
République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Dr TAHAR-MOULAY de SAIDA

Faculté des Sciences
Département de Biologie

Mémoire en vue de l'obtention du Diplôme de Master en Biologie

Option : Biochimie

Thème :

**La leucémie myéloïde chronique (LMC)
dans le Sud-Ouest de l'Algérie. Etude
rétrospective à propos de 34 cas.**

Présenté par :

Mme Rachedi Sara

Mlle Talbi Meriem

Soutenu le 19 / 06 / 2017 devant le jury :

Président : Dr Terras Mohamed MCA

Université de Saida

Examineur : Dr Hachem Kadda MCA

Université de Saida

Encadreur : Dr Berroukche Abdelkrim MCA

Université de Saida

Année universitaire : 2016 - 2017

Résumé

La leucémie myéloïde chronique représente approximativement 7 à 15% des leucémies de l'adulte. Notre travail est consacré à une étude épidémiologique et rétrospective portant sur les dossiers des malades.

L'étude a couvert la période de 2007 à 2017 et inclus les patients recrutés dans le service d'hématologie au niveau de Centre Hospitalier de Saida.

On note une légère prédominance masculine avec un sexe ratio H/F de 1.12.

La distribution des cas selon l'âge permettait de noter une fréquence élevée pour les tranches d'âge de 50 à 60 ans et 60 à 70 ans.

Sur les cas étudiés, nous avons entrepris 4 cas atteints d'hypertension artérielle (HTA), 3 cas insuffisance rénale, 1 cas trouble respiratoire et 1 cas trouble psychiatrique.

La majorité de nos patients résident à la Wilaya de Saida suivie de faibles fréquences sont observées aux autres daïras (Ain El Hadjar et Ain El Sekhouana)et autres Wilaya(El Bayedh et Naïma).

On a enregistré une augmentation très significative du taux de globules blancs chez les patients de LMC comparés aux témoins ($p^{***}<0.001$). Une augmentation significative du taux de plaquettes chez les malades comparés aux témoins ($p^{**}<0.01$). Une baisse significative du taux de globules rouges chez les cancéreux comparés aux témoins ($p^{**}<0.01$). La transcrit ABL-BCR a été réalisée seulement chez 19 patients.

Mots clés: *Leucémie myéloïde chronique ; Epidémiologie ; Paramètres hématologiques, Centre hospitalier de Saida ; Transcrit ABL-BCR ; Caryotype.*

Abstract

Chronic myeloid leukemia (CML) is about 7-15% of adult leukemia. This work aimed to perform an epidemiological and retrospective study on the patients' records. This study include the period 2007-2017 in which patients were recruited in the hematology department at the Hospital of Saida. Results revealed a male predominance with a sex ratio of 1,12. The distribution of cases by age allowed to record a high frequency for the age groups 50-60 and 60-70 years. Among cases studied, it was found 4 cases of hypertension, 3 renal failure, 1 respiratory disorder and 1 psychiatric disorder. Almost all patients lived in Saida province, followed by lower rates observed in other areas (Ain El Hadjar and AinEl Sekhoua, El Bayedh and Naama). Results also showed a significant increase in white blood cellin CML patients compared to controls ($p^{***} < 0.001$). Even, a significant increase in platelet count was observed in CML patients ($p^{**} < 0.01$). Furthermore, a significant decrease in the rate of red blood cells was found in cancer patients ($p^{**} < 0.01$). The ABL-BCR transcript was underwent only in 19 patients.

Key words: *Chronic myeloid leukemia; Epidemiology; Hematological parameters, Saida Hospital Center; Transcribed ABL-BCR; Karyotype.*

سرطان الدم المزمن يمثل حوالي 7 % 15 من سرطانات الدم عند الكهول. يتمحور حول الدراسة الإحصائية دراسة استيعادية من ملفات المرضى.

الدراسة غطت المرحلة ما بين 2007 الى غاية 2017 حيث شملت ملفات المرضى المسجلين بمصلحة امراض الدم وذلك بمستشفى احمد مدغري بمدينة سعيدة.

لقد سجلنا ارتفاع طفيف بالنسبة للرجال بنسبة 1.12

50 60 60 70 سنة بالترتيب.

4 حالات مصابين بارتفاع الضغط الدموي 3 مصابين بالفشل الكلوي 1

اغلبية المرضى يقطنون بولاية سعيدة واقلية ينحدرون من دوائر أخرى عين الحجر. . البيض.

/شاهد قمنا بتسجيل ارتفاع ملحوظ في نسبة الكريات الدموية لبيضاء لدى المرضى مقارنة بالشاهد وسجلنا انخفاض في نسبة الكريات الدموية الحمراء كما سجلنا ارتفاع في نسبة الصفائح.

التحاليل الدموية. مستشفى سعيدة. الإحصائية.

الكلمات المفتاحية

Sommaire

Intitulé	Page
Introduction	13
Chapitre I. Rappels hématologiques	
I-1-Historique	15
I-2-La moelle osseuse	16
I-2-1-Anatomie de la moelle osseuse	16
I-2-2-Histologie de la moelle osseuse	18
I-3-L'hématopoïèse	20
I-4-Les syndromes myétoprolifératif	14
I-4-1-Classification des syndromes myéloprolifératif.	24
Chapitre II . la leucémie myéloïde chronique	
II-1-Présentation de la maladie	27
II-2-Epidémiologie	28
II-3-Mécanismes moléculaires et génétiques de LMC	28
II-3-1 Réarrangement chromosomique de la leucémie myéloïde chronique	29
1- Prolifération monoclonale	30
2-Chromosome Philadelphie	30
II-3-2- Biologie moléculaire du chromosome Philadelphie	30
a- Gene ABL et sa protéine	31
b-Gene BCR et sa protéine	34
c- Réarrangement BCR-ABL	35
d-Oncogenèse induite par BCR-ABL	35
e- Dérégulation de l'activité tyrosine kinase	36
II-3-3- Voies de signalisation intracellulaire conduisant à la Leucemogenese 36	38
II-4-Traitement de la LMC	39
II-4-1- ITK de première génération . l'Imatinib mésylate (Glivec) .38	39
II-4-2- Les ITK de deuxième génération .	39
a- Le Dasatinib.	40
b-Le Nilotinib	
II-4-3-Les ITK de troisième génération	

Chapitre III . techniques de détermination de caryotype	41
III-1-Techniques conventionnelles du caryotype	41
III-1-1-Etapes de cultures des cellules	42
III-1-2--Obtenir des métaphases nombreuses et de bonne qualité	43
III-1-3-Identifier les chromosomes	43
a- les techniques classiques utilisées en routine	44
b-les techniques spécifiques	45
c-les techniques de haute résolution	45
III-2-Description du caryotype humain	45
II-2-1-le chromosome métaphasique	46
III-2-2- la classification des chromosomes	46
III-3-Indication du caryotype constitutionnel	46
1- En période anténatale	52
2- En période postnatale Objectif du travail	52
1- Population étudiée	52
2- Etude épidémiologique .	52
2-1 Type de l'étude .	52
2-2 Période d'étude .	53
2-3 Lieu de l'étude .	53
2-4 Population d'étude	53
Paramètres d'étude .	53
Analyses statistiques .	53
Résultats et interprétation .	54
1- Incidence.	55
2- Répartition selon les caractéristiques des patients.	56
2.1- Sexe.	56
2.2- Âge.	57
2.3 Répartition géographique.	58
2.4 Profession.	59
3. Signes cliniques.	59
3-1 Antécédents.	60
3-2 Echographie abdominale	60
4- Caractéristique biologiques .	60
4-1 Détermination du taux des globules rouges chez les sujets atteints de LMC comparés aux témoins.	61

4-2 Détermination du taux des plaquettes chez les sujets atteints de LMC comparés aux témoins.	61
4-3 Détermination du taux des globules blancs chez les sujets atteints de LMC comparés aux témoins	62
4-4 détermination du transcrit BCRJABL chez Les patients atteints de LMC.	63
5-Le traitement	64
Discussion	65
Conclusion	66
Annexes	69
Références bibliographiques	

Liste des abréviations

ABL : l'oncogène Abelson

ACPA : Analyse Chromosomique sur Puce à ADN= caryotype moléculaire

ADN: Acide Désoxyribonucléotide

ADS : Une anomalie de la différenciation sexuelle

ARNm: ARN messenger

ATP : adénosine triphosphate

BCR: breakpoint cluster region

BFU-E :Burst-Forming Unit Erythroid

CEP: cellule endothéliales progéniteurs

CFU-E : Colony Forming Unit Erythroid

CHS: cellule souche hématopoïétique

CLP: cellule lymphoïde progénitrice

CMP: cellule myéloïde progénitrice

FISH: fluorescente hybridation in situ

ITK: les inhibiteurs de tyrosine kinase

LMC: La leucémie myéloïde

NLS: nuclear localization signal

NK: Natural Killer= cellule tueuse naturel chronique

OMS :organisation mondial de santé

PCR : est l'abréviation de Polymérase Chain Reaction

Ph: Philadelphie

PV: La polyglobulie primitive

SMP: Les syndromes myéloprolifératifs

SM: Splénomégalie myéloïde

T E: La thrombocytémie essentielle

Liste des figures

Figure 1: localisation de la moelle osseuse.....	16
Figure 2: les types de la moelle osseuse.....	17
Figure 3 : Aspect général d'une moelle.....	18
Figure 4 : trame réticulaire.....	19
Figure 5 : Fibres de réticuline.....	20
Figure 6: Shéma de l'hématopoïèse chez l'homme.....	22
Figure 7 : La cellule souche hématopoïétique est encore peu différenciée.....	28
Figure 8 : Translocation réciproque entre les bras longs des chromosomes 9 et 22.....	29
Figure 9 : Gène ABL.....	30
Figure 10 : Représentation schématique de la protéine ABL.....	31
Figure 11 : Gène BCR et les différents points de cassure.....	32
Figure 12 : Représentation schématique de la protéine BCR.....	33
Figure 13 : les ARNm résultant de la fusion entre les gènes BCR et ABL.....	34
Figure 14 : le domaine kinase d'une protéine tyrosine kinase.....	35
Figure15: Superposition des structures des protéines Src, ABL et BCR-ABL.....	36
Figure 16 : Voies de signalisation cellulaire.....	37
Figure 17 : Relation Imatinib/domaine tyrosine kinase de BCR-ABL.....	39
Figure 18: aspect morphologique d'un chromosome métaphasique.....	42
Figure 19: coloration au Giemsa.....	44
Figure 20 : la répartition des cas selon les années.....	56
Figure 21. Répartition des patients atteints de LMC selon le sexe.....	57
Figure 22 : la répartition des cas selon l'âge.....	58
Figure 23. Répartition des patients atteints de LMC solen leurs résidences.....	59

Figure 24: la répartition des patients selon leurs cas d'échographie.....	60
Figure 25 : Taux des globules rouges chez les sujets atteints de LMC.....	61
Figure 26 : détermination du taux de plaquettes chez les patients LMC.....	62
Figure 27 : détermination du taux de globules blancs chez les patients LMC.....	63

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions dieu d'avoir donné à l'homme le pouvoir de raisonner, d'exploiter et d'expliquer les vérités de l'univers.

- *Nous tenons à remercier notre cher encadreur qui a bien voulu nous confier ce travail riche d'intérêt et nous guider à chaque étape de sa réalisation. Vous nous avez toujours réservé le meilleur accueil, malgré vos obligations professionnelles. Vos encouragements inlassables, votre amabilité, votre gentillesse méritent toute admiration. Nous saisissons cette occasion pour vous exprimer notre profonde gratitude tout en vous témoignant notre respect.*
- *Au membre de juré :*
- *Mr Terras et Mr Hachem : Merci d'avoir accepté de gérer cette mémoire*
- *Au Service d'hématologie à Naama et à Saida*
- *A l'unité anti-cancer à l'EPH de Naama*



Dédicace

Je dédie cette thèse

-à **mes chers parents** : Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

-à **ma famille** : Aucune dédicace ne saurait exprimer tout l'amour que j'ai pour vous.

-à **mon encadreur Mr Berroukech abdelkarim** : Veuillez trouver ici l'expression de ma respectueuse considération et ma profonde admiration pour toutes vos qualités scientifiques et humaines.

- à **mon binôme de travail Rachedi Sara** : amie fidèle, qui m'a assisté dans les moments difficiles et m'a pris doucement par la main pour traverser ensemble des épreuves pénibles.

- a mes collègues au laboratoire de contrôle de qualité C.A.Q.E NAAMA et spécialement mon équipe de travail au service de la microbiologie.

Talbi Meriem





Dédicace

J'ai l'immense plaisir de dédier ce travail

- *à mes très chers parents mes premiers maiters qui m'ont appris à aimer et à respecter l'autre.....*
- *à mon mari Med qui m'a donné beaucoup d'aide*
- *à mes frères Sid Ahmed** Ilies** et Med*
- *à ma fille Ritej Maria*
- *à mon très cher encadreur Berroukeche Abdelkrim*
- *à mes chers amis Hajer et Dallel*
- *à mes collègues dans le laboratoire C.A.C.Q Saida*

Rachedi Sara



Introduction :

La leucémie est une prolifération maligne des cellules de la moelle osseuse qui représentent les composants majeurs du sang. Elle est scindée en différents types, en fonction de l'origine des cellules tumorales: lymphoïde ou myéloïde et du stade de leur maturité chronique ou aigue (**Burke et Startzell, 2008**).

La leucémie myéloïde chronique (LMC) est un désordre myéloprolifératif clonal, caractérisé par une capacité proliférative accrue, un prolongement de survie de la cellule hématopoïétique souche (HSC), une réduction de l'apoptose et une altération des propriétés d'adhésion cellulaire; elle évolue en trois phases: chronique, dont la plupart des patients ne présentent que peu ou pas de symptômes, cette phase évolue définitivement en une phase aigue qui est généralement précédée par une phase d'accélération (**Melo et al, 2003**).

L'étiologie de la LMC n'est pas bien élucidée. Au niveau moléculaire, la LMC a été corrélée avec un marqueur chromosomique appelé chromosome « Philadelphie », qui est le résultat d'une translocation réciproque entre les chromosomes 9 et 22(**Melo et al, 2003**).

La LMC représente 7% à 15% des leucémies de l'adultes ; son incidence annuelle est estimée à 1 à 2 cas pour 100 000 personnes (**Jemal et al, 2006**).

En Algérie, la LMC est en progression avec un nombre moyen de 109 nouveaux cas par année; son incidence globale est de 0,34/ 100 000 habitants.

L'âge moyen de son apparition est de 44 ans avec des extrêmes allant de 15 à 76 ans, et une légère prédominance masculine (**Djouadi-Lahlou, 2009**).

Cette présente étude a pour objectif d'établir un profil épidémiologique de la LMC dans notre région et de montrer l'apport de la détermination du caryotype au dépistage de cette pathologie tumorale.

Chapitre I : Rappels hématologiques

I-1-Historique

La LMC a été premièrement décrite par Hughes Bennett, un médecin d'Edinburgh qui pensait que la maladie était une infection (**Bennett JH et al ,1845**), Quelques semaines plus tard R. Virchow, qui a publié un cas similaire, a postulé que la maladie n'était pas infectieuse et il a estimé que la cause de la maladie était une altération dans l'hématopoïèse et a inventé le terme descriptif « Weisses blut » ou « sang blanc » qui est devenu en allemand « Leukämie » (**Neumann E. A ,1870**).

Le fait que les cellules leucémiques proviennent de la moelle osseuse a été reconnu par Neumann seulement en 1870. La prochaine étape importante dans l'histoire de la LMC s'est produite 100 ans plus tard, quand au début des années 1960, et avec l'apparition de la cytogénétique, deux chercheurs de Philadelphie ; Peter Nowell et David Hungerford ont identifié un chromosome de petite taille dans les cellules tumorales des patients atteints de LMC, auquel ils ont donné le nom de la ville d'origine de sa découverte: le chromosome Philadelphie (Ph) (**Nowell P et Hungerford ,1960**). Ce fut la première fois qu'une anomalie chromosomique a été associée à une maladie maligne.

Ensuite, en 1973, Janet Rowley a reconnu que le chromosome Philadelphie était en effet le produit d'une translocation réciproque avec échange de matériel chromosomique entre les bras longs des chromosomes 9 et 22 (**Rowley JD ,1973**).

En 1977, Philip J. Fialkow et al. Ont mis en évidence la nature clonale de la maladie. En fait, le chromosome Philadelphie n'est retrouvé que dans les lignées hématopoïétiques (**Fialkow PJ et al, 1977**). La présence de la translocation t(9;22) dans presque toutes les cellules de la moelle osseuse des patients atteints de LMC a montré que cette anomalie génétique était impliquée dans l'initiation de la maladie.

Plus tard et grâce à la biologie moléculaire, le début des années 1980 a vu l'identification de deux gènes: BCR et ABL, qui encadrent le point de fusion de la translocation

(Groffen J et al , 1984).

I-2- moelle osseuse

La moelle osseuse est un organe hématopoïétique et lymphoïde, d'origine mésenchymateuse situé au centre des os dans les espaces médullaires des os plats et des épiphyses des os longs.

Elle produit les cellules hématopoïétiques et lymphoïdes à partir de cellules souches: chaque jour 1000 milliards de cellules sanguines (kerfouf ,2014).

I-2-1-Anatomie de la moelle osseuse

a-Localisation

-Chez le fœtus, elle est située à l'intérieur de toutes les cavités osseuses.

– Chez l'adulte, on la trouve dans les logettes de l'os spongieux de certaines épiphyses, dans les os plats (sternum, os iliaque) ; le crâne; les vertèbres, les côtes (kerfouf ,2014).

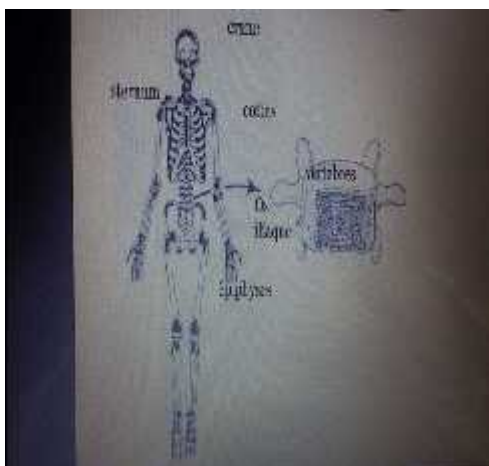


Figure 1: localisation de la moelle osseuse (kerfouf ,2014).

b -variétés morpho fonctionnelles

Il existe sous trois type: la moelle rouge, la moelle jaune et la moelle grise.

1-Chez le fœtus jusqu'à la naissance et chez le jeune enfant

Moelle Rouge: très active en l'hématopoïèse : située à l'intérieur de toutes les cavités osseuses.

2-chez l'adulte : elle est subdivisée en deux formes :

a- Moelle Rouge : située au niveau du tissu osseux spongieux du crane ; des vertèbres ; sternum, des côtes, épiphyses du fémur et de l'humérus et responsable de l'hématopoïèse.

b- Moelle jaune: Avec l'âge la moelle s'infiltré de cellules adipeuses: donc inactive ou quiescente mais peut devenir active a la demande (régénération) donc elle est réversible, située dans la cavité médullaire des os longs EXP : au cours de certaines maladies du sang .

c-Moelle Grise: Moelle âgée ; siège de fibrose donc irréversible.

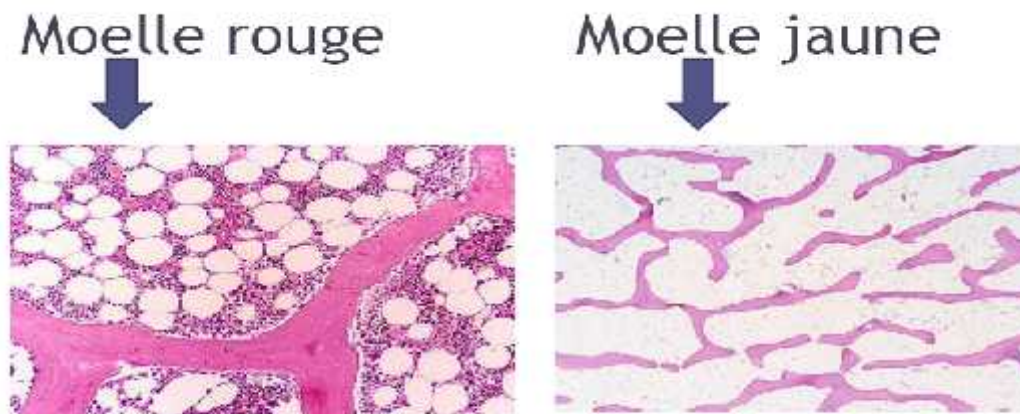


Figure 2: les types de la moelle osseuse (Kerfouf, 2014)

I-2-2-Histologie de la moelle osseuse

a-Travées osseuses : La moelle osseuse est tapissée par:

- des ostéoblastes: synthèse de la matrice, minéralisation.
- des ostéoclastes: origine monocytaire; destruction de l'os.
- Dans les lamelles osseuses : ostéoplastes contenant des ostéocytes.

(Kerfouf,2014)

b-Les espaces médullaires

1. Architecture

Les espaces médullaires sont situés entre des travées osseuses :

- une trame réticulaire
- des cellules hématopoïétiques et lymphoïdes

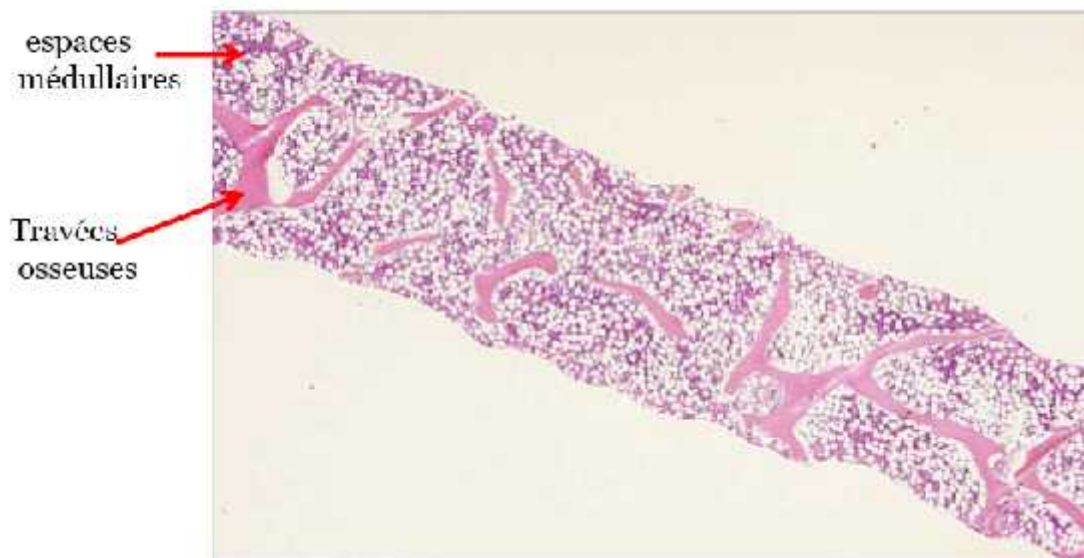


Figure 3 : Aspect général d'une moelle (Kerfouf,2014)

2- trame réticulaire :

a - un réseau de fibres réticulaires : formant un grillage régulier argentaffine entourant les cellules réticulaires, les vaisseaux; les parois osseuses et permettant d'accrocher les cellules.

b. un réseau de cellules réticulaires : anastomosées par leurs prolongements. Ce sont des cellules indifférenciées qui peuvent se transformer et peuvent se différencier en cellules endothéliales, fibroblastes, ostéoblastes, et adipocytes et qui secrètent les fibrilles de réticuline ; elles sont liées par des jonctions communicantes expriment le CD 44 (kerfouf 2014).

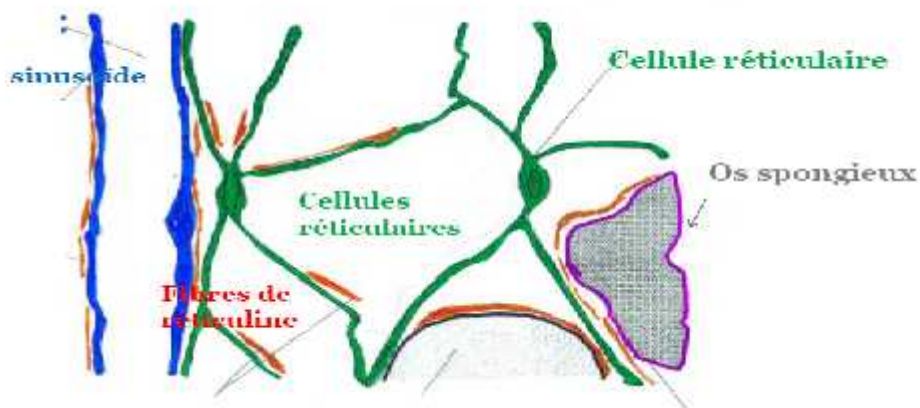


Figure 4 : trame réticulaire (kerfouf,2014).

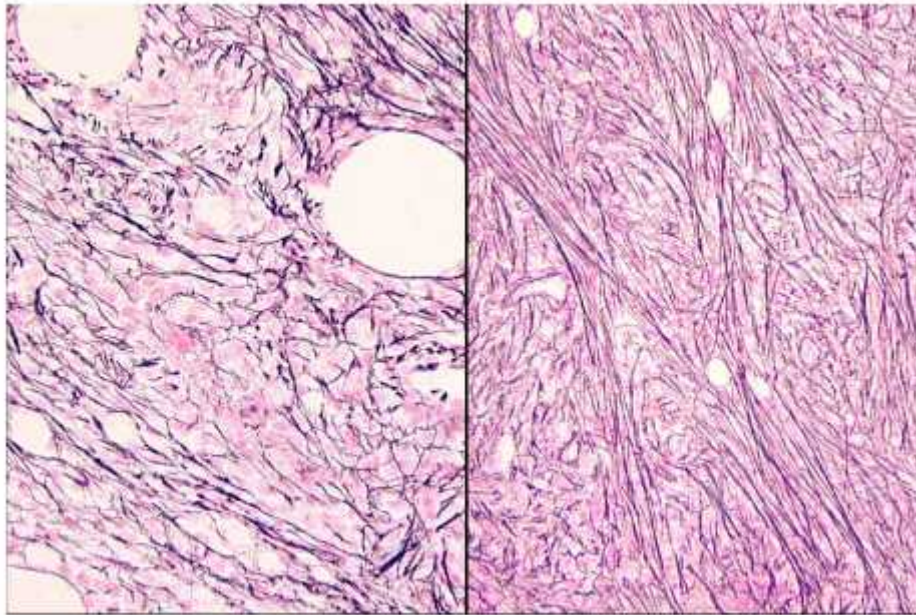


Figure 5 : Fibres de réticuline (kerfouf,2014)

c -Les cellules de la moelle : Des cellules adipeuses avec trois lignées cellulaires.

Les CSH sont multipotentes : elles sont capables de se différencier en chacun des types de cellules souche unipotente : Colony Forming Unit) ; chaque fois qu'une CSH se divise en deux cellules, une cellule va permettre le maintien du stock de CSH et l'autre va se différencier dans un des trois types de cellule sanguine : lignée érythroblastique, lignée granulocytaire, lignée mégaryocytaire en plus de la lignée lymphoïde (kerfouf, 2014).

I-3-L'hématopoïèse

L'hématopoïèse est définie comme étant un ensemble de mécanismes biologiques qui Concourent à la production et à la régénération continue des cellules sanguines, très différenciées, et indispensables à la vie des organismes complexes multicellulaires.

Les cellules sanguines ont généralement une courte durée de vie (quelques heures pour les polynucléaires, quelques jours pour les plaquettes et quelques semaines pour les hématies).Ce processus a comme origine une cellule souche hématopoïétique, qui se différencie en deux

voies: myéloïde et lymphoïde. L'hématopoïèse assure donc une production importante de cellules sanguines, de l'ordre de 10¹³ cellules sanguines/jour, processus sous contrôle afin de maintenir constant ce nombre malgré les variations de consommation importantes liées aux processus pathologiques (hémorragies, infections...).

Chez l'homme, l'hématopoïèse fœtale a lieu au niveau de tissu conjonctif embryonnaire jusqu'au 2 mois, et devient médullaire à partir du 4^{ème} mois. Après la naissance, l'hématopoïèse a lieu exclusivement dans la moelle osseuse (**Orkin and Zon, 2008**).

Ce processus physiologique régulé commence à partir de cellules souches hématopoïétiques (CSH) possédant la capacité d'auto renouvellement et de multipotence leur permettant de générer toutes les lignées du système hématopoïétique. Au cours de cette différenciation pyramidale, les CSH perdent d'abord leur capacité d'autorenouvellement, et s'engagent vers des cellules multipotentes, capables de donner des progéniteurs lymphoïdes ou myéloïdes, qui acquièrent leur potentiel de différenciation de lignée myéloïde ou lymphoïde, et finalement s'engagent, pour aboutir à la production des cellules fonctionnelles matures terminales (**Dingli et al, 2007**).

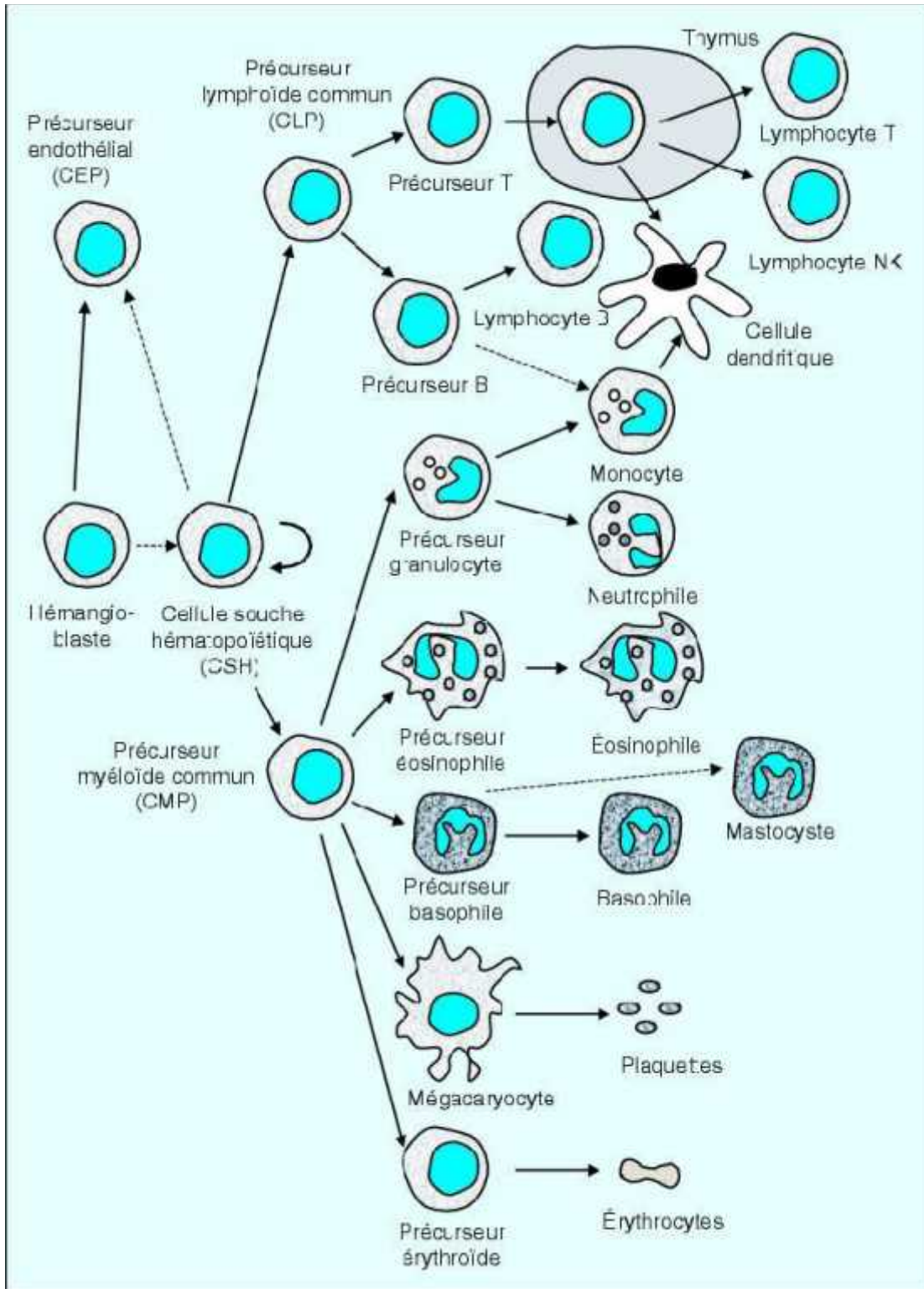


Figure 6: Schéma de l'hématopoïèse chez l'homme (Cavazzana-Calvo et al,2004).

Les cellules souches hématopoïétiques (CSH) donnent naissance aux différentes lignées sanguines. La première étape de différenciation permet l'engagement dans les voies myéloïde et lymphoïde par la génération de précurseurs communs lymphoïdes (CLP) et myéloïdes (CMP). Le premier est à l'origine des précurseurs de lymphocytes B, des précurseurs thymiques capables de générer des lymphocytes T matures, des lymphocytes NK et des cellules dendritiques lymphoïdes. Le précurseur myéloïde est à l'origine des mégacaryocytes, produisant des plaquettes, des précurseurs érythrocytaires, des précurseurs des monocytes, des cellules dendritiques myéloïdes et des polynucléaires basophiles, neutrophiles et éosinophiles. L'un des précurseurs possibles de la CSH serait l'hémangioblaste, capable de générer à la fois des CSH et des précurseurs de cellules endothéliales (CEP) (Cavazzana-Calvo et al, 2004).

L'hématopoïèse comporte 4 compartiments :

- **Les cellules souches pluripotentes:** cellules très primitives ayant un haut pouvoir de prolifération, capables d'autorenouvellement et de différenciation vers toutes les lignées hématopoïétiques.
- **Les progéniteurs:** cellules capables de proliférer sans s'autorenouveler et de se différencier. Ces cellules sont déjà engagées vers une seule lignée cellulaire: BFU-E (Burst-Forming Unit Erythroïde) et CFU-E (Colony Forming Unit Erythroïde) pour la lignée érythroblastique, BFU-Meg et CFU-Meg pour la lignée mégacaryoblastique, CFU-M pour la lignée granulomonocytaire, progéniteurs B et T pour les lymphocytes B et T.
- **Les précurseurs:** cellules morphologiquement identifiables, correspondant à des cellules en cours de maturation avant leur passage dans la circulation sanguine.
- **Les cellules matures:** cellules fonctionnelles qui circulent dans le sang et maintiennent l'homéostasie (Cavazzana-Calvo et al, 2004).

I-4-Les syndromes myétoprolifératif

Les syndromes myéloprolifératif (ou SMP) sont des maladies chroniques caractérisées par une prolifération clonale des cellules myéloïdes (précurseurs des lignées granulocytaires, érythroïde et mégacaryocytaire) avec une conservation de leur capacité de différenciation. **(Chomel et al, 2009).**

Les syndromes myéloprolifératif sont répartis en polycythémie vraie (PV), thrombocytémie essentielle (TE), ostéomyélofibrose (OMF) et leucémie myéloïde chronique (LMC) **(Rufer et al, 2003).**

L'origine de ces pathologies n'est pas toujours connue. Cependant, il a clairement été démontré qu'elles sont fréquemment liées à des anomalies chromosomiques (mutation génétiques ou translocation). L'identification des gènes affectés par ces anomalies a permis une meilleure connaissance de ces pathologies et une meilleure compréhension de leurs mécanismes d'apparition **(Rufer et al, 2003).**

I-4-1-Classification des syndromes myéloprolifératif

La classification 2001 des hémopathies malignes regroupe au sein de l'entité SMP chroniques, des SMP classiques comme la LMC, la PV, la TE, la MP mais aussi des pathologies plus rares comme la leucémie chronique à neutrophiles, la leucémie chronique à éosinophiles et un groupe de SMP atypiques.

La classification OMS des hémopathies malignes a été révisée en 2008 suite à la découverte de la mutation JAK2 V617F **(Tefferi et Vardiman, 2008).**

a- La polyglobulie primitive (PV)

La polyglobulie de Vaquez (PV) ou polyglobulie primitive est une affection clonale caractérisée par une augmentation de la masse érythrocytaire totale et de l'hémoglobine sans stimulation excessive par l'érythropoïétine **(Chomel et al ,2009).**

Elle survient surtout après 50 ans, avec une prédominance masculine. (Najman et al, 1994).

b-Splénomégalie myéloïde (SM)

Elle se développe plus couramment chez des sujets âgés de plus de 60 ans. Elle se caractérise par une hyperleucocytose avec myélémie et surtout une érythroblastose sanguine aboutissant à l'érythromyélemie très caractéristique. La moelle est le siège d'une fibrose plus ou moins importante (Leguay et Mahon, 2005).

c-Thrombocytémie essentielle (T E):

Elle se caractérise par une thrombocytose importante avec hyperleucocytose modérée.

C'est un diagnostic d'élimination des autres syndromes myéloprolifératif. Ces derniers doivent être tout d'abord éliminés (pas de chromosome Philadelphie en faveur d'une LMC, pas de myélofibrose en faveur d'une splénomégalie myéloïde primitive, pas de masse sanguine augmentée en faveur d'une polyglobulie vraie) (Leguay et Mahon, 2005).

d- Leucémie myéloïde chronique (LMC)

La leucémie myéloïde chronique est un syndrome myéloprolifératif chronique traduisant une prolifération de la cellule souche hématopoïétique et caractérisé par une prolifération dominante de la lignée granuleuse (Sebahoun, 2005). Elle évolue en trois phases: une phase chronique, une phase accélérée et une phase de transformation en leucémie aigue.

La LMC est le résultat d'un échange de matériel génétique ou translocation réciproque (c'est-à-dire sans perte de matériel) entre les chromosomes 9 et 22. Elle se caractérise par la présence d'une anomalie cytogénétique acquise: le chromosome Philadelphie (Ph) (Treuil, 2008).

Chapitre II : Pathologie tumoral " la leucémie myéloïde chronique"

II-1-Présentation de la maladie

Comme chez l'adulte, la découverte de la maladie se fait dans une très grande majorité des cas (> 90% des cas) au moment de la phase chronique de la maladie. Cependant dans quelques cas, la maladie sera diagnostiquée en phase accélérée.

Les manifestations cliniques et biologiques de la pathologie seront alors plus bruyantes et le délai de prise en charge devra alors être extrêmement rapide.

A la phase chronique, le diagnostic peut être porté de manière tout à fait fortuite(examen de routine) ou plus volontiers devant l'apparition d'un certain nombre de symptômes et/ou de signes cliniques. Chez ces patients, les principaux symptômes seront des signes fonctionnels généraux, avec, par ordre de fréquence :

- une asthénie, présente dans une majorité des cas.
- une perte de poids, un inconfort splénique et une fièvre, qui pourront se manifester dans quelques cas.
- des saignements spontanés pourront également être un motif de consultation du patient.
- des douleurs osseuses et/ou abdominales de manière beaucoup plus occasionnelle.

L'importance de la splénomégalie est fondamentale car elle est liée à l'apparition de certains des symptômes cliniques (notamment l'asthénie et l'inconfort splénique) mais également à des manifestations biologiques. Sur l'hémogramme, au moment du diagnostic, les trois grandes lignées cellulaires (globules blancs, plaquettes et globules rouges) vont être atteintes.

La numération et la formule des globules blancs, qui est un élément capital du diagnostic de LMC, sont très perturbées. Une hyper éosinophilie, une basophilie et de rares blastes sont retrouvés à la présentation classique de la maladie, en phase chronique (**Millot et al , 2005**).

II-2-Epidémiologie

La LMC représente 7 à 15 % des leucémies de l'adulte, avec environ dix nouveaux cas par an pour un million d'habitants, soit 600 nouveaux cas par an en France (**Leguay et Mahon, 2005**). Cette pathologie touche préférentiellement les hommes, avec un sex-ratio proche de 2. Son incidence augmente avec l'âge pour atteindre trois cas par million d'habitants chez les sujets âgés (**Leguay et Mahon, 2005**).

D'un point de vue épidémiologique, cette pathologie représente moins de 3 % des leucémies de l'enfant et moins de 10 % des patients atteints de LMC avec chromosome Philadelphie sont des enfants ou des adolescents (**Suttorp, 2010**).

L'âge médian au diagnostic était de 11 ans dans une étude allemande (**Suttorp, 2008**).

Cette tendance a également été confirmée par une étude française sur 40 patients dans laquelle l'âge médian au diagnostic était de 12 ans et demi et 67% des patients avaient plus de 10 ans (**Millot et al, 2005**). D'autres études ont aussi inclus des patients préférentiellement âgés de 15 à 19 ans en Europe (**Birch et al, 2003**) et au Japon suggérant qu'il s'agit d'une maladie de l'adolescence plus que de l'enfance (**Horibe et al ; 2001**). En Algérie, une étude épidémiologique, faite entre 1994 et 2004 a montré un taux de prévalence est de 1,8/100.000 habitants. L'incidence est en progression puisqu'elle passe de 0,19/100.000 habitants en 1994 à 0,4/100.000 habitants en 2004. (**Djouadi-Lahlou, 2009**).

La répartition des nouveaux cas de LMC par année passe de 53 cas en 1994 à 130 cas en 2004, avec une moyenne de 88 nouveaux cas par année. (**Djouadi-Lahlou, 2009**).

Cette étude a aussi démontré une légère prédominance masculine avec un sex ratio de 1,12. L'âge moyen au diagnostic est de 44 ans (**Djouadi-Lahlou, 2009**).

A l'heure actuelle, aucun facteur de risque prédisposant n'est clairement reconnu. Il n'y a pas de prédisposition génétique puisque le risque chez des frères jumeaux est discordant. Il n'existe pas non plus d'augmentation du risque de développer une LMC chez des enfants

atteints d'anomalies chromosomiques pré-leucémiques, telles que l'anémie de Fanconi ou le syndrome de Down (Apperley, 2009). Dans des cas exceptionnels, une association avec une exposition aux radiations ionisantes aurait été retrouvée chez des enfants au Japon dans les années 1940, au décours des explosions nucléaires.

Chez l'enfant, une prépondérance de patients de sexe masculin a été évoquée mais n'a jamais été réellement démontrée, du fait du faible nombre de cas dans ces études (Preston et al, 1994).

II-3-Mécanismes moléculaires et génétiques de LMC

II-3-1 Réarrangement chromosomique de la leucémie myéloïde chronique

1- Prolifération monoclonale

La LMC est due à une prolifération monoclonale provenant d'une mutation de cellule souche hématopoïétique pluripotente, donc une cellule encore peu différenciée (figure 7). . (LeporrierM, 1999).

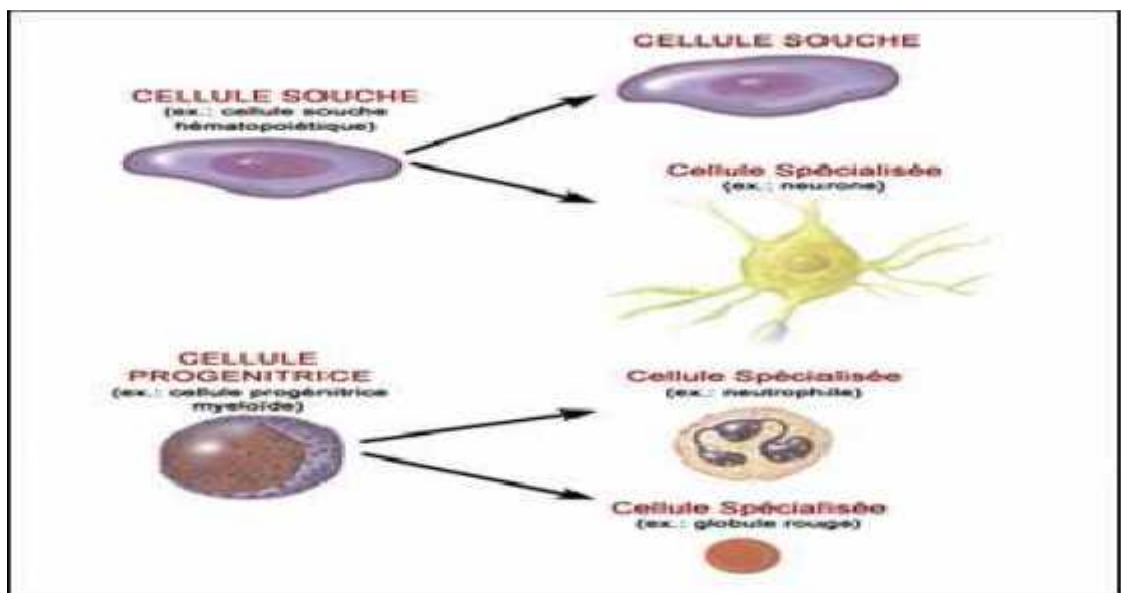


Figure 7 : La cellule souche hématopoïétique est encore peu différenciée. (LeporrierM, 1999).

Elle a la capacité de se multiplier en d'autres cellules souches pluripotentes ou de se différencier en cellules spécialisées. Contrairement à la cellule progénitrice (**Leporrier M, 1999**).

En conséquence, le chromosome Philadelphie (Ph), marqueur de la maladie, est retrouvé dans toutes les cellules d'origine monocyttaire, granuleuse, érythroblastique, mégacaryocytaire mais aussi lymphocytaire (B, T, NK). Il est par contre absent des fibroblastes et des cellules extra-hématopoïétiques (**Turhan A ,2005**).

2-Chromosome Philadelphie

Son nom provient de la ville où Nowell et Hungerford l'ont découvert en 1970 (**Mahon FX ,2001**).

Il correspond en fait à un chromosome 22 raccourcis qui résulte d'une translocation réciproque équilibrée. Elle a lieu entre les bras longs des chromosomes 9 et 22 (figure8) (**Leporrier M ,1999**).

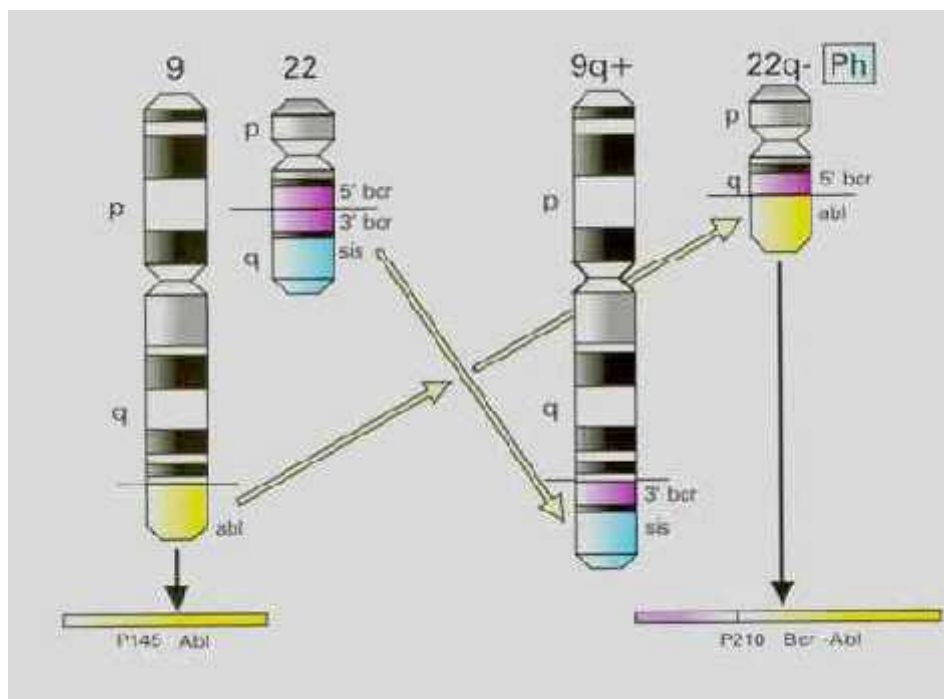


Figure 8 : Translocation réciproque équilibrée entre les bras longs des chromosomes 9 et 22 qui aboutit à la formation du chromosome Philadelphie (**Leporrier M ,1999**).

Le point de cassure sur le chromosome 9 est localisé en 9q34 au niveau de l'oncogène Abelson (ABL) que nous détaillerons dans le prochain paragraphe. Quant au chromosome 22, le point de cassure se situe au niveau du gène BCR (breakpointcluster region) du bras long, soit en 22q11 (**Sebahoun G ,2005**).

C'est une anomalie cytogénétique acquise présente dans 95% des LMC . Des cellules n'ayant subi aucune translocation persistent cependant chez tous les patients atteints, mais celles-ci ne sont guère apparentes dans l'étude du caryotype.

Dans les autres cas (5%), la LMC est dite Philadelphie négative ou montre l'existence de translocations mettant en jeu 3, 4 ou plusieurs chromosomes partenaires. On appelle ces translocations des variant (**Leporrier M ,1999**).

II-3-2- Biologie moléculaire du chromosome Philadelphie

a- Gene ABL et sa protéine

L'oncogène Abelson a été isolé par Abelson sous la forme -ABL dans le génome du rétrovirus leucemogène murin, responsable de la leucémie chez la souris.

Il comporte onze exons dont deux exons 1 alternatifs (1A et 1B) séparés par un intron de 200kb et dix autres exons qui sont moins espacés. Le locus ABL occupe 230kb. Ce gène est transcrit en deux ARNm de 6 ou 7kb selon que la transcription se fait à partir de l'exon 1A ou 1B (figure 9).

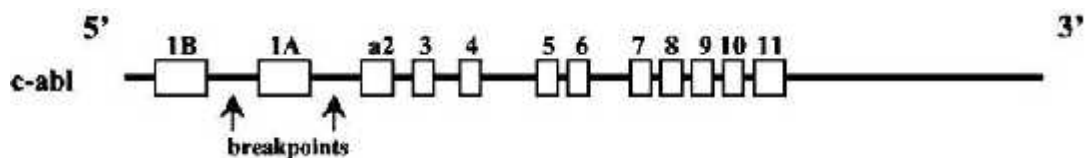


Figure 9 : Gène ABL. L'emplacement des deux points de cassure (breakpoints) possibles : au niveau de l'intron séparant les exons 1A et 1B ou entre les exons 1A et a2(**Leguay et Mahon ,2005**) .

La protéine ABL qui en dérive, contenant l'exon 1A (majoritaire), a une localisation nucléaire prédominante et celle contenant l'exon 1B une localisation membranaire car myristoylé (Leguay et Mahon, 2005). Elle est exprimée dans la plupart des cellules de l'organisme (Chomel JC et al, 2009).

C'est une protéine kinase constituée de plusieurs domaines jouant un rôle complexe dans sa localisation (la documentation française.fr). On note que, comme la plupart des protéines induisant un signal cellulaire, elle possède des domaines d'homologie SH (Src homology). Le domaine SH1 est le support de l'activité tyrosine kinase. Le domaine SH2 permet l'interaction avec des protéines comportant des résidus tyrosine phosphorylés. Il est également un régulateur positif du domaine SH1.

Le domaine SH2 est lui-même régulé négativement par le domaine SH3, qui est à l'origine d'interactions avec des séquences riches en proline (Leguay et Mahon, 2005).

La partie N-terminale de la protéine participe à la machinerie cellulaire de transmission du signal et il existe une zone variable de myristoylation permettant à la protéine ABL myristoylé, de type 1B, de se fixer à la membrane. La partie C-terminale contient des domaines lui permettant de se fixer aux filaments

d'actine (donc au cytosquelette) et d'ADN, ainsi qu'une séquence de localisation nucléaire : NLS pour nuclear localization signal (figure 10).

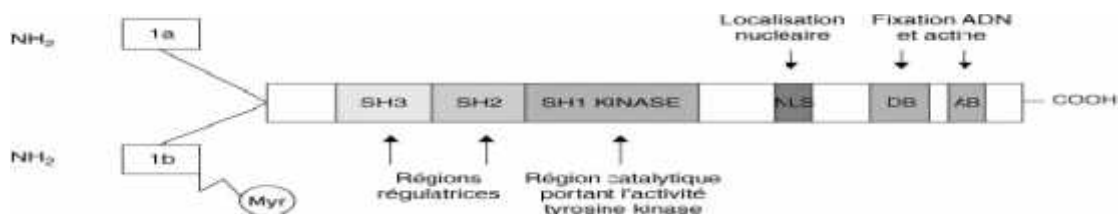


Figure 10 : Représentation schématique de la protéine ABL. La forme 1B possède un groupement myristoyl (Myr), qui joue un rôle important dans l'auto-inhibition de la protéine.

NLS est un domaine de localisation nucléaire, DB (DNA binding) est un domaine de fixation de l'ADN et AB (actin binding) de fixation de l'actine (**Leguay et Mahon ,2005**).

On peut remarquer que la protéine ABL est dotée d'une dualité structurale et fonctionnelle, avec des domaines de régulation qui lui permettent de jouer un rôle à la fois dans le noyau et dans le cytoplasme de la cellule et de transiter entre les deux compartiments. Son action dépend de cette localisation nucléaire ou cytoplasmique. On ne connaît pas avec précision son rôle mais de nombreuses études font ressortir l'action de régularisation négative du cycle cellulaire pour la protéine ABL à localisation nucléaire.

ABL à localisation cytoplasmique serait plutôt Impliquée dans la transduction du signal pour la croissance et la différenciation cellulaire, initiée par certains récepteurs aux facteurs de croissance. La protéine ABL participerait également a la réponse cellulaire relative aux dommages causes sur l'ADN par des radiations ionisantes (**Leguay et Mahon .2005**).

b- Gene BCR et sa protéine

Il a été découvert en clonant la région appelée M-BCR (major breakpoint cluster region) où sont situés la majorité des points de cassures (figure 11).

Il s'étend sur 135kb et comprend 23 exons. Il est transcrit en ARNm de 4,5 ou 6,7kb qui codent une protéine cytoplasmique de 160kb d'expression ubiquitaire (**Leguay et Mahon ,2005**).

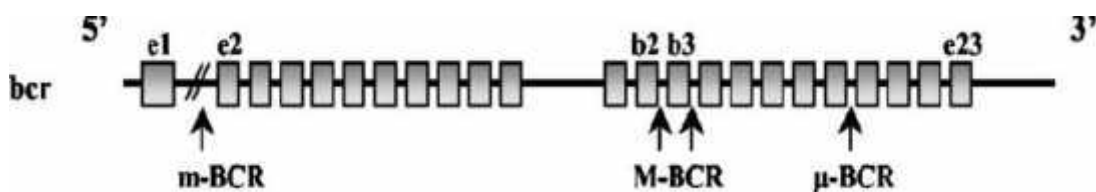


Figure 11 : Gène BCR et les différents points de cassure. Chez la plupart des patients, ils sont localisés en MBCR (**Leguay et Mahon, 2005**) .

Tout comme la protéine ABL, la protéine BCR possède plusieurs domaines importants. On connaît la partie N-terminale, où se situe le domaine 1B, permettant plus tard la dimérisation de la protéine BCR-ABL conduisant à l'ouverture de l'activité tyrosine kinase. Le domaine 2B comprend deux sites de liaison aux domaines SH2 comme ceux portés par la protéine ABL et a Grb2. La partie centrale de BCR présente un domaine d'homologie avec les protéines Dbl : facteur d'échange GTP (guanosine triphosphate)/GDP (guanosine diphosphate).

Et enfin, la partie C-terminale a une fonction GAP (GTPase activating protein) et joue un rôle dans la bactéricide des polynucléaires (**Leguay et Mahon, 2005**).

Néanmoins cette partie est absente dans la protéine de fusion (figure 12).

Cette protéine, de localisation cytoplasmique lorsque la cellule n'est pas en cycle, est exprimée de manière péri-chromosomique lors de la mitose, ce qui suggère qu'elle joue un rôle dans le cycle cellulaire (**Goldman et Melo, 2003**).

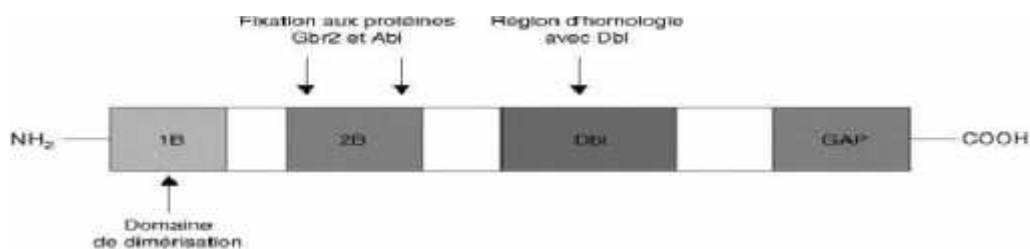


Figure 12 : Représentation schématique de la protéine BCR. La région 1B correspond aux 63 premiers acides aminés de BCR et elle est nécessaire à la dimérisation de la protéine (**Goldman et Melo, 2003**).

C- Réarrangement BCR-ABL

La translocation t (9 ; 22) entraîne un réarrangement des gènes situés au voisinage des points de cassure et la constitution, sur le chromosome 22, d'un gène de fusion-hybride comportant la partie 5' (N-terminale) du gène BCR et la partie 3' (C terminale) du gène ABL. La fusion

se fait entre l'exon b2 ou b3 de BCR et l'exon a2 d'ABL, entraînant une jonction b2a2 ou b3a2 (figure 13).

Ce gène BCR-ABL hybride est transcrit en ARNm de 8,5kb, lequel est traduit en une Protéine hybride p210 (appelée également oncoprotéine P210 ou P210BCR-ABL) avec deux variant différant de 25 acides amines selon que l'exon b3 est incorporé ou non dans le gène hybride (Sebahoun G, 2005).

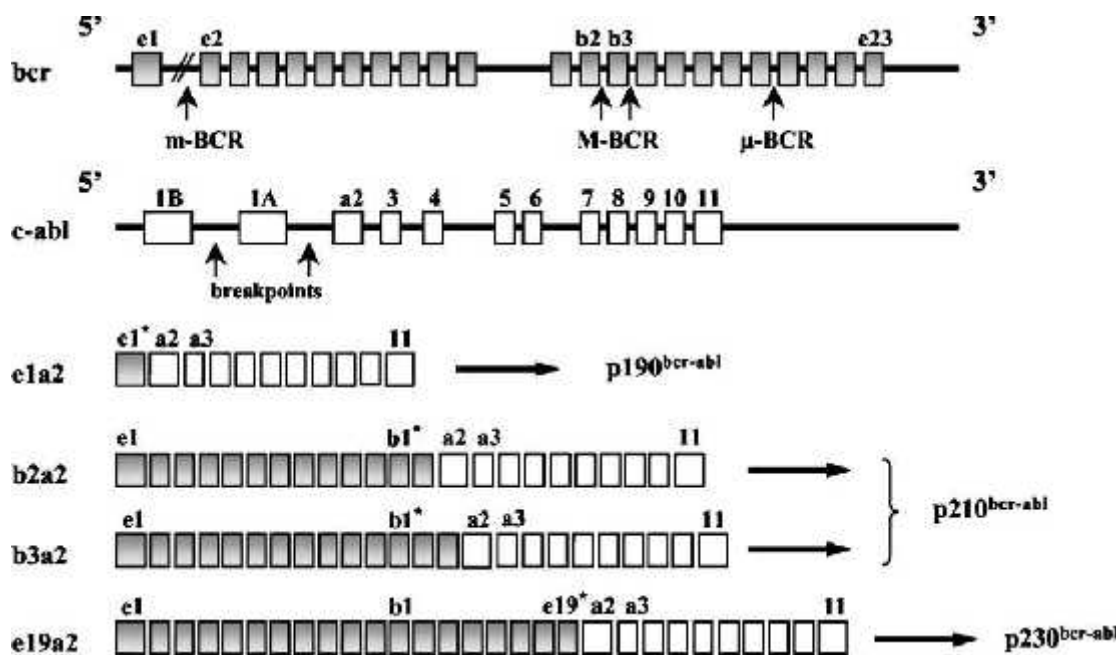


Figure 13 : les ARNm résultant de la fusion entre les gènes BCR et ABL et la protéine obtenue à partir de ces deux ARNm (Sebahoun G ,2005) .

d-Oncogenèse induite par BCR-ABL

La protéine P210 est responsable de la majeure partie des phénomènes qui mènent à la transformation leucémique. Elle possède une activité tyrosine kinase. Les kinases sont des enzymes qui catalysent la réaction d'attachement d'un groupement phosphate sur une protéine.

Elles sont elles-mêmes souvent activées par phosphorylation. L'ajout d'un phosphate sur ce segment entraîne un changement de conformation de la protéine kinase : ouverture de la boucle d'activation, le substrat peut à son tour être phosphorylé (figure 14). Ces enzymes sont essentielles aux cascades de signalisations intracellulaires et vitales pour l'organisme. Elles sont donc très régulées (Sebahoun G, 2005).

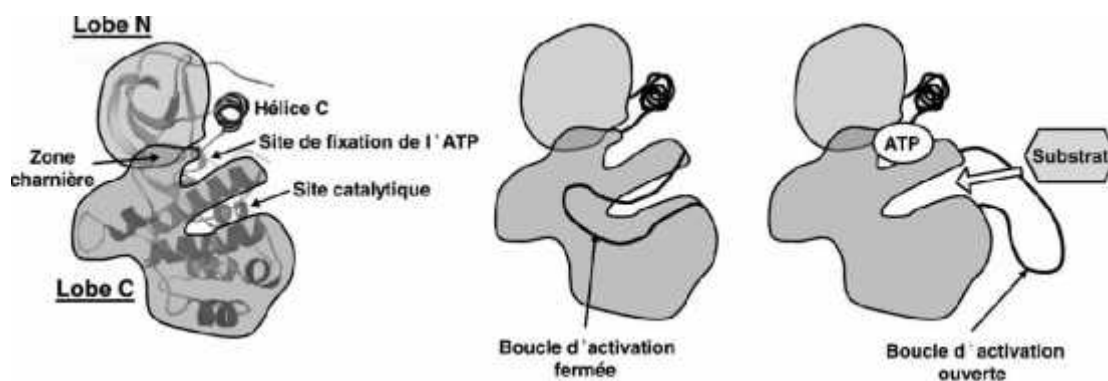


Figure 14 : Représentation schématique du domaine kinase d'une protéine tyrosine kinase (Sebahoun G ,2005).

e- Dérégulation de l'activité tyrosine kinase

Tout d'abord, la conséquence de la fusion entre BCR et ABL est la dérégulation de l'activité tyrosine kinase caractérisée par une augmentation d'activité, une absence de rétrocontrôle et une capacité d'autophosphorylation. Plus précisément, la protéine BCR-ABL comprend les trois domaines SH1, SH2 et SH3 et tous les autres domaines d'ABL. En ce qui concerne BCR, le motif de dimérisation (note 1B dans la figure 6) est la partie la plus importante (figure 15). Elle est à l'origine de dimères ou tétramères BCR-ABL qui facilitent l'autophosphorylation de l'oncoprotéine et son activation. De plus la perte de la partie N-terminale d'ABL supprime son auto-inhibition.

C'est ainsi que la juxtaposition de BCR à ABL a pour conséquence majeure l'activation de manière permanente de la fonction tyrosine kinase (**Pendergast et al,1991**).

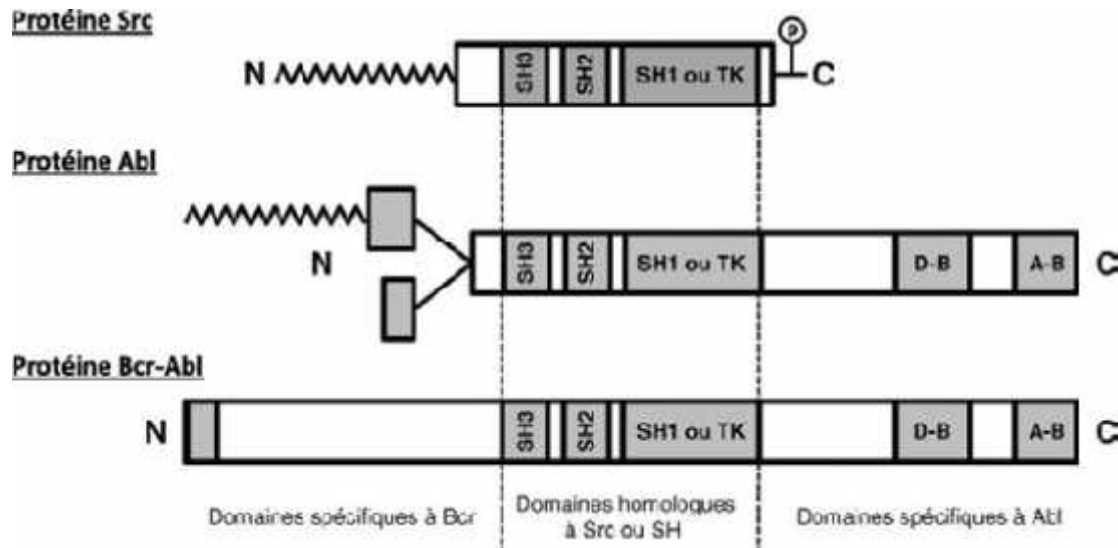


Figure15:Superposition des structures des protéines Src, ABL et BCR-ABL. SH pour Src homology, D-B pour DNA binding et A-B pour actin binding(**Pendergast et al, 1991**).

III-3-3- Voies de signalisation intracellulaire conduisant à la Leucemogenese

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

Ceci a pour conséquences :

- L'altération des propriétés d'adhésion des cellules tumorales immatures, ou progéniturs leucémiques, au stroma médullaire :
- L'activation de signaux mitotiques induisant un signal prolifératif et, selon la voie de signalisation impliquée un signal anti apoptotique
- Une inhibition de l'apoptose

· La dégradation des protéines Abi-1 et Abi-2 par le proteasome entraînant une levée de l'inhibition de l'activité tyrosine kinase d'ABL. On peut citer également la dégradation de protéines participant à la réparation de l'ADN, ce qui peut expliquer en partie l'instabilité génétique des cellules Ph+ conduisant vers la crise blastique (**Leguay et Mahon,2005**).

Les effets cellulaires de BCR-ABL sont donc réalisés grâce à leurs interactions avec des complexes protéiques impliqués dans les processus d'activation et de répression des gènes. La plupart de ces interactions sont réalisées via des protéines adaptatrices. Les principales voies de signalisation affectées sont les voies Ras, JAK/STAT, PI3K (figure 16).

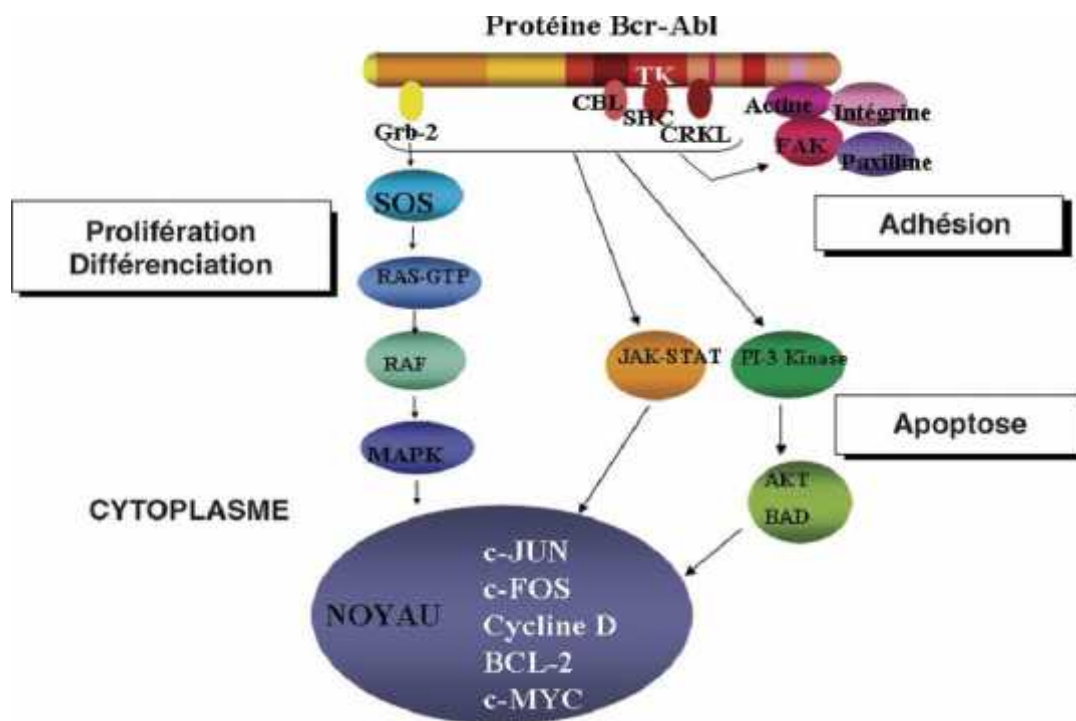


Figure 16 : Voies de signalisation cellulaire. La protéine BCR-ABL active différentes voies de signalisation. Pour simplifier, les principales conduisant à la leucémogénèse sont représentées ici. Cependant, de très nombreux substrats protéiques ont été identifiés comme étant directement ou indirectement phosphorylés par l'activité kinase de BCR-ABL (**Leguay et mahon, 2005**).

II-4-Traitement thérapeutique de la LMC

Le traitement de référence de la maladie jusqu'au début des années 2000 était l'association interféron-alpha/aracytine (Guilhot 1997). Par rapport à ce traitement, les inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK) ont révolutionné le pronostic de la LMC (Druker 2006). Ce sont ces molécules qui sont désormais à la base du traitement de la LMC, avec à leur tête l'Imatinib Mesylate ou Glivec (Cortes et al ,2012).

II-4-1- ITK de première génération : l'Imatinib Mesylate (Glivec)

Mécanisme d'action

Le domaine SH1 de la protéine de fusion BCR-ABL, responsable de l'activité tyrosine kinase, est la cible moléculaire des ITK. Ce domaine peut se présenter sous deux formes : une inactive (auto-inhibée) et une active permettant la liaison avec l'ATP, composées d'enchaînements d'hélices et de feuillets. Cela permet la constitution de plusieurs boucles Conformationnelles. Ainsi, la boucle P permet la fixation du groupe phosphate de l'ATP tandis que la boucle A joue un rôle dans l'activation de la protéine en démasquant le site catalytique de la protéine. Ce site catalytique permet la phosphorylation des substrats de la protéine BCR-ABL et donc le déclenchement de la cascade de signaux moléculaires dans la cellule.

L'Imatinib a été le premier ITK mis au point. Il agit comme un inhibiteur compétiteur sur le site de liaison de l'ATP, au niveau de la boucle P, uniquement dans la forme inactivée de la protéine de fusion BCR-ABL (Figure 17). Son action n'est pas totalement spécifique puisqu'il a également une affinité pour les PDGFR A et B (*platelet-derived growth factorreceptor*) et pour le récepteur c-Kit (Cortes et al, 2012).

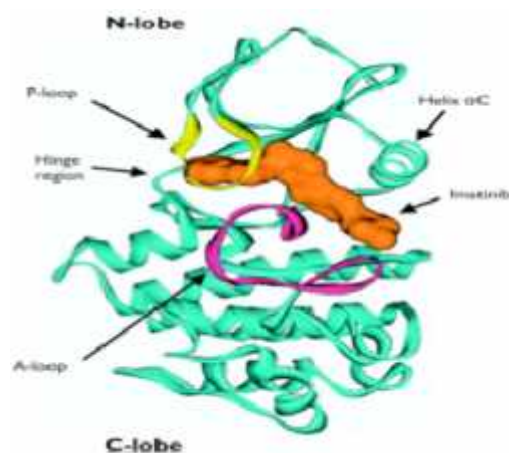


Figure 17 : Relation Imatinib/domaine tyrosine kinase de BCR-ABL (**Quintás-Cardama et cortes, 2009**).

II-4-2- Les ITK de deuxième génération

Ils sont donc efficaces sur la majorité des mutations du domaine kinase d'ABL à l'exception de rares mutations localisées sur la boucle P et surtout de la mutation T315I. Ce sont, eux aussi, des inhibiteurs compétitifs de l'ATP (**Cortes et al ,2012**).

a- Le Dasatinib

Il à la capacité de se fixer à la fois sur la forme inactivée (comme l'Imatinib) mais aussi sur la forme active de l'oncoprotéine et possède une affinité pour de nombreuses autres kinases (**Cortes et al ,2012**)

b- Le Nilotinib

Comme l'Imatinib, il ne se fixe que sur la forme inactivée de la protéine BCR-ABL (**Cortes et al ,2012**).

II-4-3-Les ITK de troisième génération

Le seul ITK de troisième génération qui a été développé pour le moment est le Ponatinib.

Il n'a été étudié que chez le sujet adulte et semble être efficace chez les patients porteurs de la mutation T315I (**Cortes et al,2012**).

-on peut citer aussi : **l'allogreffe de la moelle osseuse** comme un traitement ;

Allogreffe de cellules souches hématopoïétiques:

Elle permet, l'élimination des cellules leucémiques et la reconstitution d'une hématopoïèse normale (**Leguay et Mahon, 2005**).

La greffe reste encore pour certains le traitement de référence en première intention chez les patients jeunes ayant des facteurs de mauvais pronostic. Dans les autres cas, elle est proposée en deuxième intention (**Treuil, 2008**).

Chapitre III : techniques de détermination de caryotype

III-1-Techniques conventionnelles du caryotype

Le caryotype est une technique qui permet l'étude des chromosomes d'un individu. Cette technique permet d'obtenir une image, en microscopie optique, des chromosomes d'une cellule au cours de la métaphase ou de la prométaphase de la mitose. En génétique médicale, le caryotype contribue à la mise en évidence de remaniements chromosomiques équilibrés ou déséquilibrés. La résolution d'un caryotype standard est celle d'une bande chromosomique, soit environ 5 à 10 millions de paires de bases (mégabases) (Cédric Le Caignec ,2010).

III-1-1-Etapes de cultures des cellules

Tout prélèvement dont les cellules sont en division *in vitro* permet l'établissement d'un caryotype. Un prélèvement de sang veineux périphérique recueilli stérilement sur tube héparinate de lithium est le plus souvent utilisé pour réaliser un caryotype constitutionnel en période postnatale. Le sang total est incubé 48 à 72 heures dans un milieu de culture contenant une lectine à fort pouvoir mitogène (phytohémagglutinine ou PHA) permettant une stimulation de la croissance des lymphocytes T. Les fibroblastes de la peau sont également couramment utilisés en période postnatale mais demandent une culture cellulaire de une à trois semaines. Le fragment tissulaire est recueilli dans un milieu de culture stérile additionné d'antibiotiques.

En période anténatale, les amniocytes du liquide amniotique, les cellules trophoblastiques des villosités chorales ou les lymphocytes du sang fœtal sont utilisés. Le temps de culture est variable selon le type de cellule analysé. L'établissement d'un caryotype à partir de liquide amniotique nécessite, en moyenne, un temps de culture de 6 à 10 jours. Le temps de culture peut être plus long, parfois de plusieurs semaines, en raison de la faible quantité de cellules

initiales en cas d'amniocentèse très précoce ou en raison des nombreuses cellules en apoptose et des débris cellulaires en cas d'amniocentèse tardive (Cédric Le Caignec ,2010).

III-1-2--Obtenir des métaphases nombreuses et de bonne qualité :

Après la phase de multiplication des cellules, celles-ci sont bloquées au stade de métaphase afin de pouvoir observer les chromosomes. Pour se faire, on ajoute de la colchicine, produit dérivé du colchique. Cette substance empêche la polymérisation de la tubuline et donc la formation du fuseau mitotique. La mitose est bloquée au stade de métaphase.

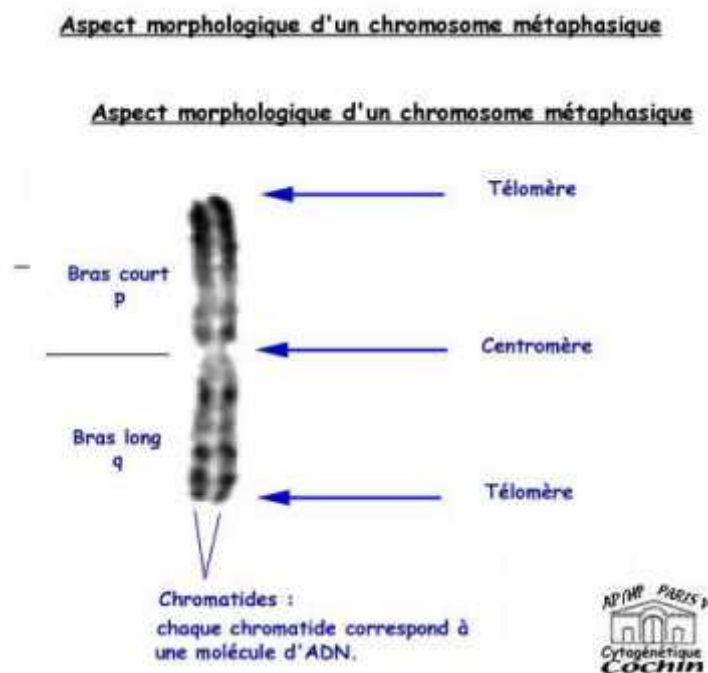


Figure 18: aspect morphologique d'un chromosome métaphasique (Hélène Zattar).

On procède ensuite au choc hypotonique. Cette étape, indispensable pour avoir un étalement correct, entraîne le gonflement des cellules par différence de pression osmotique. Les

membranes cytoplasmique et nucléaire sont fragilisées. Les constituants cellulaires sont ensuite fixés grâce à un fixateur, par exemple un mélange acide acétique méthanol.

Les cellules sont alors prêtes à être étalées. On laisse tomber quelques gouttes de cette préparation sur une lame de verre. Le fait de faire tomber la suspension cellulaire fait éclater les membranes fragilisées, libérant ainsi les chromosomes qui restent toutefois groupés. Les lames sont ensuite observées en microscopie optique (Cédric Le Caignec ,2010).

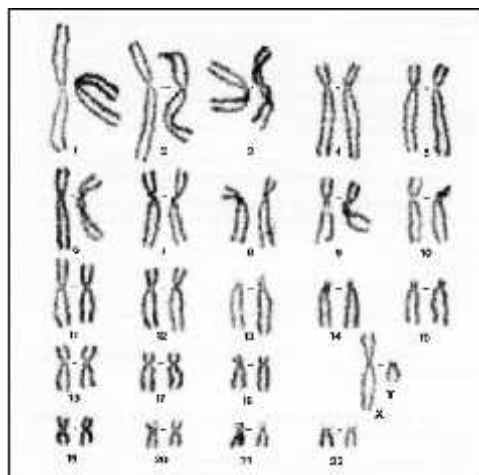
III-1-3-Identifier les chromosomes

a- les techniques classiques utilisées en routine

Une simple coloration au **Giemsa** permet de compter et de classer les chromosomes en fonction de leur taille et de leur indice centromérique.

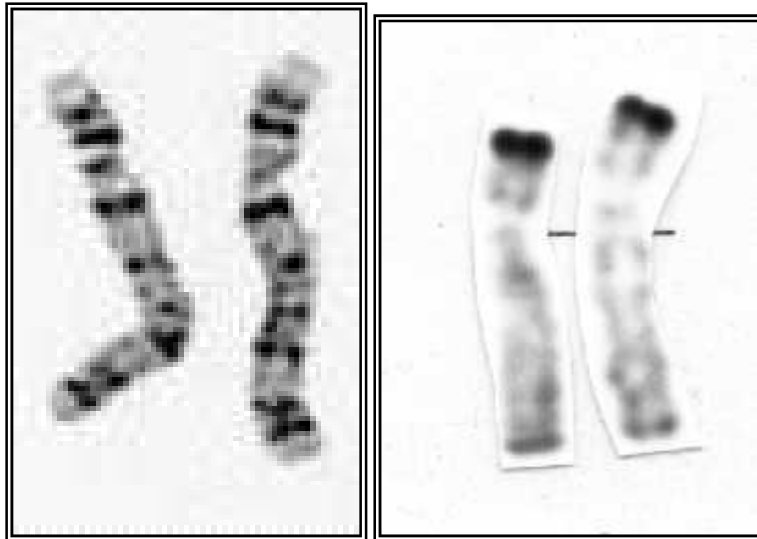
Les méthodes de marquage ou *banding* révèlent le long des chromosomes une alternance de bandes transversales, faiblement ou fortement colorées, dont la disposition topographique est spécifique de chaque paire chromosomique. Les bandes G (GTG) obtenues par dénaturation enzymatique et les bandes R (RHG) par dénaturation thermique ont chacune un contenu spécifique en ADN. Ces deux marquages, en contretypage, sont complémentaires.

Lorsque l'on a une bande sombre avec l'une des techniques, avec l'autre on obtient une bande claire. Le marquage révèle l'euchromatine c'est à dire les régions chromosomiques où l'ADN



est préférentiellement transcrit et l'hétérochromatine c'est à dire les régions chromosomiques où l'ADN est préférentiellement inactif. Un marquage en bandes Gou R permet de visualiser 300 à 600 bandes par lot haploïde de chromosomes (Cédric Le Caignec, 2010).

Giemsa



Bandes G

Bandes R

Figure 19 : coloration au Giemsa (Hélène Zattar).

b- les techniques spécifiques

Quelques colorations sont spécifiques de segments chromosomiques précis: les bandes C pour l'hétérochromatine constitutive (centromères et constriction secondaires), L'imprégnation argentique pour les organisateurs nucléolaires (régions contenant les gènes des ARN ribosomiques ou NOR). Les bandes Q (QFQ) par coloration à la quinacrine et observation en fluorescence, sont superposables aux bandes G et colorent intensément la partie distale, hétérochromatique, des bras longs de l'Y, certains centromères et certains bras courts des acrocentriques (Cédric Le Caignec ,2010).

c- les techniques de haute résolution

L'étude des cellules en prométaphase (fin de prophase ou début de métaphase) par synchronisation des cultures associée à l'incorporation d'analogues de bases (bromodésoxyuridine ou BrdU) qui modifient les propriétés tinctoriales des bandes chromosomiques, permet d'améliorer la résolution du caryotype et d'observer 600 à 800 bandes par lot haploïde de chromosomes. Des remaniements chromosomiques plus fins peuvent être observés mais l'interprétation est délicate et plus efficace si elle est focalisée sur un chromosome ou une région chromosomique donnée.

Cette technique de haute résolution est de plus en plus remplacée par l'analyse chromosomique sur puce à ADN (ACPA) (Cédric Le Caignec, 2010).

III-2-Description du caryotype humain

II-2-1-le chromosome métaphasique

Il est constitué de deux chromatides sœurs réunies par un centromère dont la position définit les bras courts ou p et les bras longs ou q. L'indice centromérique ($p/p+q$) permet de distinguer les chromosomes métacentriques, submétacentriques et acrocentriques. Les chromosomes métacentriques ont un bras court et un bras long dont la taille est assez proche à la différence des chromosomes submétacentriques pour lesquels la taille du bras court est nettement inférieure à celle du bras long. Les chromosomes acrocentriques (chromosomes 13, 14, 15, 21 et 22) ont un centromère très distal, les bras courts sont très réduits, surmontés de tiges (organiseurs nucléolaires) porteuses de satellites. Les chromosomes acrocentriques sont impliqués dans les translocations Robertsonienne. Les télomères sont les extrémités distales des chromosomes.

Le nombre et la morphologie générale des chromosomes sont les mêmes pour tous les individus. Cependant, les régions d'hétérochromatine peuvent être le site de variations

interindividuelles, sans conséquences phénotypiques. Ces polymorphismes chromosomiques portent souvent sur la longueur de l'hétérochromatine des bras longs de l'Y, des régions centromérique des chromosomes 1, 9 et 16 et sur les bras courts des acrocentriques (**Cédric Le Caignec ,2010**).

III-2-2- la classification des chromosomes :

Le caryotype humain comporte 46 chromosomes, soit 22 paires d'autosomes et une paire de gonosomes: en général, deux chromosomes X dans le sexe féminin ; un X et un Y dans le sexe masculin. Le caryotype normal s'écrit : 46,XX ou 46,XY. Attention, il existe des situations particulières. Un phénotype féminin peut être observé en association avec un caryotype 46,XY, par exemple en cas de mutation du gène *SRY*.

Les chromosomes sont classés en fonction de leur taille décroissante et leur indice centromérique. Les techniques de marquage en bandes aident à identifier chaque paire chromosomique par le motif des bandes claires et sombres. Les bandes sont répertoriées dans une nomenclature internationale. Chaque bras chromosomique est divisé, selon sa taille, en une à quatre régions; chaque région en bandes numérotées du centromère au télomère. Par exemple, la dénomination 6p12 désigne la deuxième bande de la région 1 des bras courts du chromosome 6 (**Cédric Le Caignec ,2010**).

III-3-Indication du caryotype constitutionnel :

Il convient de distinguer les indications du caryotype en période anténatale et en période postnatale.

1. En période anténatale :

Le caryotype est l'examen de référence lorsqu'une anomalie chromosomique est suspectée en période anténatale. Les indications sont variées :

risque combiné du premier trimestre ou risque séquentiel intégré du deuxième trimestre supérieur ou égal à 1/250 (risque qui prend en compte l'âge maternel, les marqueurs sériques maternels du premier ou deuxième trimestre et la clarté nucale mesurée à l'échographie de 12 SA),

signe(s) d'appel échographique.

antécédent familial de déséquilibre chromosomique et /ou parent porteur d'un remaniement chromosomique équilibré (translocation réciproque, translocation Robertsonienne, inversion...).

diagnostic de sex (**Cédric Le Caignec ,2010**) .

2. En période postnatale :

2-1- patient présentant :

phénotype évocateur d'un syndrome chromosomique connu ;

Le caryotype est proposé en première intention devant une association de signes suggérant fortement un syndrome chromosomique connu (par exemples : trisomie 21, syndrome de Turner, syndrome de Klinefelter...).

Jusqu'à récemment, le caryotype était un élément essentiel du bilan d'un patient présentant une déficience intellectuelle associée ou non à une dysmorphie faciale, à une ou des malformations congénitales, à un trouble envahissant du développement. Il permettait la détection d'un déséquilibre chromosomique, délétion ou duplication. Les développements récents des puces à ADN génomique ont modifié les indications du caryotype dans l'exploration de la déficience intellectuelle. Des déséquilibres de beaucoup plus petite taille peuvent être mis en évidence augmentant considérablement le niveau de résolution comparé à ce qui peut être obtenu grâce à un caryotype standard. Lorsque le phénotype du patient n'est pas cliniquement reconnaissable, l'ACPA est de plus en plus proposée en première intention en remplacement du caryotype standard. Le caryotype vient cependant en complément de

l'ACPA dans au moins deux situations : (1) Si une délétion ou une duplication chromosomique de novo est identifiée par puce à ADN, il est important de réaliser les caryotypes parentaux. En effet, l'un des parents peut être porteur d'une insertion chromosomique. Dans ce cas, le caryotype parental est équilibré mais, chez l'un d'eux, la région chromosomique délétée ou dupliquée chez l'enfant est insérée ailleurs sur le génome. Le risque de transmettre à nouveau cette délétion ou cette duplication est proche de 50%. Si le déséquilibre est de trop petite taille pour être visible grâce à un caryotype standard, une hybridation in situ en fluorescence sur métaphases est indiquée afin de localiser la région chromosomique sur le génome ; (2) La suspicion chez un patient d'un dérivé de translocation réciproque par puce à ADN génomique nécessite la réalisation du caryotype de l'enfant et de ses parents. Un dérivé de translocation est suspecté sur une puce à ADN lorsque la partie terminale d'un chromosome est délétée et que la partie terminale d'un autre chromosome est dupliquée. Un dérivé de translocation réciproque peut être le résultat d'une translocation réciproque parentale équilibrée. Cette information est importante en conseil génétique en raison du risque de récurrence non négligeable.

Une hypotonie néonatale avec dysmorphie.

Un retard de croissance intra-utérin associé à une dysmorphie ou à une anomalie Neurologique.

Une anomalie de la différenciation sexuelle (ADS) : Une ADS observée à la naissance peut justifier la réalisation d'un caryotype constitutionnel.

Il permet de déterminer la formule gonosomique, XY ou XX, et ainsi d'orienter le choix du sexe civil donné à l'enfant.

Un retard de croissance : A tout âge, un caryotype peut être demandé devant un retard de croissance. Lorsque le retard de croissance est isolé, la recherche d'une délétion de l'ensemble ou d'une partie (i.e. un ou plusieurs exons) du gène SHOX par une technique ciblée de

génétique moléculaire, par exemple PCR quantitative, est de plus en plus utilisée en complément ou remplacement du caryotype.

Un retard ou une absence de puberté.

Une aménorrhée primaire ou secondaire, une ménopause précoce

Une association de signes cliniques évocateurs d'un syndrome microdélétionnel ou Microduplicationnel.

une suspicion d'un syndrome d'instabilité chromosomique (Cédric Le Caignec ,2010) .

2-2-Couple présentant un trouble de la fertilité ou des avortements spontanés à répétition

A la différence des puces à ADN, le caryotype permet de visualiser la morphologie des chromosomes et ainsi la mise en évidence des remaniements chromosomiques équilibrés. Le caryotype est par conséquent essentiel au bilan réalisé dans le cadre de troubles de la fertilité (azoospermie ou oligospermie sévère) ou d'avortements spontanés à répétition. Il permet la détection d'une translocation réciproque ou Robertsonienne parentale équilibrée.

A ce jour, les puces à ADN ne permettent pas de répondre à cette question (Cédric Le Caignec ,2010) .

2.3 Devant un remaniement de structure familial connu

Lorsqu'un remaniement de structure est connu au sein d'une famille (translocation réciproque ou Robertsonienne), le caryotype est indiqué chez toute personne à risque d'être porteuse du remaniement chromosomique à l'état équilibré. Si la translocation implique des fragments chromosomiques de grande taille, le caryotype peut suffire au diagnostic. En revanche, si les fragments chromosomiques sont de petite taille, la FISH peut être indiquée en complément du caryotype.

Le caryotype est également un examen essentiel au diagnostic et à la caractérisation de pathologies acquises dont les hémopathies et les tumeurs solides. Nous ne détaillerons pas ces indications qui ne relèvent pas de la cytogénétique constitutionnelle (**Cédric Le Caignec ,2010**) .

Matériels et méthodes

Objectif

A partir de cette synthèse bibliographique, nous souhaitons investir notre recherche sur la leucémie myéloïde chronique LMC à travers une approche épidémiologique.

Le Protocole à suivre tiendra compte:

1-De l'analyse des données d'incidences et de prévalence de la LMC au centre hospitalier de SAIDA.

2- D'établir la répartition de cette affection selon les différentes régions de la wilaya de SAIDA et selon les caractéristiques des patients (âge, sexe, lieu de résidence et la profession).

3- De rechercher les différents facteurs de risques, liés au mode de vie ; les facteurs environnementaux, professionnels ou génétiques.

4-D'évaluer la prise en charge et la survie des patients atteints.

1-Population d'étude

Notre travail est réalisé sur une population atteinte de leucémie myéloïde chronique, au niveau d'EPH Ahmed-Medeghri situé au centre-ville de Saida.

2-Etude épidémiologique

2-1 Type de l'étude

Il s'agit d'une étude rétrospective descriptive portant sur les dossiers des malades dans les archives au service d'hématologie clinique et sur les fiches de consultation de ce service.

La collecte d'information est réalisée grâce à l'établissement d'une fiche technique pour l'exploitation des résultats.

2-2 Période d'étude

Notre étude a couvert une période de 10 ans, allant de juin 2007 à Décembre 2017.

2-3 Lieu de l'étude

Le service d'Hématologie clinique a servi de lieu de recrutement des dossiers des malades. Cette structure a une fréquentation à prédominance adulte et relève d'une gestion clinique commune profitant de la prestation des spécialistes en hématologie et oncologie.

2-4 Population d'étude

L'étude concerne tous les sujets qui répondaient aux critères suivants :

Tous les patients suivis en consultation hématologique ou hospitalisés à l'EPH de SAIDA de 2007 à 2017, dont les dossiers ont été retrouvés et dont le diagnostic d'une LMC a été retenu sur la base des examens biologiques et/ou histologiques, ont fait l'objet de cette étude.

3- Paramètres d'étude

Les paramètres sur lesquels notre étude a porté sont :

- Les données sociodémographiques :

L'âge, le sexe, le secteur d'activité et la résidence habituelle.

- Les antécédents d'exposition à des facteurs de risque :

Radiations électromagnétiques et ionisantes et infection virale.

- Les paramètres biologiques au diagnostic :

Hémogramme, myélogramme, biologie moléculaire et détection d'anomalies chromosomiques.

Les données ont été directement recueillies à partir des dossiers des malades disponibles dans les archives du service d'hématologie clinique. De même, l'état de quelques dossiers médicaux dans la salle des archives dont ne nous a pas permis de trouver certaines informations.

4- Analyses statistiques

Les résultats obtenus sont présentés sous deux formes soit :

- Pourcentage pour les données épidémiologiques.
- Moyenne plus ou moins (+ / -) erreur standard de la moyenne (ESM) pour les paramètres biologiques.

Résultats & Interprétations

Sur une période de 10 ans (2007-2017), 34 dossiers de LMC évaluables ont été analysés.

1- Incidence

La répartition des nouveaux cas de LMC par année sur la période allant de 2007 à 2017 est représentée dans la Figure 20.

Elle est de 1 cas en 2007, 0 cas en 2009, 4 cas en 2011, 5 cas en 2012, 4 cas en 2013, 6 cas en 2014, 3 cas en 2015, 4 cas en 2016, 5 cas en 2017,

Nous avons en moyenne 3,4 cas par année.

L'incidence annuelle est en fluctuation selon les années, avec un maximum pour les ans 2011 ; 2013 et 2016.

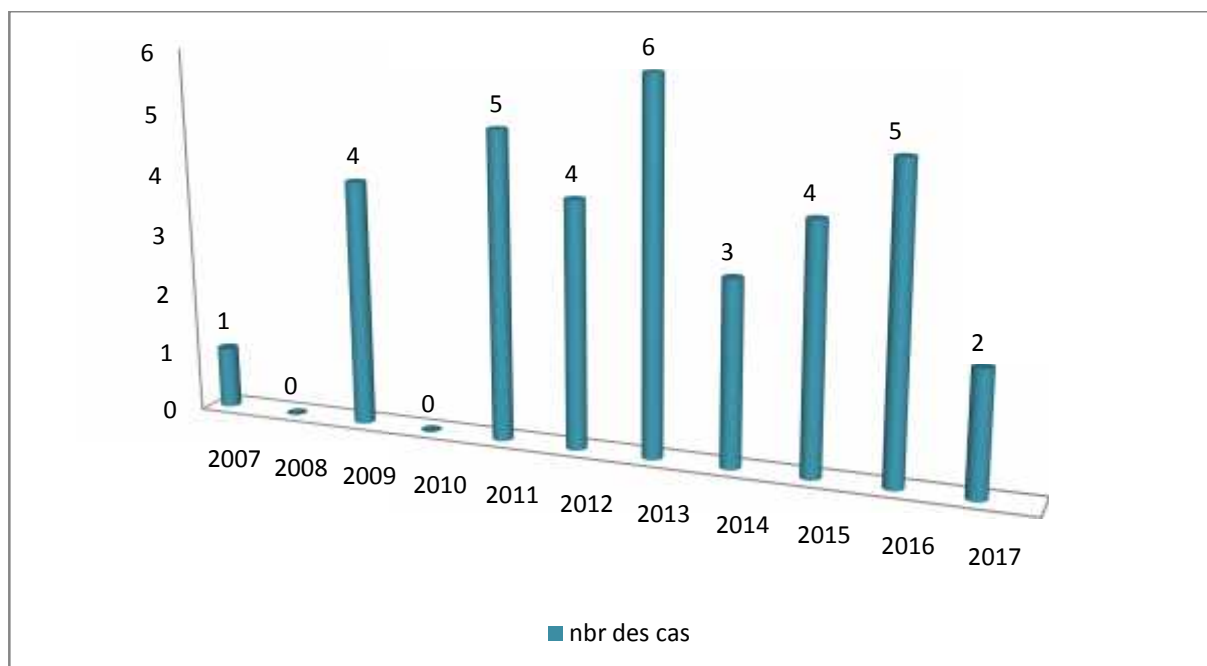


Figure 20 : Répartition des cas selon les années

2- Répartition selon les caractéristiques des patients

2.1- Sexe

La répartition des patients atteints de LMC à SAIDA est représentée dans la Figure 21.

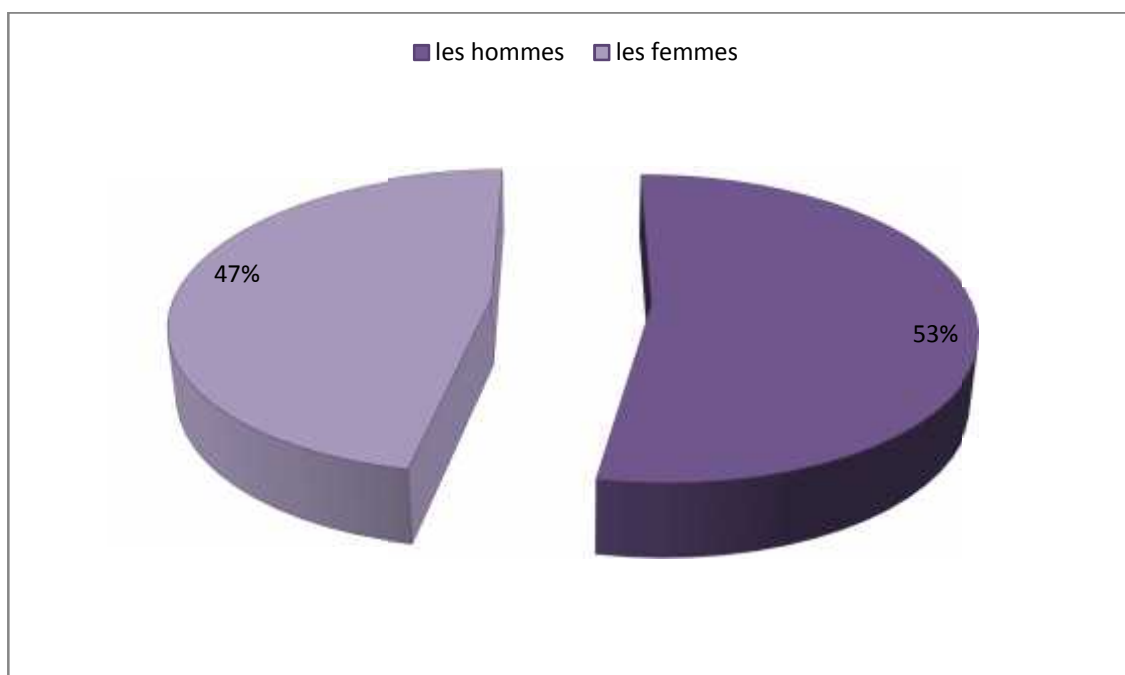


Figure 21. Répartition des patients atteints de LMC selon le sexe.

On note dans notre série une légère prédominance masculine. En effet Sur 34 patients nous avons 18 Hommes (52.94%) et 16 femmes (47.05%), le sexe .ratio H/F est de 1,12.

2.2- Âge

La répartition des patients selon l'âge est représentée dans la Figure 22.

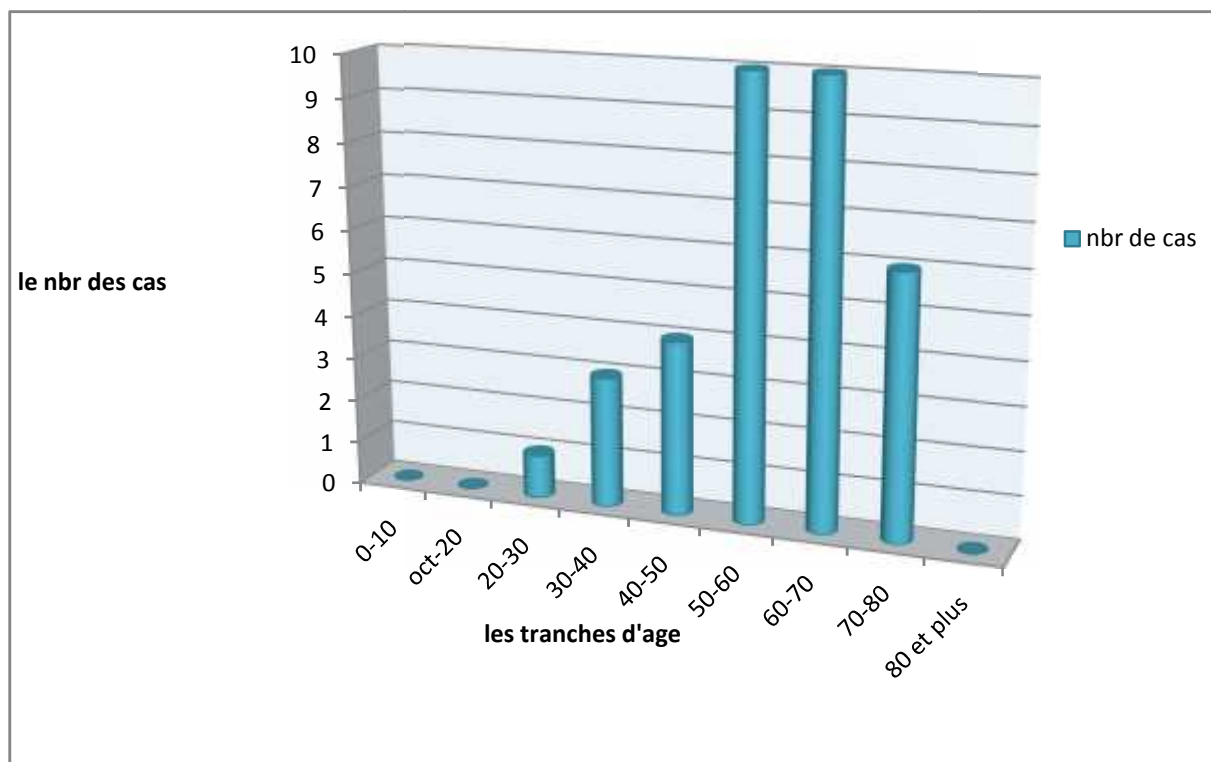


Figure 22 : la répartition des cas selon l'âge.

L'âge moyen des patients est de 58 ans avec des extrêmes allant de 27 ans à 77 ans.

Le pic de fréquence est situé dans la tranche d'âge 50 à 70 ans.

2.3 Répartition géographique

La Figure 23 illustre la répartition des patients atteints de LMC selon leurs résidences.

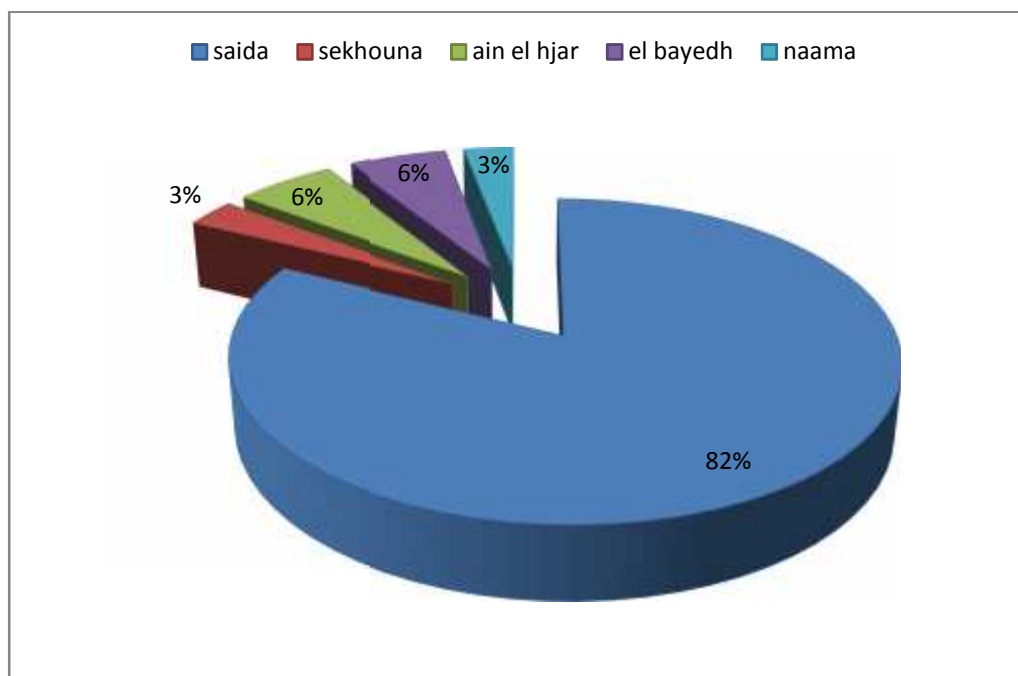


Figure 23. Répartition des patients atteints de LMC selon leurs résidences.

Le lieu de résidence est précisé dans les 34 dossiers, 28 patients sont originaires de la Wilaya de SAIDA (82%), 2 patients sont retrouvés dans la daïra d’Ain El Hadjar (6%) et El Bayedh (6%), seulement 1 patient réside à Ain sekhouna (3%), alors que 1 patients (3%) demeurent à Naama.

2.4 Profession

Elle n'est pas précisée dans la majorité des dossiers des malades.

Néanmoins, nous notons que la plupart des patients sont en retraite et qu'ils ont fait plusieurs métiers pendant leur vie.

3. Signes cliniques

3-1 Antécédents

Notre étude des dossiers des malades révèle que dans 25 cas, il n'y a pas d'antécédents, par contre une HTA est retrouvée dans 4 cas, une insuffisance rénale dans 3 cas, un trouble respiratoire chronique dans 1 cas, un trouble psychiatrique 1 cas.

3-2 Echographie abdominale

Nos résultats montrent au diagnostic, qu'un patient (3%) parmi les 34 patients atteints de la LMC présentent une splénomégalie à stades I. l'Hépatomégalie est présente que dans 2 cas (6%) de nos patients atteints de LMC. Alors 1 seul patient présent une hypertrophie chez le malade atteint de LMC et au même temps de l'insuffisance rénale (3%) le reste des patients n'avais pas de problème (88%).

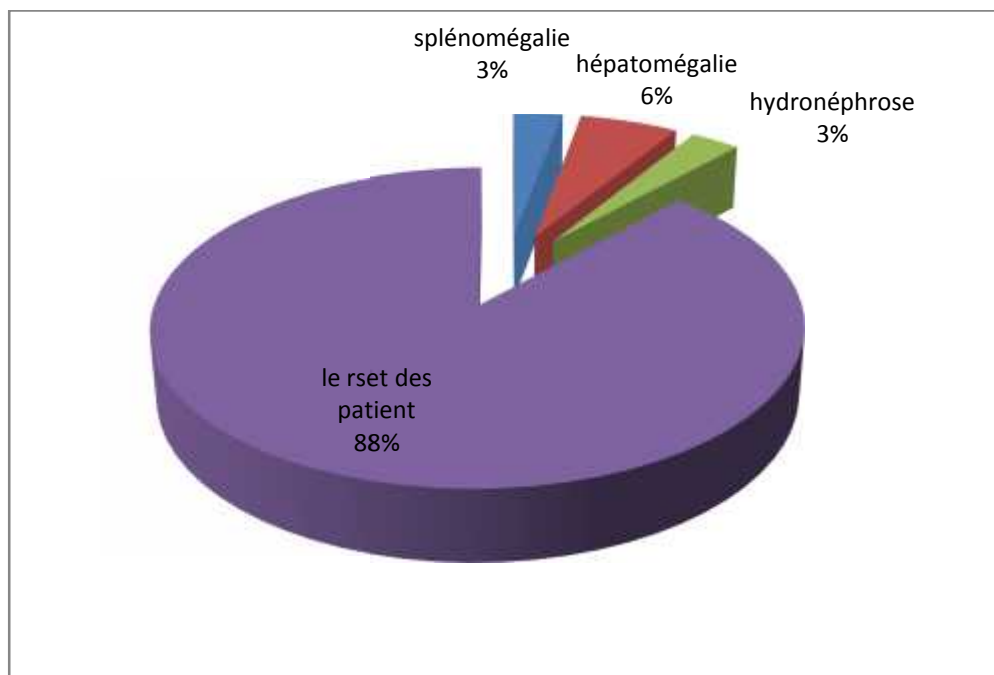


Figure 24: la répartition des patients selon leurs cas d'échographie.

4. Caractéristique biologiques

4-1 Détermination du taux des globules rouges chez les sujets atteints de LMC comparés aux témoins

Les résultats obtenus sont représentés dans la Figure 25.

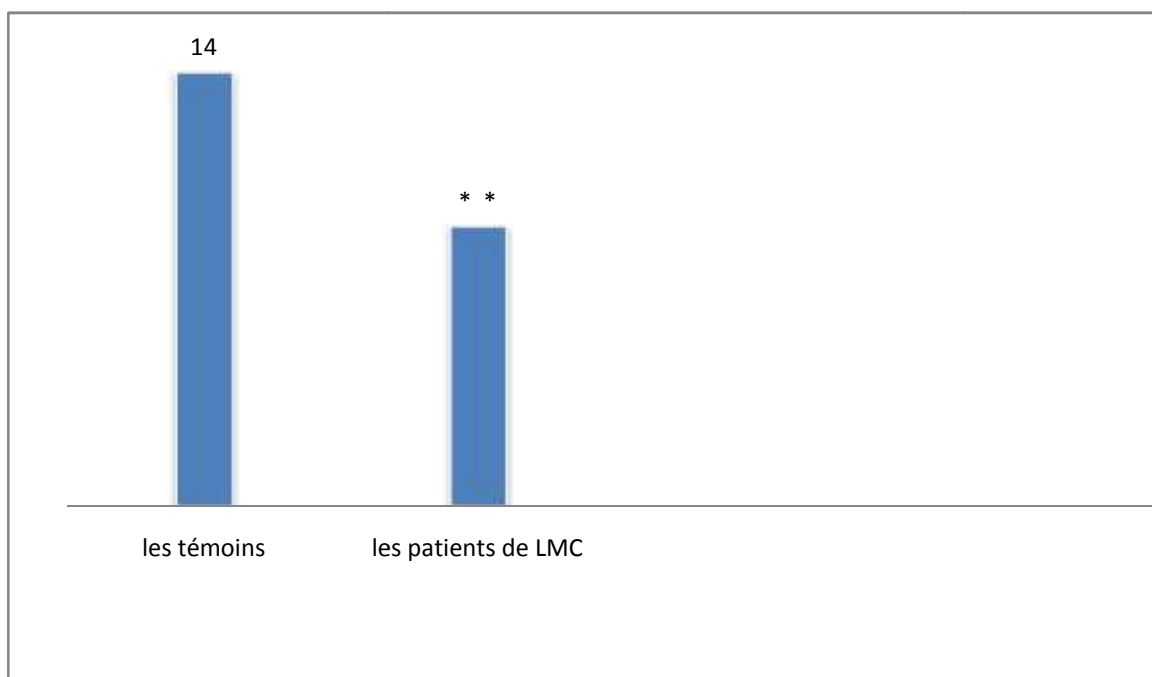


Figure 25 : Taux des globules rouges chez les sujets atteints de LMC.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES.

La comparaison des moyennes entre les témoins et les patients atteints de LMC est réalisée par le test de Student « t » après analyse de la variance ($p^* < 0.05$, $p^{**} < 0.01$ et $p^{***} < 0.001$)

Selon ces résultats, on remarque une diminution très significative du taux de globules rouges chez les malades par rapport aux témoins.

4-2 -Détermination du taux des plaquettes chez les sujets atteints de LMC comparés aux témoins

Les résultats obtenus sont représentés dans la figure 26.

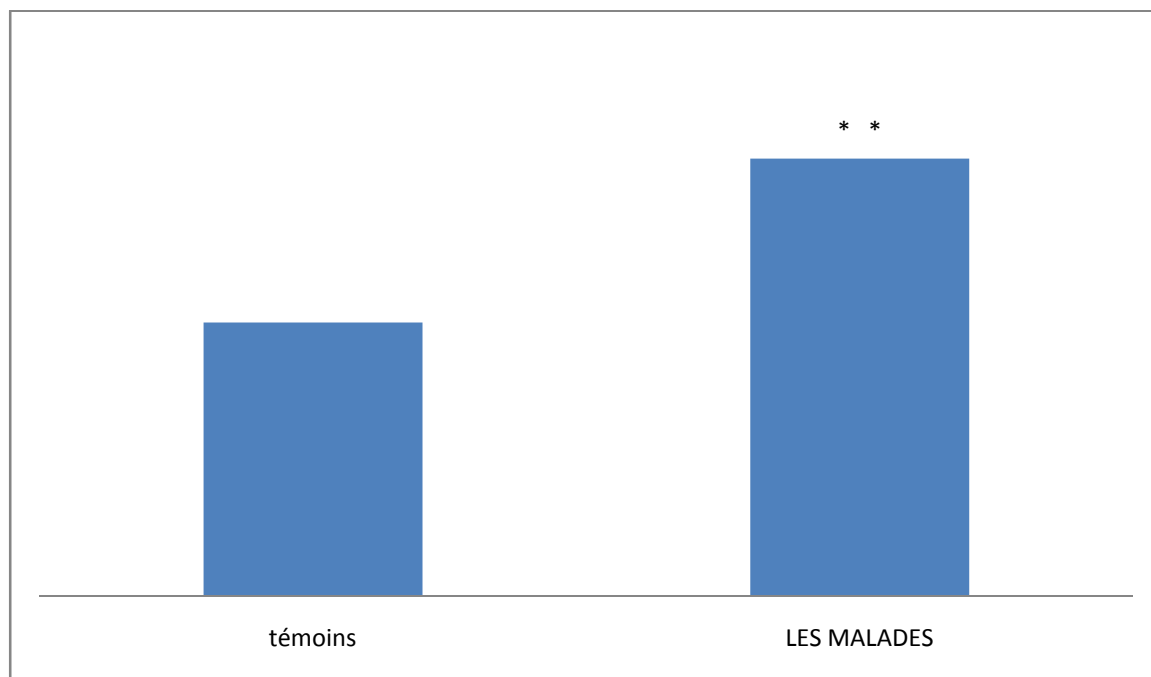


Figure 26 : détermination du taux de plaquettes chez les patients LMC.

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES.

La comparaison des moyennes entre les témoins et les patients atteints de LMC est réalisée par le test de Student « t » après analyse de la variance ($p^* < 0.05, p^{**} < 0.01, p^{***} < 0.001$)

Selon ces résultats on remarque une augmentation peu significative du taux de plaquettes chez les malades par rapport aux témoins.

4-3-Détermination du taux des globules blancs chez les sujets atteints de LMC comparés aux témoins

Les résultats obtenus sont représentés dans la Figure27.

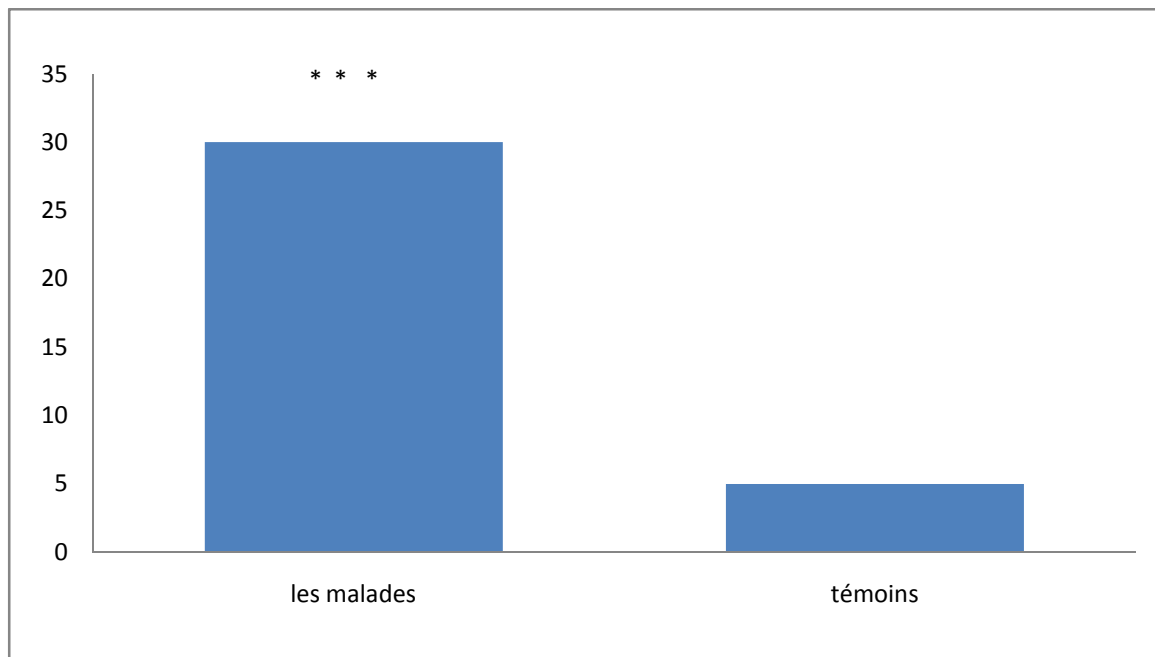


Figure 27 : détermination du taux de globules blancs chez les patients LMC

La comparaison des moyennes entre les témoins et les patients atteints de LMC est réalisée par le test de Student « t » après analyse de la variance ($p^* < 0.05$, $p^{**} < 0.01$ et $p^{***} < 0.001$).

Nos résultats montrent une augmentation hautement significative du taux de globules blancs chez les malades par rapport aux témoins.

4-4-Détermination du transcrit BCR/ABL chez les patients atteints de LMC

L'exploration en biologie moléculaire pour la quantification du transcrit BCR/ABL est faite chez seulement 19 patients sur la totalité de nos patients. Ces derniers se sont avérés positifs avec un ratio BCR-ABL/ABL variant 0.00026 à 87 % (Tableau 1)

Transcrit ABL/BCR (%)	Nbre de patientes
0.00026	2
0.00039	3
0.013	1
0.086	2
13	1
18	1
21	1
33	2
34	2
41	1
44	1
53	1
87	1

5-Traitement

En premier temps les patients utilisent les comprimés d'IMATINIB avec une dose de 400mg/jour, c'est le traitement de référence. L'efficacité du traitement est alors jugée sur la réponse hématologique qui doit être complète (RHC) à 3 mois, posée sur les éléments suivants : rate non palpable ; taux de globules blancs inférieur à $10 \times 10^9/l$, absence de myélémie, taux de plaquettes inférieur à $450 \times 10^9/l$ et basophilie inférieure à 5%. En l'absence de RHC, la dose d'imatinib peut être augmentée à 600 mg/jour jusqu'à 800 mg selon la tolérance et en cas de réponse, la dose optimum sera poursuivie avec surveillance mensuelle. Mais il y a des patients qui changent leurs traitements vers Tasigna, GLIVEC, NILOTRINIB ou HYDREA suite à une résistance ou intolérance à l'imatinib.

Discussion

Notre travail a pour objectif d'évaluer une approche épidémiologique de la leucémie myéloïde chronique dans la Wilaya de Saida qui est une affection relativement rare à notre Wilaya. Nous avons en moyenne 3,4 cas par année. Son incidence est en augmentation lente puisqu'elle passe de 2 cas/an avec un maximum en 2013,2015 et 2016 ceci pourrait s'expliquer probablement la culture de la société d'avoir un bilan sanitaire à chaque fois qu'ils se sentent que cette maladie persiste.

La prévalence absolue de la LMC en Algérie en décembre 2009 est de 806 cas alors qu'elle n'était que de 472 en 2004 (). La prévalence relative passe de 1,8 cas /100000 habitants par an en 2004 à 2,3 cas /100000 habitants par an en 2009 (Pr Ahmed, 2009).

L'incidence de la LMC dans le monde est comprise entre 0.7 et 1.7 l'incidence la plus basse rapportée en Suède et en Chine, à 1.7 à 2 en Suisse et aux Etats Unis (Pr Ahmed, 2009).

Sur 34 patients, nous avons 18 hommes (53%) et 16 femmes (47 %). On note une légère prédominance masculine avec un sexe ratio H/F=1.12. Ce dernier varie entre 1.4 et 2.2 dans les sries de la littérature (Choquet, 2007), en France il est de 1.4 (Nicolini., 2005) et en Italie (Readelli et al., 2004). Par contre, à Oran une prédominance féminine est observée, avec un - sexe ratio = 0.94 (Zatla et al., 2008), ce résultat est confirmé par d'autres études réalisées au Mali durant la période 1988-1992 (Cissoko, 2005).

Dans notre étude, on ne retrouve pas de cas familiaux, ni d'antécédents de LMC chez les ascendants de patients suivis pour cette affection.

En comparant avec les pays occidentaux, on remarque qu'on est dans le même intervalle d'âge dont l'âge médian est de 58 ans donc cette pathologie touche les adultes.

Nos résultats coïncident avec les résultats de la population française atteinte de LMC d'après l'étude de Nicolini qui est de 54 ans (Nicolini, 2005). Par contre ils sont supérieurs aux études

multicentriques effectuées à l'échelle nationale (Djouadi-Lahlou., 2009) qui donnent des moyennes d'âge de 44 ans.

L'étiologie de la LMC n'est pas bien élucidée jusqu'à présent, les facteurs génétiques sont très peu incriminés, très peu de cas familiaux sont décrits (Dreyfus., 1992).

Le diagnostic de la LMC à Saida reste insuffisant puisqu'il repose essentiellement sur l'hémogramme et myélogramme, d'où l'intérêt de développer les moyens diagnostiques permettant l'exclusion des autres SMP, caryotype, biologie moléculaire à la recherche du transcrit BCR/ARL.

C'est pour cela la détection du chromosome Philadelphie et la quantification du transcrit BCR-ABL est faite chez seulement 19 patients et pour cause le cout de l'examen qui reste bien au-dessus des moyens des patients. Il faut savoir que cette exploration moléculaire est assurée par les laboratoires privés et n'est pas pris en charge par le Centre Hospitalier de Saida.

Pour les paramètres hématologiques, l'hyperleucocytose est déterminé chez notre population, est en accord avec les données de la littérature (Bosly, 2000 ; Zatlá et al., 2008).

En 2005, les leucémies myéloïdes chroniques se situent au 22e rang des décès par cancer, et représentent 0,7 % de l'ensemble des décès par cancer. Les taux de mortalité standardises (pour 100 000 personnes/années) sont de 0,9 et de 0,4 respectivement, chez l'homme et chez la femme.

Conclusion

Cette étude nous donne un profil représentatif de l'épidémiologie de la leucémie myéloïde chronique au Centre Hospitalier de la Wilaya de Saida. Sur 34 dossiers de patientes, on a remarqué une augmentation significative de leur incidence avec une légère prédominance masculine avec une augmentation très significative du taux des globules blancs, une augmentation significative des plaquettes et une diminution significative des globules rouges.

La Leucémie myéloïde chronique (ou LMC) est passée d'une maladie potentiellement fatale à une maladie dont la prise en charge est satisfaite pour la plupart des patients. Chez les patients qui sont bien traités et chez lesquels le traitement a un véritable effet, la LMC n'est plus la menace qu'elle était autrefois. Depuis que l'imatinib a été autorisé en 2001, les médecins ont fait des progrès significatifs dans le traitement de la LMC. Non seulement de nombreux patients survivent à long terme, mais en plus, ils profitent d'une bonne qualité de vie.



References bibliographiques

Référence bibliographique

Apperley, J. F. (2009). "CML in pregnancy and childhood." *Best Pract Res Clin Haematol* 22(3): 455-474.

- Birch, J. M., Alston, R.D., Quinn, M., Kelsey, A.M. (2003). "Incidence of malignant disease by morphological type, in young persons aged 12-24 years in

- Burmeister, T., Reinhardt, R. (2008). "A multiplex PCR for improved detection of typical and atypical *BCR-ABL* fusion transcripts." *Leuk Res* 32(4): 579-585.

- Chomel J.-C; Sorel N; Mayeur-Rousse C; Turban A.G. (2009). Les syndromes myéloprolifératifs, Immuno-analyse et biologie spécialisée. 24, 69-85.

- Cortes, J. E., Kantarjian, H., Shah, N. P., Bixby, D., Mauro, M. J., Flinn, I., O'Hare, T., Hu, S., Narasimhan, N. I., Rivera, V. M., Clackson, T., Turner, C. D., Haluska, F. G., Druker, B.J., Deininger, M. W., Talpaz, M. (2012). "Ponatinib in refractory Philadelphia chromosome positive leukemias." *N Engl J Med* 367(22): 2075-2088.

- Cross, N. C., Melo, J.V., Feng, L., Goldman, J.M. (1994). "An optimized multiplex polymerase chain reaction (PCR) for detection of *BCR-ABL* fusion mRNAs in haematological disorders." *Leukemia*. Jan ; 8(1):186-9.

- Dingli, D., Traulsen, A., and Pacheco, J. M. (2007). Compartmental architecture and dynamics of hematopoiesis. *PloS one* 2, e345.

- DORGHAM Samia 2015 ; Etude de l'implication des polymorphismes des gènes MTHFR, ABCB1 et XRCC1 dans la survenue de la leucémie myéloïde chronique et exploration de la mutation FLT3-ITD dans la leucémie myéloïde aigue dans la population Algérienne . 20

- Dr Cédric Le Caignec ; Service de génétique médicale, CHU Nantes, France, 2010 ; Caryotype humain : Technique –Indications .

-
- DR KERFOUF ...histologie de la moelle osseuse ...mostaganem 2014/2015.p.09_10_13_20Cavazzana-Calvo, M., Lagresle, C., Andre-
 - Goldman JM, Melo JV. Chronic myeloid leukemia-advances in biology and new approaches to treatment. *N Engl J Med* 2003 ; 349 : 1451–1464.
 - Hélène Zattara ; le caryotype humain Techniques conventionnelles.
 - <http://www.ladocumentationfrancaise.fr>. Consulte le 04/06/09.
 - Jemal, A., Siegel, R., Ward, E., Murray, T., Xu, J., Smigal, C., and Thun, M. J. (2006). Cancer statistics, 2006. *CA Cancer J Clin* 56, 106-130.
 - Leguay. T; Mahon F.X. (2005). Leucémie myéloïde chronique, *EMC-Hématologie* 2. 187-205.
 - Leporrier M. Hématologie. Dion initiatives sante, Velizy-Villacoublay 1999 ; 414 pages.
 - Mahon FX. Leucemie myeloide chronique et inhibiteurs de tyrosine kinase. *Rev Med Interne* 2001 ; 22 : 894-899.
 - Melo, J. V., Hughes, T. P., and Apperley, J. F. (2003). Chronic Myeloid Leukemia. *ASH Education Program Book* 2003, 132-152.
 - Millot, F., Traore, P., Guilhot, J., Nelken, B., Leblanc, T., Leverger, G., Plantaz, D., Bertrand, Y., Bordigoni, P., Guilhot, F. (2005). "Clinical and biological features at diagnosis in 40 children with chronic myeloid leukemia." *Pediatrics* 116(1): 140-143
 - Najman A; Vercly E; Potron G; Isnard F. (1994). *Hématologie. Tome I*.Ellipses, Paris.435-6.
 - Orkin, S. H., and Zon, L. I. (2008). Hematopoiesis: an evolving paradigm for stem cell biology. *Cell* 132, 631-644.
 - Preston, D. L., Kusumi, S., Tomonaga, M., Izumi, S., Ron, E., Kuramoto, A., Kamada, N., Dohy, H., Matsuo, T., Matsui, T., et al (1994). "Cancer incidence

in atomic bomb survivors. Part III. Leukemia, lymphoma and multiple myeloma, 1950-1987." *Radiat Res* Feb;137(2 Suppl):S68-97.

- Quintás-Cardama, A., Cortes, J. (2009). "Molecular biology of *BCR-ABL1*-positive chronic myeloid leukemia." *Blood*.

- Rufer A; Andreas T; André T; Walter A.W. (2003). Syndromes myéloprolifératifs: polycythémie vrai, thrombocytémie essentielle, ostéomyélofibrose. *Forum Med Suisse* N°43.

- Schmutz, I., and Hacein-Bey-Abina, S. (2004). [The bone marrow: a reserve of stem cells able to repair various tissues?]. *Annales de biologie clinique* 62, 131-138.

- Sébahnoun G. (2005). *Hématologie clinique et biologique* 2 éd. Rueil-Malmaison. 578p.

- Suttorp, M. (2008). "Innovative approaches of targeted therapy for CML of childhood in combination with paediatric haematopoietic SCT." *Bone Marrow Transplant* 42 Suppl 2: S40-46.

- Suttorp, M., Thiede, C., Tauer, J. T., Range, U., Schlegelberger, B., Von Neuhoff, N. (2010). "Impact of the type of the *BCR-ABL* fusion transcript on the molecular response in pediatric patients with chronic myeloid leukemia." *Haematologica* 95(5): 852-853.

- Tefferi A; Vardiman J. W. (2008). Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasms: the 2008 World Health Organization criteria and point-of-care diagnostic algorithms. *Leukemi*.22: 14-22.

- Treuil. P. (2008). *Actualités pharmaceutiques* N° 473, CHU de Limoges (87) p 25.

- Turhan A. Leucémie myéloïde chronique : actualités biologiques

- Van Dongen, J. J. M., Macintyre, E.A., Gabert, J.A., Delabesse, E., Rossi, V., Saglio, G., Gottardi, E., Rambaldi, A., Dotti, G., Griesinger, F., Parreira, A., Gameiro, P., Gonzalez Diaz, M., Malec, M., Langerak, A.W., San Miguel, J.F.,

Biondi A. (1999). "Standardized RT-PCR analysis of fusion gene transcripts from chromosome aberrations in acute leukemia for detection of minimal residual disease." *Leukemia* 13, 1901–1928.

_ Burke, V. P., and Startzell, J. M. (2008). The leukemias. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am* 20, 597-608.

- Choquet S. (2007). *Hématologie*. Edition ellipses.

- Cissoko L.N.S. (2005). Caractéristiques épidémiologiques des hémopathies malignes dans les services d'hématologie-oncologie médicale et de médecine interne de l'hôpital du Point G, thèse Doctorat.
clinical and epidemiological burden of chronic lymphocytic leukemia.

_Djouadi K; Lahlou A. (2009). *Revue Algérienne d'hématologie, approches* England, 1979-1997." *Eur J Cancer* 39(18):2622-31. épidémiologiques en Algérie épidémiologiques en Algérie, numéro 00. *Eur J Cancer car*; 13:279-87.

-Horibe, K., Tsukimoto, I., Ohno, R. (2001). "Clinicopathologic characteristics of leukemia in Japanese children and young adults." *Leukemia* Aug;15(8):1256-61. N°3 SEP 2010

_ Nicolini F; Rousselot P; Guilhot F; Guilhot J. (2005). Leucémie myéloïde chronique: une prise en charge spécifique pour le sujet âgé. Société Nationale Française de Médecine Interne, Nantes.

_Pr Ahmed 2009 revue Algérienne d'hématologie LEUCÉMIE MYÉLOÏDE CHRONIQUE Aspects épidémiologique, diagnostique et thérapeutique en Algérie DÉPOT LÉGAL : 2345 – 2009 N° ISSN : 2170 – 0729

_ Redaelli A; Laskin B. L; Stephens J. M; Botteman M. F; Pashos C. L. (2004). The therapeutiques. *Bull Cancer* 2005 ; 92 : 75-82.

Touhami H. (2008). *Hématologie*, Centre Hospito-Universitaire Oran, Algérie. Zatlou L; Dahméne M.R; Yachkour M; Rahal Y; Sfaoui W; Taibi K; Kéhal F;

Annexes

Technique de détermination

Dans cette étude on va présenter deux techniques de détermination de la maladie LMC.

-La première est le caryotype et on a parlé largement sur cette dernière en chapitre II.

C'est pour cela on va citer les étapes de la technique en cas où l'échantillon est un prélèvement sanguin.

Remarque : la technique est assurée par le laboratoire de génétique médicale appliquée à l'ophtalmologie- LGMO/ ORAN ; c'est un laboratoire de cytogénétique qui fait des caryotypes de manière plus ou moins régulière selon la disponibilité des réactifs.

-La deuxième technique est La PCR qualitatif :pour la détection des différents réarrangements *BCR-ABL1*.

Remarque : PCR qualitatif est assurée par le laboratoire CERBA à sidi bel abbés :c'est un Laboratoire d'examen spécialisés en biologie, génétique, cytogénétique, anatomocytopathologie et santé animale.

Pourquoi la PCR qualitatif

Peu des patients peuvent supporter le coût élevé de caryotype, c'est pour cette raison la plupart des patients atteints sont orientés vers la détection de réarrangement BCR-ABL1 par des techniques moins chères comme La PCR qualitatif.

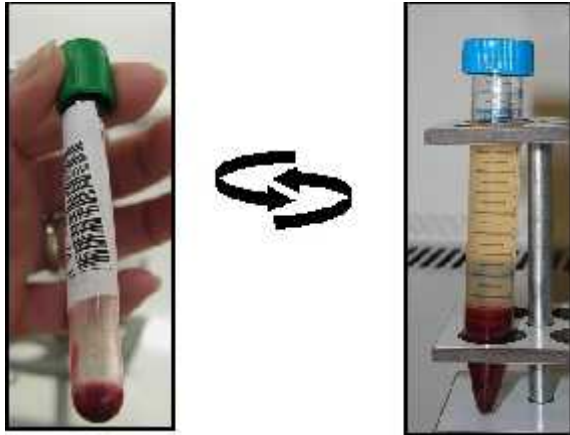
1-Caryotype

a-Prélèvement

Sur le Sang périphérique : 2 à 5 ml de sang stérile seront prélevés à partir d'une seringue héparinée faiblement dosée (10 à 20 U/ml de sang).

b-Identification des prélèvements

Le prélèvement doit être accompagné d'un numéro d'identification du patient ou d'un numéro de dossier ainsi que des précisions techniques, exemple : type d'agent mitogène utilisé, nombre 'heure de culture cellulaire.



identification de prélèvement sanguin.

c-La culture cellulaire

associée à une stimulation des lymphocytes sanguins par un agent mitogène. La mise en culture des lymphocytes se fait dans des conditions d'asepsie totale sous une hotte à fluxlaminaire.



Hotte à fluxlaminaire.

d-Blocage des cellules en métaphase

la Colchicine est utilisée ou son équivalent synthétique : la Colcémide, ces deux produits empêchent la progression de la mitose vers l'anaphase. A 70 heures, on ajoute dans chaque

tube quelques gouttes de **colchicine**, agent mitotique qui bloque la division cellulaire au stade métaphasique et on remet les tubes à l'étuve pendant 2 heures.

e-Choc hypotonique

Les cellules sont plongées dans une solution hypotonique ce qui entraîne leur gonflement. Cette étape est indispensable à l'obtention d'un étalement correct des chromosomes. Les cellules sont plongées dans une solution hypotonique de chlorure de potassium, KCl à 0.075 M pendant 20mn

f-Fixation

Les cellules sont plongées dans du Carnoy (fixateur : mélange de un volume acide acétique et de trois volumes de méthanol) puis mises au froid pendant 30 mn. On répète l'opération 3fois.

g-Etalement

Les préparations sont alors étalées à raison de 3 gouttes de la suspension cellulaire sur chaque lame puis ces lames sont flambées.



L'étalement des chromosomes

h- Coloration des préparations

On utilise des techniques de marquage particulières qui permettent d'obtenir une **coloration homogène** des chromosomes par le **Giemsa** et l'apparition de bandes.

Les **bandes G**, obtenues après traitement des chromosomes par la trypsine, les **bandes R**, obtenues par un traitement à la chaleur.

Dans les deux cas, les bandes ne deviennent visibles qu'après une coloration avec le Giemsa.

Ces deux techniques procurent un marquage dit : réciproque.

i-Observation microscopique

Les lames sont alors examinées au microscope optique, puis photographiées. Chaque métaphase est découpée, puis les chromosomes sont classés :

Le caryotype est établi.



:Observation microscopique des chromosomes.

j-Nombre de cellules examinées

Le nombre de cellules à examiner varie en fonction de l'indication, en moyenne, 16 cellules doivent être comptées et analysées, et au moins 3 caryotypes établis. Aucun résultat ne doit être rendu sans une analyse complète des bandes de chaque paire chromosomique en cas de complication. Dans le Cas particuliers des mosaïques : Le résultat ne peut être rendu qu'après examen de 50 cellules. Le résultat est adressé au médecin prescripteur, en respectant la confidentialité

k-Rédaction des résultats

La feuille de résultat doit préciser le type de tissu examiné et la méthode de cultures effectuées (temps, stimulants), le(s) type(s) de marquage en bandes utilisé(s), le nombre de mitoses examinées, le nombre de caryotypes établis.

I-Stockage et archivage : Les lames ainsi que les préparations chromosomiques des patients sont conservées au moins un an et les documents informatiques sauvegardés (photos, de métaphases, résultats, etc.

2-PCR

2-1-Présentation de la technique

Le gène *BCR-ABL* peut être détecté par plusieurs méthodes moléculaires qualitatives, comme le Southern Blot, l'hybridation *in situ* en fluorescence ou des techniques de PCR (*polymerase reaction chain*). Les premières techniques de PCR étaient basées sur l'amplification de l'ADN génomique. Dans la LMC, ces techniques sont difficilement utilisables à cause de la longueur des séquences d'ADN étudiées (incluant les longues séquences introniques variables selon le point de cassure et donc suivant les patients).

Ce sont donc les techniques de biologie moléculaire intéressant l'ARN total extrait des cellules à étudier qui sont utilisées dans la LMC au moment du diagnostic. La technique la plus utilisée pour sa simplicité, sa rapidité et sa sensibilité est la RT-PCR pour reversion transcription polymerase chain reaction.

2-2-Comprendre la PCR

PCR est l'abréviation de Polymérase Chain Reaction. C'est une méthode d'analyse par amplification du signal de l'ARN. Elle est réalisée à partir d'un prélèvement de sang et analysée en laboratoire avec des méthodes et appareils spécifiques.

Il existe 2 types de PCR pratiquées suivant les moments et besoins. L'une permet d'évaluer la quantité, c'est la **PCR quantitative** dont les résultats sont donnés en log, copies, ou UI (Unités Internationales).

L'autre technique permet d'affirmer simplement la présence ou l'absence d'anomalie c'est la **PCR qualitative**. Les résultats sont indiqués avec les mots "positif" ou négatif".

2-3-Méthode de laboratoire

Collecte d'échantillons et transport

Collectez des échantillons de sang périphérique conformément aux techniques standard de RT-PCR de chaque institution. Collectez des échantillons de sang dans des tubes contenant de l'EDTA ou du citrate de sodium en guise d'anticoagulant. Stockez les échantillons de sang entre 2 et 8 °C et testez-les dans les 48 heures suivant leur collecte. N'utilisez pas d'héparine en guise d'anticoagulant car cela peut inhiber la réaction PCR.

/ Diagnostic (PCR multiplex)

Sur **Sang total EDTA** : 10 ml à T° Ambiante

Sang total : 1 tube PAXgene rempli (3 ml) + 2 tubes EDTA (2 x 5 ml). Joindre impérativement la fiche «Onco-hématologie ». Si la PCR multiplex est positive, une RTQ-PCR additionnelle sera systématiquement réalisée (inclus).

Sur **Moelle EDTA** : 2 ml à T° Ambiante

Moelle : 1 ml sur tube PAXgene + 1 ml sur tube EDTA. Joindre impérativement la fiche « Onco-hématologie ». Si la PCR multiplex est positive, une RTQ-PCR additionnelle sera systématiquement réalisée (inclus).

BCR-ABL (TRANSCRIT, ONCO-HÉMATOLOGIE)

2/ Suivi de la maladie résiduelle (RTQ-PCR)