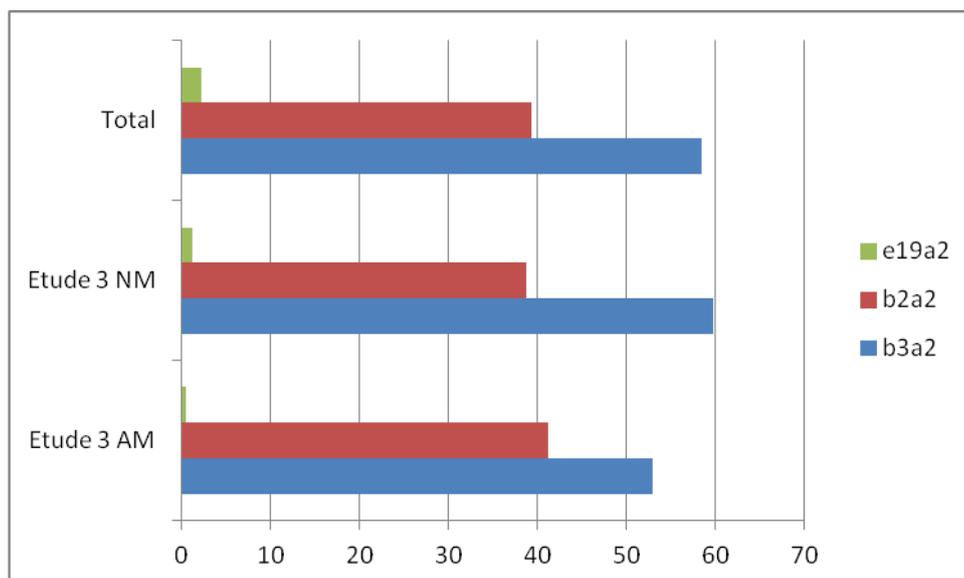


Figure 18. Type de transcrit BCR-ABL1

2.2. Dans le suivi de la maladie

Résultats de la RT-QPCR dans la recherche du type de transcrit BCR-ABL1

Nous présentons les résultats de la quantification du transcrit BCR-ABL1 par RT-QPCR et de la qualité de réponse au traitement de l'étude 3 (50).

➤ Parmi 32 anciens patients :

- ✓ Chez 17 patients dont le transcrit BCR-ABL1 a été identifié, 4 types de réponses ont été retrouvés (tableau 14).

Tableau 14. Fréquence et type de réponse moléculaire chez 17 patients dont le transcrit BCR-ABL1 a été identifié

Statut	N (%)
Réponse optimale (RO)	4 (23,52)
Réponse sub-optimale (alerte)	5 (29,41)
Echec Thérapeutique (ET)	5 (29,41)
Perte de réponse moléculaire (PRM)	3 (17,64)

Tableau 15. Fréquence et type de réponse moléculaire chez 15 patients dont le transcrit BCR-ABL1 n'a pas été identifié

Statut	N (%)
Réponse moléculaire majeure(RMM) RM³	4 (26,66)
Réponse moléculaire profonde (RM⁴)	6 (40)
Réponse moléculaire profonde (RM^{4,5})	2 (13,13)
Réponse moléculaire profonde (RM⁵)	3 (20)

➤ Chez 15 patients dont le transcrit BCR-ABL1 n'a pas été identifié, 4 types de réponse ont été rencontrés (tableau 15).

➤ **Parmi les 72 nouveaux patients.**

- 55 patients diagnostiqués et mis sous IM comme traitement de première intention ont bénéficié d'un suivi moléculaire régulier tous les trois mois pendant la première année (tableau 16).

- Une réponse moléculaire majeure (RMM) n'a été obtenue qu'à partir de 12 mois.

- A 12 mois

Sur 44 patients, 23 (52%) ont obtenu une RMM dont :

- 16 patients (36,4%) étaient en RM³ (réduction de 3 log₁₀).
- 07 patients (15,9%) étaient en réponse moléculaire profonde (RMP) :
 - ✓ 06 patients en RM4 (réduction de 4 log¹⁰).
 - ✓ 01 patient en RM^{4.5} (réduction de 4.5 log¹⁰).

- A 18 mois

La proportion de patients ayant obtenu une RMM a augmenté passant de 52% à 67,5% (27/40).

- 17 patients (43,6%) étaient en RM³.
- 10 patients (25,7%) étaient en RMP :
 - ✓ 03 patients en RM⁴.
 - ✓ 04 patients en RM^{4.5}.
 - ✓ 03 patients en RM⁵.

- A 24 mois

La proportion de patients ayant obtenu une RMM a augmenté atteignant 75% (21/28).

- 10 patients en RM³.
- 11 patients en RMP :
 - ✓ 02 patients en RM⁴.
 - ✓ 06 patients en RM^{4.5}.
 - ✓ 03 patients en RM⁵.

Tableau 16. Fréquence et type de réponse moléculaire durant les 24 mois du traitement chez 72 nouveaux patients

Statut	03 mois (54)	06 mois (53)	12 mois (44)	18 mois (40)	24 mois (28)
Réponse optimale (RO) ≤ 10%	32 (59,25)	26 (58)			
Réponse sub-optimale ≥ 10 %	22 (41)	18 (34)	11 (25)		
Echec thérapeutique		9 (17)	10 (22,72)		
Perte de réponse moléculaire					
Réponse moléculaire majeure(RMM) RM ³			16 (36,36)	17 (42,5)	10 (35,71)
Réponse moléculaire profonde (RMP ⁴)			6 (13,63)	3 (7,5)	2 (7,14)
Réponse moléculaire profonde (RMP ^{4.5})			1 (2,27)	4 (10)	5 (21,42)
Réponse moléculaire profonde (RMP ⁵)				3 (7,5)	3 (10,71)

Annotations de pourcentage :

- 52% : rapport entre RMP⁴ et RMM
- 67,5% : rapport entre RMP^{4.5} et RMM
- 75% : rapport entre RMP^{4.5} et RMP⁴

2.3. Recherche de mutations

Une résistance au traitement par ITK est parfois observée ; elle peut être liée à l'apparition de mutations dans le gène *BCR-ABL*. Ces mutations, recherchées par séquençage selon la méthode Sanger, sont responsables de différentes résistances aux ITK ; notamment, la mutation T315I entraînant une résistance à tous les ITK actuellement disponibles.

Dans l'étude algérienne 3 (50), une recherche de mutation de résistance a été effectuée chez les 18 patients soit en échec thérapeutique soit qui ont perdu leur réponse moléculaire pendant les 24 mois du suivi.

Quatre patients ont présenté des mutations (22,22%) :

- Un patient a présenté une mutation V299L, ce type de mutation confère une résistance plus forte.
- Un patient a présenté une mutation M244V, mutation partiellement sensible au traitement.
- Un patient a présenté une double mutation E355G et M244V, il s'agit de mutations composées monoclonales induisant souvent une résistance plus forte aux ITK.

Un patient a présenté une double mutation, Q252H partiellement sensible au traitement et T3151, conférant une résistance à tous les ITK (tableau 17).

Tableau 17. Type de mutation

Patient	Type de mutation	Substitution	Localisation
01	V299L	Valine en Leucine	Exon 5
02	M244V	Méthionine en Valine	Exon 4
03	E355G	Glutamate en Glycine	Exon 6
	M244V	Méthionine en Valine	Exon 4
04	Q252H	Glutamine en Histidine	Exon 4
	T3151	Thréonine en Isoleucine	Exon 6

DISCUSSION

LMC et caractéristiques épidémiologiques

Le taux d'incidence de la LMC est en progression en Algérie et passe de 0,19 en 1994 à 0,53 entre 2010 et 2014. On observe un nombre moyen de nouveau cas par année de 155 de 2010 à 2014 alors qu'il n'était que de 88 entre 1994 à 2004.

Ce taux fait de l'Algérie une zone d'incidence relativement faible comparée aux séries publiées où l'incidence rapportée varie entre 1 à 2/100 000 habitants.

La leucémie myéloïde chronique (LMC) est une hémopathie maligne rare dont le pronostic a été transformé à partir des années 2000 par les inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK). L'augmentation spectaculaire de l'espérance de vie des patients a conduit à une augmentation de la prévalence de la LMC. D'une maladie mortelle à moyen terme, la LMC est devenue une maladie chronique nécessitant la prise quotidienne d'ITK pendant plusieurs années. Son incidence est d'environ 1 cas par an pour 100 000 habitants, soit, en France, environ un peu moins de 1 000 nouveaux cas par an. Son incidence a tendance à augmenter, probablement en raison de l'allongement de l'espérance de vie **(36)**. La répartition des cas de LMC selon le sexe retrouve une légère prédominance masculine dans les deux périodes avec une légère différence (1,05-1,07),

Une prédominance masculine plus élevée est observée lors d'autres études comme celle menée au Niger avec un sexe ratio égal à 1,6 **(6)**. Des résultats plus bas sont observés dans d'autres études avec même une prédominance féminine (sexe ratio se 0,66) **(36, 41)**.

Une espérance de vie plus élevée chez les femmes pourrait expliquer le fait que le sex-ratio de cette hémopathie soit inversé.

L'âge est indiqué dans 1900 cas ; l'âge moyen est de 43,5 ans ; la répartition selon les tranches d'âge retrouve un pic de fréquence dans la tranche allant de 36 à 45 ans avec un nombre de 544 cas soit 28,63% et deux autres pics l'un entre 26 et 35 ans : 449 soit 23.63% et l'autre entre 56 et 65 ans: 438 (23.05%).

Dans la deuxième étude, l'âge médian étant de 48 ans, on retrouve un taux de 24,54% chez les patients dont la tranche d'âge est comprise entre 40 et 49 ans. Notons comme même que 21,74% sont des patients âgés entre 30 et 39 ans et 21,24% est le taux représentant les malades dont la tranche d'âge est comprise entre 50 et 59 ans. Donc dans les deux périodes, les taux les plus élevés de la LMC sont retrouvés chez le jeune adulte.

Les mêmes résultats sont retrouvés dans une étude menée en France en 2018, sur 383 patients atteints de LMC, l'âge moyen est de 47 ans **(36)**.

L'âge moyen des patients est plus avancé dans une étude marocaine, il est de 54,5 ans avec des extrêmes allant de 30 à 73 ans. Un maximum de fréquence est observé dans la tranche d'âge comprise entre 50 et 59 ans (40%) **(6)**.

L'hémogramme est l'examen le plus important car il permet à lui seul d'évoquer le diagnostic.

L'hyperleucocytose lors d'une LMC est franche, supérieure à 20×10^9 Leucocytes/L, majoritairement composée de polynucléaires neutrophiles, associée à une basophilie et à une éosinophilie. La myélémie est constante et harmonieuse, sans hiatus de différenciation, et la blastose est faible lors de la phase chronique ($< 5\%$) **(7)**.

Selon les données algériennes, L'hyperleucocytose a été observée avec un taux moyen de $123,3 \times 10^9$ Leucocytes/L et des extrêmes allant de 3,21 à 2210×10^9 Leucocyte/L. Le taux moyen des plaquettes était de 374×10^9 G/L avec des extrêmes de 55,4 et 2797 et l'intervalle du taux d'hémoglobine allait de 5,3 à 14,2 g/l.

L'hyperleucocytose a été observée avec des taux moyens de 196,9 (54 à 284) et 296 G/L (extrêmes : 85-342) dans deux études africaines **(6, 41)**. Les valeurs d'hémoglobine variaient entre 7,6 et 12,7g/dl avec une moyenne de 10,4g/dl et 9,35 g/dl (extrêmes : 6-12,1). Le taux moyen des plaquettes était plus élevé, de 575 G/L (extrêmes : 158-740) et de 632,2 (168-1 600).

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 **(26)**.

La myélémie est retrouvée à un taux de 95,83% avec des extrêmes allant de 4 à 80% d'après notre série.

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 (44), constituée de métamyélocytes, de myélocytes et quelques promyélocytes et plus rarement de myéloblastes .

Concernant les caractéristiques cliniques, les patients atteints de LMC sont souvent asymptomatiques au début; La maladie est donc généralement découverte fortuitement, à l'occasion d'un bilan sanguin ou d'une échographie de la région abdominale. Puis la survenue insidieuse de symptômes non spécifiques (par exemple, fatigue, asthénie, anorexie, amaigrissement, sudations nocturnes, sensation de plénitude abdominale particulièrement dans l'hypochondre gauche, d'une arthrite goutteuse, de symptômes de leucostase tels que des acouphènes, une stupeur et une urticaire), peut motiver une consultation.

Initialement, il est inhabituel de constater une pâleur, des hémorragies et des adénopathies; mais la mise en évidence d'une splénomégalie (modérée ou plus rarement volumineuse) est plus fréquente (60 à 70% des cas). Avec la progression de la maladie, la splénomégalie peut devenir très volumineuse et s'accompagner d'une pâleur et d'hémorragies. La fièvre, des adénopathies et une atteinte cutanée maculo- papuleuse sont des signes traduisant l'évolution de la maladie (49).

Parmi les caractéristiques cliniques, et dans l'étude algérienne , 952 parmi les 1116 (81,7%) atteints de LMC présentent une splénomégalie à différents stades.

Sur le plan clinique la splénomégalie était présente chez tous les patients (100%) dans beaucoup d'études patients (6, 48-49), isolée ou associée à une hépatomégalie (46, 58) ou à une adénopathie (1).

La leucémie myéloïde chronique (LMC) est un syndrome myéloprolifératif rare évoluant classiquement en trois phases : après une phase chronique ou stable de 4 ans environ, les

malades présentent une phase accélérée puis une crise blastique à partir de laquelle la médiane de vie n'est que de trois mois.

Les patients en phase chronique d'après les résultats des 2 études algériennes représentent 88% et 94,4% de la population de patients de LMC. Ces données rejoignent les résultats obtenus dans d'autres séries comme l'étude de Smith *et al* et celle de Tardieu *et al* (97,1% et 96,8% respectivement) (**59, 62**).

Pour l'évaluation pronostique, les deux études algériennes ont utilisé le score de Sokal retrouvant ainsi 55% et 40% des patients à risque intermédiaire. Ces résultats coïncident avec ceux retrouvés dans d'autres études ou des taux de 52% et de 49% sont retrouvés concernant le risque intermédiaire (**1, 26**).

Il faut souligner le fait que dans certaines études, les taux de patients à risque de Sokal élevé sont retrouvés comme l'étude de menée en 2018 au Maroc ou ce taux a atteint 60%

La différence constatée entre ces séries peut être expliquée par le retard du diagnostic.

D'autres scores pronostiques ont 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. Cette classification est nécessaire voire indispensable d'autant plus que son application est aisée puisqu'elle tient compte de paramètres très simples et rapidement disponibles (âge, taille du débord splé- nique en cm, % de blastes sanguins, taux de plaquettes, taux d'hématocrite et sexe).

LMC et biologie moléculaire

Selon l'étude algérienne effectuée sur deux groupes de malades, le transcrit de fusion BCR-ABL qui a été détecté présente le transcrit majeur dont le type b3a2 est plus fréquent dans 52,94% et 59,7% des cas, alors que le transcrit de type b2a2 est retrouvé dans 41,17% et 38,9%. On a noté par ailleurs la présence d'un transcrit de type e19a2 (0,4 % et 1,3%).

Selon les données de la littérature, plusieurs études ont rapporté des fréquences variables des transcrits b3a2, b2a2 et e19a2. le transcrit de type b3a2 est le plus fréquemment rencontré dans beaucoup d'études (**5, 58, 65**).

Dans une étude menée en France depuis 1993, il a été obtenu les taux suivants : b3a2 (50%), b2a2 (42,85%) et aussi les deux transcrits chez le même malade (7,14%) (**65**).

Dans une autre étude comportant une série de 45 503 patients atteints de LMC nouvellement diagnostiqués dans 45 pays, il a été constaté que la proportion des transcrits b3a2 et b2a2, était de 62,1 %, et de 37,9 % respectivement.

Des résultats contradictoires ont été obtenus dans l'étude tinsienne de Bennour et al portant sur 40 cas de LMC ou le taux du transcrit b2a2 était deux fois plus élevé que celui du transcrit b3a2 (63,63% vs 36,36%) (80). Ceci a été aussi observé en Syrie (57,1% vs 14,3%) et au Soudan (53,5% vs 41,9%) (81, 82). La fréquence élevée du transcrit b2a2 par rapport au transcrit b3a2 pourrait être expliqué par la différence du profil génétique chez ces populations.

Chose intéressante est que la proportion de ces deux transcrits était corrélée au sexe, b2a2 étant plus fréquente chez les hommes (39,2 %) que chez les femmes (36,2 %), était corrélée à l'âge, passant de 39,6 % chez les enfants et les adolescents à 31,6 % chez les patients ≥ 80 ans, et n'était pas constant dans le monde entier.

D'autres transcrits rares ont été rapportés chez 666/34561 patients (1,93%). La proportion de transcrits rares était associée au sexe (2,27 % chez les femmes et 1,69 % chez les hommes) et

à l'âge (de 1,79 % chez les enfants et les adolescents jusqu'à 3,84 % chez les patients ≥ 80 ans) (5).

Ces données montrent que les différences de proportion ne sont pas le fruit du hasard. Ceci est important, car le type de transcription est une variable suspectée d'avoir une importance pronostique pour la réponse au traitement, le résultat du traitement et le taux de rémission sans traitement.

Le suivi moléculaire est réalisé en quantifiant les transcrits BCR-ABL1 par la technique RQ-PCR, méthode de référence pour la quantification des transcrits de fusion BCR-ABL1 nécessaire pour le suivi moléculaire permettant de quantifier avec une grande spécificité et sensibilité (une cellule leucémique sur un million de cellules analysées) les ARN messagers BCR-ABL1. Ceci permettra l'évaluation de la qualité de réponse au traitement dans le temps.

D'après les résultats de la première étude algérienne, le suivi moléculaire a permis de répartir les patients sous traitement en trois groupes :

➤ Patients ayant une réponse optimale (bonne réponse)

Ces patients avaient une baisse du taux de ratio BCR-ABL1, le traitement a permis d'obtenir une rémission moléculaire, d'où l'efficacité du traitement.

➤ Patients ayant une réponse sub-optimale (rechute)

Ces patients ont répondu au traitement au début, mais avec le temps, le taux de BCR-ABL1 a augmenté, d'où l'acquisition de résistance au traitement.

➤ Patients en échec thérapeutique

Ces patients avaient une augmentation du taux du transcrit BCR-ABL1, après chaque contrôle. Ceci pourrait être expliqué par le fait que n'ayant pas bénéficié de la thérapie dès le diagnostic, les patients n'ont pas répondu au traitement.

La PCR en temps réel confirme le diagnostic de la LMC en confirmant la présence du transcrit de fusion BCR-ABLI permettant le diagnostic des cas de LMC (Ph+ : 95%) et (Ph- : 5%).

D'après les données de l'étude algérienne, nous avons remarqué une augmentation des taux de RMM corrélée avec une réduction d'au moins 3 log₁₀. Cette augmentation de la RMM a atteint des taux de 52, 67 et 75% à 12, 18 et 24 mois. Branford *et al* ont trouvé presque les mêmes résultats : 50, 64 et 72 % à 12, 18 et 24 mois (**14**).

La proportion des patients ayant obtenu une RM3 a augmenté de 36,36 à 42,4% entre 12 et 18 mois puis a diminué à 35,71% au profit de la RMP. La proportion des patients ayant obtenu une RM^{4.5} est passée de 2,27% à 12 mois, a atteint 10% à 18 mois puis 21,42% à 24 mois. Une RM5 est obtenue à 18 mois (7,5%) atteignant 10, 71% à 24 mois.

Des taux indétectables des transcrits BCR-ABL1 témoigneraient de l'élimination du clone leucémique et un niveau indétectable de l'ARNm BCR-ABL1 définit une réponse moléculaire complète (RMC). Cette réduction de la charge leucémique est le reflet direct de l'effet anti-tumoral du traitement.

Il a été curieusement constaté que la cinétique de réduction est différente selon le type de transcrit. La décroissance du transcrit BCR-ABL1 est plus rapide concernant le type b3a2 que b2a2.

Les inhibiteurs de tyrosine kinase de première et de seconde génération représentent sans conteste une avancée thérapeutique majeure dans le traitement de la LMC. Cependant l'émergence de mutants résistants amène aujourd'hui les chercheurs sur une multitude de nouvelles pistes comme l'utilisation des ITK de deuxième génération en première intention, de nouveaux ITK, actifs sur la mutation T315I. Les vaccins thérapeutiques sont également à l'étude (**35**).

Le mécanisme de résistance aux ITK le plus étudié et le plus fréquent semble être le développement de mutations ponctuelles dans le domaine ITK d'ABL1 (**61**).

Dans l'étude algérienne, une recherche de mutation de résistance a été effectuée chez les 18 patients soit en échec thérapeutique soit qui ont perdu leur réponse moléculaire pendant les 24 mois du suivi et quatre patients ont présenté des mutations (22,22%).

Dans une étude marocaine menée en 2021 (11), 21,42% des patients ont présenté une mutation, il s'agit des mutations F378V, F378C et K375M, dont l'emplacement est sur la gène ABL1, codant pour la protéine ABL1 qui fonctionne comme une kinase, une enzyme qui modifie l'activité d'autres protéines en ajoutant un groupe d'atomes d'oxygène et de phosphore (un groupe phosphate) à des positions spécifiques. Les mutations du domaine kinase BCR-ABL conduisent à la perte de la liaison ITK via la substitution d'acides aminés et par conséquent à une forte dérégulation et perte de l'activité Kinase de l'oncoprotéine.

Ces mutations représentent 50 à 90 % des résistances. La région fonctionnelle du gène ABL1 altérée est principalement la boucle P, site de fixation pour le phosphate de l'ATP, entraîne une diminution d'affinité pour l'imatinib.

Il est par ailleurs établi que les mutations intervenant dans la boucle P sont de très mauvais pronostic avec un taux de progression vers la phase accélérée ou blastique.

L'ITK de deuxième génération est indiqué dans la LMC en phase chronique, accélérée ou blastique, en cas de résistance ou d'intolérance à un traitement antérieur incluant l'imatinib (35). C'est un inhibiteur puissant, plus de 300 fois l'activité in vitro de l'imatinib, actif sur la plupart des mutations de la protéine BCR-ABL, sauf la T315I, il se fixe sur les formes active et inactive de celle-ci.

Notons par ailleurs, que pour les patients échouant au traitement ou ceux qui ont perdu la réponse moléculaire, et dont aucune mutation de résistance n'a été décelée, un polymorphisme génétique touchant des gènes transporteurs de médicaments pourrait entraîner une résistance. Le mécanisme le plus connu est la pompe à efflux due à une surexpression de la protéine responsable de l'expulsion de l'ITK à l'extérieur de la cellule comme la p-glycoprotéine codée par le gène MDR (multidrug resistance) augmentant le transport de l'ITK vers l'extérieur de la cellule (2).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

la leucémie myéloïde chronique, modèle en onco-hématologie et anomalie chromosomique décrite dans une affection maligne, est associée à une anomalie génétique récurrente : le chromosome Philadelphie, translocation réciproque équilibrée t(9 ; 22), qui aboutit à un gène de fusion BCR-ABL, puis une protéine anormale à activité tyrosine kinase, responsable de la transformation leucémique.

C'est également la première maladie où la thérapie moléculaire ciblée a été utilisée avec succès; dont l'imatinib qui a bouleversé la prise en charge de la maladie ; et la LMC est passée au statut de maladie chronique.

Néanmoins la résistance à ce médicament a donné naissance au développement des ITK de deuxième et troisième génération, traitements ambulatoires qui ont permis de meilleures réponses hématologiques, cytogénétiques et moléculaires, associées à une meilleure qualité de vie des patients.

Cependant, l'apparition de mutants résistants a orienté les chercheurs vers de nouvelles pistes thérapeutiques, pourtant l'allogreffe de cellules souches hématopoïétique reste le seul traitement curatif à l'heure actuelle.

Le traitement de la LMC par les ITK est efficace, cependant la biologie moléculaire est nécessaire pour le diagnostic et le monitoring pour pouvoir accéder au traitement.

La connaissance des bases moléculaires de cette affection a permis également de développer des techniques plus sensibles et plus robustes pour assurer une prise en charge des patients à partir du diagnostic jusqu'à l'étape du suivi, notamment la RT-PCR et la RQ-PCR ainsi que les différents outils de mise en évidence des mutations du domaine tyrosine kinase, à savoir le séquençage direct et le séquençage haut débit.

La sensibilité, la standardisation et l'automatisation de ces techniques apportent un puissant outil pour assurer le diagnostic chez les patients porteurs des transcrits majeurs et évaluer par la suite la réponse moléculaire, permettant ainsi d'identifier plus rapidement les patients en échec ou à risque élevé d'échec et de mieux appréhender le pronostic pour établir une stratégie thérapeutique optimale.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

En effet, la RT-PCR est indispensable au diagnostic et au suivi moléculaire adapté. La QR-PCR représente un outil puissant pour le suivi moléculaire pour évaluer l'efficacité du traitement, surveiller la réponse et déterminer au plus vite les patients résistants.

Un diagnostic et un traitement précoce permettent une meilleure stabilisation de la maladie sans aller à l'allogreffe des CSH. Cependant, il reste l'inconvénient du coût du traitement, sa durée et rareté des laboratoires spécialisés dans l'étude moléculaire, surtout en Algérie.

D'autres domaines de recherches devraient être développés dans le domaine de la génétique, concernant l'identification de marqueurs génétiques impliqués dans la réponse moléculaire. La mise en évidence de ces marqueurs permettra d'identifier les individus ayant plus de chance d'obtenir les meilleures réponses et ceux à haut risque de développer une résistance. La recherche des polymorphismes génétiques touchant des gènes transporteurs de médicaments serait intéressante.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Agharbi FZ. La leucémie myéloïde chronique, avancées diagnostiques et thérapeutiques (à propos de 23 cas), Thèse de doctorat en médecine, FES, Maroc.
2. Apperley JF. (2007). Mechanisms of resistance to imatinib in chronic myeloid leukaemia. *The lancet oncology*. 8(11) : 1018-29.
3. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, *et al.* (2016). The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 127(20):2391-405.
4. Baccarani M, Pileri S, Steegmann JL, *et al.* (2012). Chronic myeloid leukemia: ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 23 : 72-7.
5. Baccarani M, Castagnetti F, Gugliotta G, Rosti G, Soverini S, Albeer A, *et al.* (2019). The proportion of different BCR-ABL1 transcript types in chronic myeloid leukemia. An international overview *Leukemia*. 33 : 1173–1183.
6. Bade MA, Andia A, Djibrilla A, Beydou A, Brah S, Daou M, *et al.* (2015). Chronic myeloid leukemia treatment with tyrosine kinase inhibitors Experience of Niger. *Health Sci Dis*. 16 (3) 1-4.
7. Baunin V. (2013). La leucémie myéloïde chronique de l'enfant et de l'adolescent : réarrangements moléculaires *BCR-ABL1* au diagnostic. Thèse de doctorat en ligne. Université de Poitiers, France. 216p.
8. Benaouda A. (2010). Approches épidémiologiques de la leucémie myéloïde chronique à Tlemcen. Mémoire de Master, Université de Tlemcen, Algérie, 49p.
9. Bennour A, Ouahchi I, Achour B, Zaier M, Youssef YB, Khelif A, *et al.* (2013). Analysis of the clinico-hematological relevance of the breakpoint location within M-BCR in chronic myeloid leukemia. *Medical Oncology*. 30(1) : 348.
10. Bolton-Gillespie E, Schemionek M, Klein HU, Flis S, Hoser G, Lange T *et al.* (2013). Genomic instability may originate from imatinib-refractory chronic myeloid leukemia stem cells. *Blood*. 121:4175-83.
11. Bouarfa W. (2021). Leucémie myéloïde chronique : suivi moléculaire et recherche des mutations de résistance aux inhibiteurs de la tyrosine kinase. Université Mohammed V – Rabat, Maroc. 81 p.
12. Bouyer S. (2017). La leucémie myéloïde chronique de l'enfant et de l'adolescent : caractéristiques biologiques et cliniques au diagnostic. 07:3.
13. Brandt L. (1985). Environmental factors and leukaemia. *Med Oncol Tumor Pharmacother*. 2(1):7-10.
14. Branford S, Rudzki Z, Harper A, Grigg A, Taylor K, Durrant S, *et al.* (2003). Imatinib produces significantly superior molecular responses compared to interferon alfa plus

- cytarabine in patients with newly diagnosed chronic myeloid leukemia in chronic phase. *Leukemia*. 17 (12) : 2401–9.
15. Burmeister T, Reinhardt. (2008). A multiplex PCR for improved detection of typical and atypical BCR-ABL fusion transcripts. *Leukemia research*. 32(4) : 579-85.
16. Cayuela JM, Huguet F. (2012). Chronic myeloid leukemia (CML) diagnosis in 2012. *Oncologie*. 14 : 561–568.
17. Chomel JC, Sorel N, Bonnet ML, Bertrand A, Brizard F, Saulnier PJ, et al. (2009). Quantitative monitoring of the T315I mutation in patients with chronic myeloid leukemia (CML). *Leuk Res*. 33:551-5.
18. Chomel JC, Sorel N, Bonnet ML, Bertrand A, Brizard F, Roy L, et al. (2010). Extensive analysis of the T315I substitution and detection of additional ABL mutations in progenitors and primitive stem cell compartment in a patient with tyrosine kinase inhibitor-resistant chronic myeloid leukemia. *Leuk Lymphoma*. 51:2103-11.
19. Chomel JC, Turhan AG. (2011). Chronic myeloid leukemia stem cells in the era of targeted therapies: resistance, persistence and long-term dormancy. *Oncotarget*. 2:713-727.
20. Costello R, Bouabdallah R, Sainty D, Gastaut J, Gabert J. (1996). La leucémie myéloïde chronique, aspects biologiques. *Rev Médecine Interne*. 17(3):213-23.
21. Daley GQ, Van Etten RA, Baltimore D. (1990) Induction of chronic myelogenous leukemia in mice by the P210bcr/abl gene of the Philadelphia chromosome. *Science*. 247 : 824-30.
22. De la Fuente J, Baruchel A, Biondi A, de Bont E, Dresse M-F, Suttorp M, et al. (2014) Managing children with chronic myeloid leukaemia (CML): recommendations for the management of CML in children and young people up to the age of 18 years. *Br J Haematol*. 167(1):33-47.
23. Djouadi-Lahlou K. (2010). Etude Epidémiologique Nationale de la leucémie myéloïde chronique en Algérie : travail coopératif et multicentrique sur une période de 16 ans. À propos de 1927 Cas (1994 – 2009). *Revue Algérienne d’hématologie*. 3 : 1-10.
24. Djouadi K, Abdennebi N, Harieche F, Ahmed Nacer R, Hamladji RM, Bouchakour A, et al. (2017). Approche épidémiologique de la leucémie myéloïde chronique : Approche épidémiologique de la Leucémie Myéloïde Chronique étude Algéro-Tunisienne à propos de 1349 cas sur 05 ans (2010 à 2014). *Revue Algérienne d’Hématologie*. 13(14) : 7-13.
25. Druker BJ, Tamura S, Buchdunger E, Ohno S, Segal GM, Fanning S, et al. (1996). Effects of a selective inhibitor of the Abl tyrosine kinase on the growth of Bcr-Abl positive cells. *Nat Med*. 2(5): 561-6.
26. El mouhdi G. (2015). Les aspects cliniques et cytogénétique de la leucémie myéloïde chronique, Thèse de doctorat en ligne. Université Sidi Mohammed Ben Abdelah, Maroc. 62p.

27. Faderl S, Talpaz M, Estrov Z, O'Brien S, Kurzrock R, Kantarjian HM. (1999). The Biology of Chronic Myeloid Leukemia. Epstein FH, éditeur. *N Engl J Med.* 341(3):164-72.
28. Farhat-Maghribi S, Habbal W, Monem F. (2016). Frequency of BCR-ABL Transcript Types in Syrian CML Patients. *Journal of oncology.* 2016 : 1-5.
29. Gendron N, Belhouachi N, Morel V, Azgui Z, Maloum K, Nguyen-Khac F, *et al.* (2014). Chronic myeloid leukemia with variant e19a2 BCR-ABL1 fusion transcript: interest of the molecular identification at diagnosis for minimal residual disease follow-up. *Ann Biol Clin.* 72(3):359-66.
30. Gonon-Demoulian R, Goldman JM, Nicolini FE. (2014). Historique de la leucémie myéloïde chronique : un paradigme de traitement du cancer. *Bull Cancer.* 101(1) : 56-67.
31. Gratwohl A, Favre G. (2005). La leucémie myéloïde chronique. *Revue Médicale Suisse.* 1 : 1631-5.
32. Groffen J, Stephenson JR, Heisterkamp N, *et al.* (1984). Philadelphia chromosomal breakpoints are clustered within a limited region, bcr, on chromosome 22. *Cell.* 36 : 93-9.
33. Hasford J, Pfirrmann M, Hehlmann R, Allan NC, Baccarani M, Kluin-Nelemans JC, *et al.* (1998). A new prognostic score for survival of patients with chronic myeloid leukemia treated with 148 interferon alfa. Writing Committee for the Collaborative CML Prognostic Factors Project Group. *J Natl Cancer Inst.* 90(11):850-8.
34. Hehlmann R, Hochhaus A, Baccarani M (2007). Chronic myeloid leukaemia. *Lancet.* 370 (9584): 342-50.
35. Herlet S. (2010). Les inhibiteurs de tyrosine kinase dans le traitement de la leucémie myéloïde chronique chez l'adulte : Du Glivec® aux traitements de deuxième génération. Conséquence de la sortie de la réserve hospitalière pour le pharmacien d'officine. HAL-01738807.
36. Heurteau - Foulon S. (2019). Prévalence, qualité de vie et coût de la Leucémie Myéloïde Chronique en France. Thèse de doctorat, Santé Publique - Epidémiologie Université Paris-Saclay, France. 231 p.
37. Hughes T, Deininger M, Hochhaus A, *et al.* (2006). Monitoring CML patients responding to treatment with tyrosine kinase inhibitors: review and recommendations for harmonizing current methodology for detecting BCR-ABL transcripts and kinase domain mutations and for expressing results. *Blood.* 108 : 28-37.
38. Hijjiya N, Schultz KR, Metzler M, Millot F, Suttorp M. (2016). Pediatric chronic myeloid leukemia is a unique disease that requires a different approach. *Blood.* 127(4):392-9.
39. Ichimaru M. (1991). Atomic Bomb and Leukemia. *J. Radiat. Res.* 2 : 14-19.
40. Jabbour E, Kantarjian H. (2014). Chronic myeloid leukemia: 2014 update on diagnosis, monitoring, and management. *Am. J. Hematol.* 89 : 547-556.

41. Jamal Eddine A. (2018). Les inhibiteurs de la tyrosine kinase dans la leucémie myéloïde chronique, un modèle réussi de thérapie. Thèse de doctorat en médecine, Faculté de médecine Marrakech, Maroc. 165p.
42. Kantarjian HM, O'Brien S, Cortes J, *et al.* (2003). Imatinib mesylate therapy improves survival in patients with newly diagnosed Philadelphia chromosome-positive chronic myelogenous leukemia in the chronic phase: comparison with historic data. *Cancer*. 98 : 2636-42.
43. Ledoux MP, Natarajan-Ame S. (2013). Leucémie myéloïde chronique : des réponses et des questions. *Mt*. 19 (2) : 128-38.
44. Leleu P, Moreau X. (2010). Précis d'hématologie et d'oncologie. Springer-Verlag France.
45. Leguay T, Mahon FX. Leucémie myéloïde chronique. (2005). EMC - Hématologie. 2 - (3) : 187-205.
46. Mbethe GG, Mounguengui D, Magne C, Ondounda M, Yboutsu L, Ibaba J, *et al.* (2016). Évaluation de l'imatinib dans la prise en charge de la leucémie myéloïde chronique au Gabon À propos de dix-sept cas. *Médecine et Santé Tropicales*. 26(2):184-8.
47. Melo JV, Deininger MWN. (2004). Biology of chronic myelogenous leukemia—signaling pathways of initiation and transformation. *Hematol Oncol Clin North Am*. 18(3):545-68.
48. Mukiihi JM, Nyirenda CM, Paul B, Aduwuyi JO., Mzula EIB, Malata HN. (2003). Chronic myeloid leukaemia in central Africans. *East African medical journal*. 80(9):470-5.
49. Mupepe MD, Ngwala D, Kabengele OB, Mpwate KS. (2013). Profil épidémio-clinique, aspects thérapeutiques et évolutifs de la Leucémie Myéloïde chronique aux Cliniques Universitaires de Kinshasa. *Annales Africaines de Médecine*. 6(3).
50. Nachi M. (2017). Intérêt de la quantification par la QRT-PCR dans le diagnostic et le suivi moléculaire de la maladie résiduelle chez les patients atteints de leucémie myéloïde chronique traités par Imatinib Mesylate. Thèse de doctorat en Médecine, Université Oran, Algérie. 242p.
51. Nowell PC. (1960). A minute chromosome in human granulocytic leukemia. *Science*. 132 1497-501.
52. Osman EAI, Hamad K, Elmula IMF, Ibrahim ME. (2010). Frequencies of BCR-ABL1 fusion transcripts among Sudanese chronic myeloid leukaemia patients. *Genetics and molecular biology*. 33(2) : 229-31.
53. Pffirmann M, Baccarani M, Saussele S, Guilhot J, Cervantes F, Ossenkoppele G, *et al.* (2016). Prognosis of long-term survival considering disease-specific death in patients with chronic myeloid leukemia. *Leukemia*. 30(1):48-56.

54. Pignon JM. (1998). Translocation bcr-abl : méthodes diagnostiques et intérêt clinique. *Ann Biol Clin.* 56 : 57-63.
55. Radich JP. (2009). How I monitor residual disease in chronic myeloid leukemia. *Blood.* 114 : 3376-81.
56. Rohrbacher M, Hasford J. (2009). Epidemiology of chronic myeloid leukaemia (CML). *Best Pract Res Clin Haematol.* 22(3):295-302.
57. Salesse S, Verfaillie CM. (2002). BCR/ABL: from molecular mechanisms of leukemia induction to treatment of chronic myelogenous leukemia. *Oncogene.* 21(56):8547-59.
58. Segbena AY, Kueviakoe IMD, Agbetiafa K, Padaro E, Layibo Y, Dorkenoo A, *et al.* (2012). Leucémie myéloïde chronique et imatinib, expérience du CHU Campus de Lomé au Togo. *Médecine et Santé Tropicales.* 22(3):307-11.
59. Smith AG, Painter D, Howell DA., Evans P, Smith G, Patmore R, *et al.* (2014). Determinants of survival in patients with chronic myeloid leukaemia treated in the new era of oral therapy: findings from a UK population-based patient cohort. *BMJ open.* 4(1):e004266.
60. Soverini S, Colarossi S, Gnani A, Rosti G, Castagnetti F, Poerio A, *et al.* (2006). Contribution of ABL Kinase Domain Mutations to Imatinib Resistance in Different Subsets of Philadelphia-Positive Patients: By the GIMEMA Working Party on Chronic Myeloid Leukemia. *Clin. Cancer Res.* 12 : 7374–79.
61. Soverini S, Branford S, Nicolini FE, Talpaz M, Deininger MW, Martinelli G, *et al.* (2014). Implications of BCR-ABL1 kinase domain-mediated resistance in chronic myeloid leukemia. *Leukemia Research.* 38(1) : 10-20.
62. Tardieu S, Brun-Strang C, Berthaud P, Michallet M, Guilhot F, Rousselot P, *et al.* (2005). Management of chronic myeloid leukemia in France: a multicentered cross-sectional study on 538 patients. *Pharmaco epidemiol Drug Saf.* 14(8):545-53.
63. Turhan A. (2005). Leucémie myéloïde chronique : actualités biologiques et thérapeutiques. *Bull Cancer.* 92 : 75-82.
64. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, Brunning RD, Borowitz MJ, Porwit A, *et al.* (2009). The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood.* 114(5):937-51.
65. Voisin T. (2019). État des lieux des Leucémies Myéloïdes Chroniques pédiatriques suivies au CHU de Bordeaux depuis 1993. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bordeaux, France.
66. Zine S, Guentouri FZ. (2017). Intérêt de la recherche des transcrits BCR-ABL par biologie moléculaire dans la leucémie myéloïde chronique. Mémoire Master, Université Blida 1, Algérie. 94p

67. Leucémie Myéloïde Chronique (hematocell.fr) - Laboratoire d ...
<https://www.hematocell.fr/index.php/105-leucemie-..>

68. Leucémie myéloïde chronique (LMC) - MSD Manuals
<https://www.msmanuals.com>

69. Leucémie myéloïde chronique - ScienceDirect [Internet].
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1638621305000078>

70. LMC France « Qu'est-ce que la leucémie myéloïde chronique ? »
<https://www.pactonco.fr/qu-estce-que-la-leucemie-myeloide-chronique>

71. filmc [Internet]. <http://www.lmc-cml.org/fr/pag13-Signes-biologiques-et-bilans.html> 42.
 La technique PCR — Wiki Auréa [Internet].
https://wiki.aurea.eu/index.php/La_technique_PCR

72. Rémission sans traitement chez des patients atteints de leucémie myéloïde chronique
 The Leukemia & Lymphoma Society. Fiche de renseignement 2018, 34 : 1-8.

73. Leucémies de l'adulte : les symptômes et le diagnostic.
<https://www.fondation-arc.org/cancer/leucemie-adulte/symptomes-diagnostic-cancer>

74. Société Française d'Hématologie. (2007). Leucémie myéloïde chronique. Hématologie.
 13(5): 328-30.

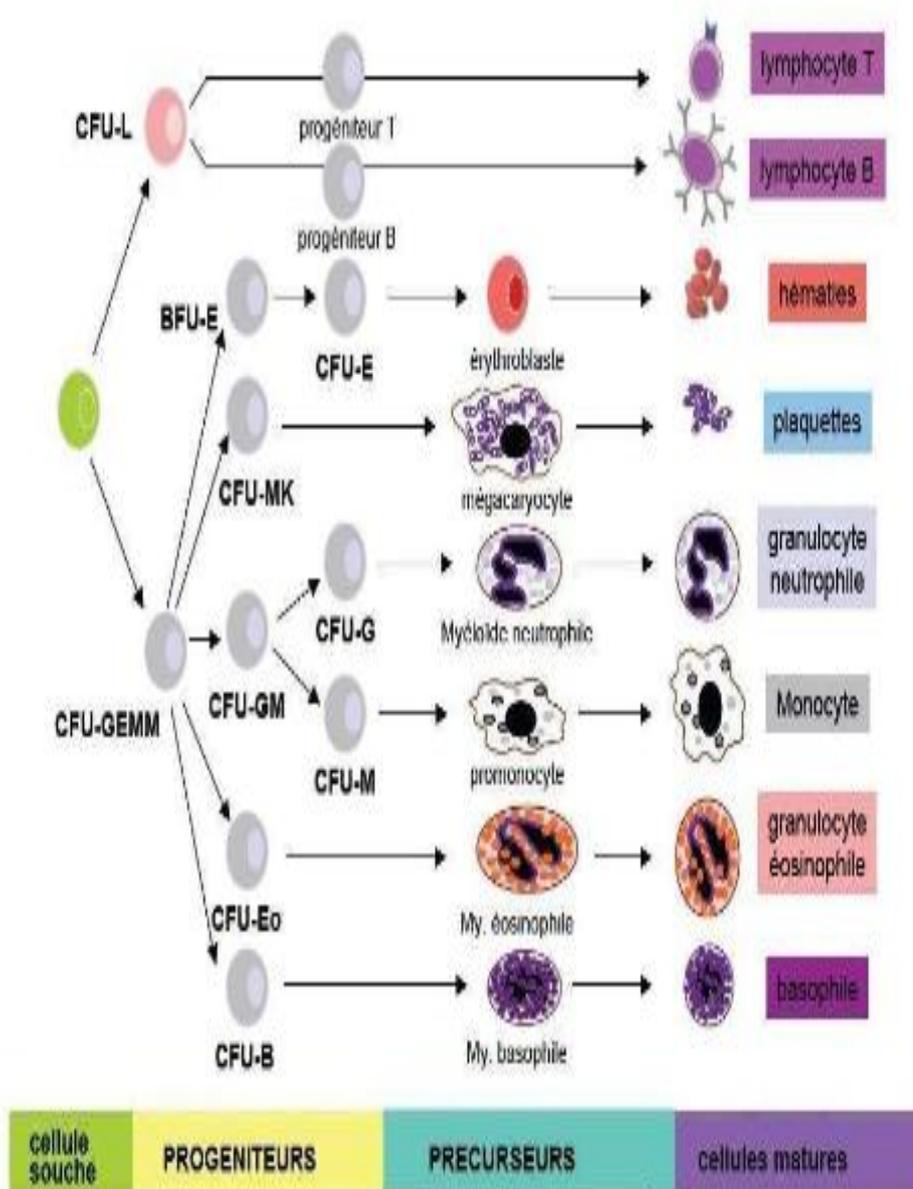
75. Ponceau JF, Villarese P. Leucémie Myéloïde Chronique : diagnostic et suivi.
<http://www.technicienscytogenetique.com/presentations/2008%20et%20anterieures/Diagnosti%20cetsuiviLMCNeckerEM.pdf>

76. https://www.researchgate.net/figure/Representation-schematique-des-differents-types-de-transcrits-BCR-ABL1-retrouves-dans_fig5_330823438

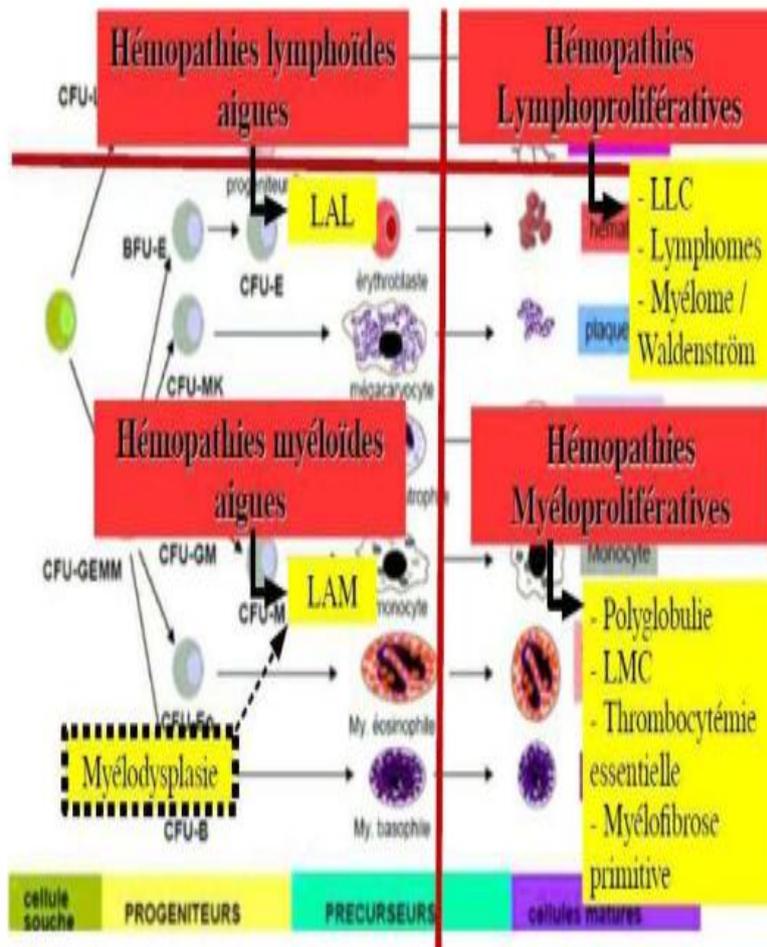
77. Diagnostic and Pre-treatment Work-up. Recommendations from an expert panel on behalf of the European Leukemianet.

ANNEXES

Annexe 1. Schéma de l'hématopoïese



Annexe 2. Classification des hémopathies malignes



Une **hémopathie maligne** se définit par la **nature de la cellule qui développe les caractéristiques tumorales**, sa **localisation** (sang, moelle osseuse, ganglions, peau...) et le **profil évolutif** clinique de la maladie (aigu ou chronique).

LAL : Leucémie aigue Lymphoïde

LAM : Leucémie Aigue Myéloïde

LLC : Leucémie Lymphoïde

Chronique

LMC : Leucémie Myéloïde

Chronique

Annexe 3. Les mutations du domaine kinase de *BCR-ABL*

Mutations	Mutations	Mutations
A217P	Zone de contact SH3	L298V
Y232H		V299L
M237V		F311L/I/V/Y
I242T	Charnière	T315A
M244V		T315I
L248V		F317L/V/I/C
G250A/E/V/R		L324Q
Q252E/H/R		Y342H
Y253F/H		M343T
E255K/V		A344V
E258D		A350V
W261L	Zone de contact SH2	M351T/V
L273M		E355D/G/A
E275K/Q		F359V/I/C/L
D276G		D363Y
T277A		L364I
E279K		A365V
V280A	Boucle C (catalytique)	A366G
V289A/I		L370P
E292V/Q		V371A
I293V		E373K
		H375Y
		V379I
		A380T
		F382L
		L384M
		L387M/F/V
		M388L
		Y393C
		H396P/R/A
		A397P
		S417F/Y
		I418S/V
		A433T
		S438C
		P441L
		E450K/G/A/V
		E453G/K/V/Q
		E459K/V/G/Q
		M472I
		P480L
		F486S
		E507G
		G514S

- Les mutations en rouge sont celles retrouvées le plus souvent.
- W et H représentent les acides aminés impliqués dans les liaisons hydrogènes.

Année universitaire : 2021/2022

Présenté par : *HANNACHI Maya Haoua*

NAFIR Bouchra

BAOUTA Kaouther

LEUCEMIE MYELOIDE CHRONIQUE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Génétique

Résumé

La leucémie myéloïde chronique (LMC) est une hémopathie clonale acquise de la cellule souche, faisant partie des néoplasies myéloprolifératives. Elle est caractérisée par la translocation t(9;22)(q34;q11.2) qui résulte en la formation du chromosome de Philadelphie et du réarrangement *BCR-ABL1*. Dans de rares cas, la t(9;22)(q34;q11.2) peut être cryptique et n'est donc pas détectable par cytogénétique conventionnelle. Le réarrangement *BCR-ABL1* se détecte de préférence par biologie moléculaire. Cependant, en présence d'une variante complexe de la translocation de Philadelphie, le réarrangement *BCR-ABL1* peut ne pas être détectable par biologie moléculaire. Dans ce cas, une analyse par FISH est recommandée. La leucémie myéloïde chronique (LMC) est un modèle de cancérogenèse. Son pronostic a été exceptionnellement amélioré grâce aux inhibiteurs de tyrosine kinase ou ITK (imatinib, dasatinib, nilotinib, bosutinib, ponatinib). Le suivi moléculaire, basé sur la quantification des ARNm *BCR-ABL1* par RQ-PCR et l'analyse mutationnelle du domaine tyrosine kinase d'ABL, facilite la vérification de l'efficacité thérapeutique. L'étude cytogénétique (caryotype, FISH) et la biologie moléculaire (RT-PCR) sont actuellement des examens clés pour le diagnostic et le suivi thérapeutique. Malgré l'importance de la leucémie myéloïde chronique et sa gravité, cette pathologie reste peu documentée en Algérie. Notre travail se résume en une étude bibliographique ayant pour objectifs la mise en évidence des caractéristiques épidémiologiques, cliniques, hématologiques, cytogénétiques et moléculaires de la leucémie myéloïde chronique. Comme nous n'avons pas effectué d'étude pratique, nous avons présenté des résultats émanant d'études algériennes qui ont été ensuite discutés en fonction des données de la littérature.

Mots clés : Leucémie myéloïde chronique ; Chromosome Philadelphie ; ITK ; Gène *BCR* ; Gène *ABL* ; Biologie moléculaire.

laboratoires de recherche :

Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire (Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Encadreur : M^r LATRECHE Fethi (MA.A - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 1 : P^r SATTI Dalila (Professeur - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 2 : D^r SEDRATI Khadidja (MC.A - Université Frères Mentouri, Constantine 1).