

UNIVERSITE MOHAMMEDV –SOUISSI–
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE –RABAT

ANNEE : 2013

THESE N° :27

APPLICATION DES CYTOGÉNÉTIQUES CONVENTIONNELLE ET MOLÉCULAIRE DANS LES SYNDROMES MYÉLODYSPLASIQUES

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le :.....

PAR

Mr AB AIRROU AHMED

Né le 14 JUILLET 1986 à GUELIMIM

**POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT
EN PHARMACIE**

MOTS CLES : Cytogénétique, syndromes myélodysplasiques, diagnostic, suivi thérapeutique

MEMBRES DE JURY

Mr. A. BELMEKKI

Professeur d'hématologie

PRESIDENT

Mr. A. MASRAR

Professeur d'hématologie biologique

RAPPORTEUR

Mr. A. DAMI

Professeur agrégé de biochimie

Mme. M. NAZIH

Professeur agrégé d'hématologie

}

JUGES

سُبْحَانَكَ

لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا بِكَ مَا عَلَّمْتَنَا

إِنَّكَ أَنْتَ الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ

(البقرة: من الآية 32)



**UNIVERSITE MOHAMMED V- SOUISSI-
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE – RABAT**

DOYENS HONORAIRES :

1962 – 1969 : Docteur Abdelmalek FARAJ
1969 – 1974 : Professeur Abdellatif BERBICH
1974 – 1981 : Professeur Bachir LAZRAK
1981 – 1989 : Professeur Taieb CHKILI
1989 – 1997 : Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 – 2003 : Professeur AbdelmajidBELMAHI

ADMINISTRATION :

Doyen : Professeur Najia HAJJAJ
Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et estudiantines
Professeur Mohammed JIDDANE
Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération
Professeur Ali BENOMAR
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie
Professeur Yahia CHERRAH
Secrétaire Général : Mr. El Hassane AHALLAT
Conservateur : Ahmed ZAHIDI

PROFESSEURS :

Février, Septembre, Décembre 1973

1. Pr. CHKILI Taieb Neuropsychiatrie

Janvier et Décembre 1976

2. Pr. HASSAR Mohamed Pharmacologie Clinique

Mars, Avril et Septembre 1980

3. Pr. EL KHAMLI Abdeslam Neurochirurgie
4. Pr. MESBAHI Redouane Cardiologie

Mai et Octobre 1981

5. Pr. BOUZOUBAA Abdelmajid Cardiologie
6. Pr. EL MANOUAR Mohamed Traumatologie-Orthopédie
7. Pr. HAMANI Ahmed* Cardiologie
8. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajih Chirurgie Cardio-Vasculaire
9. Pr. SBIHI Ahmed Anesthésie –Réanimation
10. Pr. TAOBANE Hamid* Chirurgie Thoracique

Mai et Novembre 1982

- 11. Pr. ABROUQ Ali*
- 12. Pr. BENOMAR M'hammed
- 13. Pr. BENSOUA Mohamed
- 14. Pr. BENOSMAN Abdellatif
- 15. Pr. LAHBABI ép. AMRANI Naïma

Oto-Rhino-Laryngologie
Chirurgie-Cardio-Vasculaire
Anatomie
Chirurgie Thoracique
Physiologie

Novembre 1983

- 16. Pr. ALAOUI TAHIRI Kébir*
- 17. Pr. BALAFREJ Amina
- 18. Pr. BELLAKHDAR Fouad
- 19. Pr. HAJJAJ ép. HASSOUNI Najia
- 20. Pr. SRAIRI Jamal-Eddine

Pneumo-phtisiologie
Pédiatrie
Neurochirurgie
Rhumatologie
Cardiologie

Décembre 1984

- 21. Pr. BOUCETTA Mohamed*
- 22. Pr. EL GUEDDARI Brahim El Khalil
- 23. Pr. MAAOUNI Abdelaziz
- 24. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi
- 25. Pr. NAJI M'Barek *
- 26. Pr. SETTAF Abdellatif

Neurochirurgie
Radiothérapie
Médecine Interne
Anesthésie -Réanimation
Immuno-Hématologie
Chirurgie

Novembre et Décembre 1985

- 27. Pr. BENJELLOUN Halima
- 28. Pr. BENS Aid Younes
- 29. Pr. EL ALAOUI Faris Moulay El Mostafa
- 30. Pr. IHRAI Hssain *
- 31. Pr. IRAQI Ghali
- 32. Pr. KZADRI Mohamed

Cardiologie
Pathologie Chirurgicale
Neurologie
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-Faciale
Pneumo-phtisiologie
Oto-Rhino-laryngologie

Janvier, Février et Décembre 1987

- 33. Pr. AJANA Ali
- 34. Pr. AMMAR Fanid
- 35. Pr. CHAHED OUZZANI Houria
- 36. Pr. EL FASSY FIHRI Mohamed Taoufiq
- 37. Pr. EL HAITEM Naïma
- 38. Pr. EL MANSOURI Abdellah*
- 39. Pr. EL YAACOUBI Moradh
- 40. Pr. ESSAID EL FEYDI Abdellah
- 41. Pr. LACHKAR Hassan
- 42. Pr. OHAYON Victor*
- 43. Pr. YAHYAOUI Mohamed

Radiologie
Pathologie Chirurgicale
Gastro-Entérologie
Pneumo-phtisiologie
Cardiologie
Chimie-Toxicologie Expertise
Traumatologie Orthopédie
Gastro-Entérologie
Médecine Interne
Médecine Interne
Neurologie

44. Décembre 1988

45. Pr. BENHAMAMOUCH Mohamed Najib
46. Pr. DAFIRI Rachida
47. Pr. FAIK Mohamed
48. Pr. HERMAS Mohamed
49. Pr. TOLOUNE Farida*

Chirurgie Pédiatrique
Radiologie
Urologie
Traumatologie Orthopédie
Médecine Interne

Décembre 1989 Janvier et Novembre 1990

50. Pr. ADNABOUI Mohamed
51. Pr. AOUNI Mohamed
52. Pr. BENAMEUR Mohamed*
53. Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali
54. Pr. CHAD Bouziane
55. Pr. CHKOFF Rachid
56. Pr. KHARBACH Aïcha
57. Pr. MANSOURI Fatima
58. Pr. OUAZZANI Taïbi Mohamed Réda
59. Pr. SEDRATI Omar*
60. Pr. TAZI Saoud Anas

Médecine Interne
Médecine Interne
Radiologie
Cardiologie
Pathologie Chirurgicale
Urologie
Gynécologie -Obstétrique
Anatomie-Pathologique
Neurologie
Dermatologie
Anesthésie Réanimation

Février Avril Juillet et Décembre 1991

61. Pr. AL HAMANY Zaïtounia
62. Pr. ATMANI Mohamed*
63. Pr. AZZOUZI Abderrahim
64. Pr. BAYAHIA Rabéa ép. HASSAM
65. Pr. BELKOUCHI Abdelkader
66. Pr. BENABDELLAH Chahrazad
67. Pr. BENCHEKROUN BELABBES Abdellatif
68. Pr. BENSOUDA Yahia
69. Pr. BERRAHO Amina
70. Pr. BEZZAD Rachid
71. Pr. CHABRAOUI Layachi
72. Pr. CHANA El Houssaine*
73. Pr. CHERRAH Yahia
74. Pr. CHOKAIRI Omar
75. Pr. FAJRI Ahmed*
76. Pr. JANATI Idrissi Mohamed*
77. Pr. KHATTAB Mohamed
78. Pr. NEJMI Maati
79. Pr. OUAALINE Mohammed*

80. Pr. SOULAYMANI Rachida ép. BENCHEIKH
81. Pr. TAOUFIK Jamal

Anatomie-Pathologique
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Néphrologie
Chirurgie Générale
Hématologie
Chirurgie Générale
Pharmacie galénique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Biochimie et Chimie
Ophtalmologie
Pharmacologie
Histologie Embryologie
Psychiatrie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Anesthésie-Réanimation
Médecine Préventive, Santé Publique et
Hygiène
Pharmacologie
Chimie thérapeutique

Décembre 1992

- 82. Pr. AHALLAT Mohamed
- 83. Pr. BENOUDA Amina
- 84. Pr. BENSOUDA Adil
- 85. Pr. BOUJIDA Mohamed Najib
- 86. Pr. CHAHED OUZZANI Laaziza
- 87. Pr. CHRAIBI Chafiq
- 88. Pr. DAOUDI Rajae
- 89. Pr. DEHAYNI Mohamed*
- 90. Pr. EL HADDOURY Mohamed
- 91. Pr. EL OUAHABI Abdessamad
- 92. Pr. FELLAT Rokaya
- 93. Pr. GHAFIR Driss*
- 94. Pr. JIDDANE Mohamed
- 95. Pr. OUZZANI TAIBI Med Charaf Eddine
- 96. Pr. TAGHY Ahmed
- 97. Pr. ZOUHDI Mimoun

Chirurgie Générale
Microbiologie
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Gastro-Entérologie
Gynécologie Obstétrique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Anesthésie Réanimation
Neurochirurgie
Cardiologie
Médecine Interne
Anatomie
Gynécologie Obstétrique
Chirurgie Générale
Microbiologie

Mars 1994

- 98. Pr. AGNAOU Lahcen
- 99. Pr. AL BAROUDI Saad
- 100. Pr. BENCHERIFA Fatiha
- 101. Pr. BENJAAFAR Nouredine
- 102. Pr. BENJELLOUN Samir
- 103. Pr. BEN RAIS Nozha
- 104. Pr. CAOUI Malika
- 105. Pr. CHRAIBI Abdelmjid
- 106. Pr. EL AMRANI Sabah ép. AHALLAT
- 107. Pr. EL AOUAD Rajae
- 108. Pr. EL BARDOUNI Ahmed
- 109. Pr. EL HASSANI My Rachid
- 110. Pr. EL IDRISSI LAMGHARI Abdennaceur
- 111. Pr. EL KIRAT Abdelmajid*
- 112. Pr. ERROUGANI Abdelkader
- 113. Pr. ESSAKALI Malika
- 114. Pr. ETTAYEBI Fouad
- 115. Pr. HADRI Larbi*
- 116. Pr. HASSAM Badredine
- 117. Pr. IFRINE Lahssan
- 118. Pr. JELTHI Ahmed
- 119. Pr. MAHFOUD Mustapha
- 120. Pr. MOUDENE Ahmed*
- 121. Pr. OULBACHA Said
- 122. Pr. RHRAB Brahim
- 123. Pr. SENOUCI Karima ép. BELKHADIR

Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Ophtalmologie
Radiothérapie
Chirurgie Générale
Biophysique
Biophysique
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Gynécologie Obstétrique
Immunologie
Traumato-Orthopédie
Radiologie
Médecine Interne
Chirurgie Cardio- Vasculaire
Chirurgie Générale
Immunologie
Chirurgie Pédiatrique
Médecine Interne
Dermatologie
Chirurgie Générale
Anatomie Pathologique
Traumatologie – Orthopédie
Traumatologie- Orthopédie
Chirurgie Générale
Gynécologie –Obstétrique
Dermatologie

124. Pr. SLAOUI Anas

Chirurgie Cardio-Vasculaire

Mars 1994

- 125. Pr. ABBAR Mohamed*
- 126. Pr. ABDELHAK M'barek
- 127. Pr. BELAIDI Halima
- 128. Pr. BRAHMI Rida Slimane
- 129. Pr. BENTAHILA Abdelali
- 130. Pr. BENYAHIA Mohammed Ali
- 131. Pr. BERRADA Mohamed Saleh
- 132. Pr. CHAMI Ilham
- 133. Pr. CHERKAOUI LallaOuafae
- 134. Pr. EL ABBADI Najia
- 135. Pr. HANINE Ahmed*
- 136. Pr. JALIL Abdelouahed
- 137. Pr. LAKHDAR Amina
- 138. Pr. MOUANE Nezha

Urologie
Chirurgie – Pédiatrique
Neurologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie
Gynécologie – Obstétrique
Traumatologie – Orthopédie
Radiologie
Ophtalmologie
Neurochirurgie
Radiologie
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie

Mars 1995

- 139. Pr. ABOUQUAL Redouane
- 140. Pr. AMRAOUI Mohamed
- 141. Pr. BAIDADA Abdelaziz
- 142. Pr. BARGACH Samir
- 143. Pr. BEDDOUCHE Amokrane*
- 144. Pr. BENAZZOUZ Mustapha
- 145. Pr. CHAARI Jilali*
- 146. Pr. DIMOU M'barek*
- 147. Pr. DRISSI KAMILI Mohammed Nordine*
- 148. Pr. EL MESNAOUI Abbes
- 149. Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila
- 150. Pr. FERHATI Driss
- 151. Pr. HASSOUNI Fadil
- 152. Pr. HDA Abdelhamid*
- 153. Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed
- 154. Pr. IBRAHIMY Wafaa
- 155. Pr. MANSOURI Aziz
- 156. Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia
- 157. Pr. RZIN Abdelkader*
- 158. Pr. SEFIANI Abdelaziz
- 159. Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Réanimation Médicale
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique
Urologie
Gastro-Entérologie
Médecine Interne
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Oto-Rhino-Laryngologie
Gynécologie Obstétrique
Médecine Préventive et Santé Publique
Cardiologie
Urologie
Ophtalmologie
Radiothérapie
Ophtalmologie
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Génétique
Réanimation Médicale

Décembre 1996

- 160. Pr. AMIL Touriya*
- 161. Pr. BELKACEM Rachid
- 162. Pr. BELMAHI Amin

Radiologie
Chirurgie Pédiatrie
Chirurgie réparatrice et plastique

163. Pr. BOULANOUAR Abdelkrim
164. Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan
165. Pr. EL MELLOUKI Ouafae*
166. Pr. GAOUZI Ahmed
167. Pr. MAHFOUDI M'barek*
168. Pr. MOHAMMADINE EL Hamid
169. Pr. MOHAMMADI Mohamed
170. Pr. MOULINE Soumaya
171. Pr. OUADGHIRI Mohamed
172. Pr. OUZEDDOUN Naima
173. Pr. ZBIR EL Mehdi*

Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Parasitologie
Pédiatrie
Radiologie
Chirurgie Générale
Médecine Interne
Pneumo-phtisiologie
Traumatologie-Orthopédie
Néphrologie
Cardiologie

Novembre 1997

174. Pr. ALAMI Mohamed Hassan
175. Pr. BEN AMAR Abdesselem
176. Pr. BEN SLIMANE Lounis
177. Pr. BIROUK Nazha
178. Pr. BOULAICH Mohamed
179. Pr. CHAOUIR Souad*
180. Pr. DERRAZ Said
181. Pr. ERREIMI Naima
182. Pr. FELLAT Nadia
183. Pr. GUEDDARI Fatima Zohra
184. Pr. HAIMEUR Charki*
185. Pr. KANOUNI NAWAL
186. Pr. KOUTANI Abdellatif
187. Pr. LAHLOU Mohamed Khalid
188. Pr. MAHRAOUI CHAFIQ
189. Pr. NAZI M'barek*
190. Pr. OUAHABI Hamid*
191. Pr. SAFI Lahcen*
192. Pr. TAOUFIQ Jallal
193. Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Gynécologie-Obstétrique
Chirurgie Générale
Urologie
Neurologie
O.R.L.
Radiologie
Neurochirurgie
Pédiatrie
Cardiologie
Radiologie
Anesthésie Réanimation
Physiologie
Urologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Cardiologie
Neurologie
Anesthésie Réanimation
Psychiatrie
Gynécologie Obstétrique

Novembre 1998

194. Pr. AFIFI RAJAA
195. Pr. AIT BENASSER MOULAY Ali*
196. Pr. ALOUANE Mohammed*
197. Pr. BENOMAR ALI
198. Pr. BOUGTAB Abdesslam
199. Pr. ER RIHANI Hassan
200. Pr. EZZAITOUNI Fatima
201. Pr. KABBAJ Najat
202. Pr. LAZRAK Khalid (M)

Gastro-Entérologie
Pneumo-phtisiologie
Oto-Rhino-Laryngologie
Neurologie
Chirurgie Générale
Oncologie Médicale
Néphrologie
Radiologie
Traumatologie Orthopédie

Novembre 1998

203. Pr. BENKIRANE Majid*
204. Pr. KHATOURI ALI*
205. Pr. LABRAIMI Ahmed*

Hématologie
Cardiologie
Anatomie Pathologique

Janvier 2000

206. Pr. ABID Ahmed*
207. Pr. AIT OUMAR Hassan
208. Pr. BENCHERIF My Zahid
209. Pr. BENJELLOUN DAKHAMA Badr.Sououd
210. Pr. BOURKADI Jamal-Eddine
211. Pr. CHAOUI Zineb
212. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer
213. Pr. ECHARRAB El Mahjoub
214. Pr. EL FTOUH Mustapha
215. Pr. EL MOSTARCHID Brahim*
216. Pr. EL OTMANY Azzedine
217. Pr. GHANNAM Rachid
218. Pr. HAMMANI Lahcen
219. Pr. ISMAILI Mohamed Hatim
220. Pr. ISMAILI Hassane*
221. Pr. KRAMI Hayat Ennoufouss
222. Pr. MAHMOUDI Abdelkrim*
223. Pr. TACHINANTE Rajae
224. Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Pneumophtisiologie
Pédiatrie
Ophtalmologie
Pédiatrie
Pneumo-phtisiologie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pneumo-phtisiologie
Neurochirurgie
Chirurgie Générale
Cardiologie
Radiologie
Anesthésie-Réanimation
Traumatologie Orthopédie
Gastro-Entérologie
Anesthésie-Réanimation
Anesthésie-Réanimation
Médecine Interne

Novembre 2000

225. Pr. AIDI Saadia
226. Pr. AIT OURHROUI Mohamed
227. Pr. AJANA Fatima Zohra
228. Pr. BENAMR Said
229. Pr. BENCHEKROUN Nabiha
230. Pr. CHERTI Mohammed
231. Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma
232. Pr. EL HASSANI Amine
233. Pr. EL IDGHIRI Hassan
234. Pr. EL KHADER Khalid
235. Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*
236. Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
237. Pr. HSSAIDA Rachid*
238. Pr. LACHKAR Azzouz
239. Pr. LAHLOU Abdou
240. Pr. MAFTAH Mohamed*
241. Pr. MAHASSINI Najat
242. Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae

Neurologie
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Générale
Ophtalmologie
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Pédiatrie
Oto-Rhino-Laryngologie
Urologie
Rhumatologie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Anesthésie-Réanimation
Urologie
Traumatologie Orthopédie
Neurochirurgie
Anatomie Pathologique
Pédiatrie

243. Pr. NASSIH Mohamed*
244. Pr. ROUIMI Abdelhadi

Stomatologie Et Chirurgie Maxillo-Faciale
Neurologie

Décembre 2001

245. Pr. ABABOU Adil
246. Pr. AOUAD Aicha
247. Pr. BALKHI Hicham*
248. Pr. BELMEKKI Mohammed
249. Pr. BENABDELJLIL Maria
250. Pr. BENAMAR Loubna
251. Pr. BENAMOR Jouda
252. Pr. BENELBARHDADI Imane
253. Pr. BENNANI Rajae
254. Pr. BENOUACHANE Thami
255. Pr. BENYOUSSEF Khalil
256. Pr. BERRADA Rachid
257. Pr. BEZZA Ahmed*
258. Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi
259. Pr. BOUHOUCHE Rachida
260. Pr. BOUMDIN El Hassane*
261. Pr. CHAT Latifa
262. Pr. CHELLAOUI Mounia
263. Pr. DAALI Mustapha*
264. Pr. DRISSE Sidi Mourad*
265. Pr. EL HAJOUI Ghziel Samira
266. Pr. EL HIJRI Ahmed
267. Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid
268. Pr. EL MADHI Tarik
269. Pr. EL MOUSSAIF Hamid
270. Pr. EL OUNANI Mohamed
271. Pr. EL QUESSAR Abdeljlil
272. Pr. ETTAIR Said
273. Pr. GAZZAZ Miloudi*
274. Pr. GOURINDA Hassan
275. Pr. HRORA Abdelmalek
276. Pr. KABBAJ Saad
277. Pr. KABIRI EL Hassane*
278. Pr. LAMRANI Moulay Omar
279. Pr. LEKEHAL Brahim
280. Pr. MAHASSIN Fattouma*
281. Pr. MEDARHRI Jalil
282. Pr. MIKDAME Mohammed*
283. Pr. MOHSINE Raouf
284. Pr. NABIL Samira
285. Pr. NOUINI Yassine

Anesthésie-Réanimation
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Ophtalmologie
Neurologie
Néphrologie
Pneumo-phtisiologie
Gastro-Entérologie
Cardiologie
Pédiatrie
Dermatologie
Gynécologie Obstétrique
Rhumatologie
Anatomie
Cardiologie
Radiologie
Radiologie
Radiologie
Chirurgie Générale
Radiologie
Gynécologie Obstétrique
Anesthésie-Réanimation
Neuro-Chirurgie
Chirurgie-Pédiatrique
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Radiologie
Pédiatrie
Neuro-Chirurgie
Chirurgie-Pédiatrique
Chirurgie Générale
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Thoracique
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Médecine Interne
Chirurgie Générale
Hématologie Clinique
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Urologie

286. Pr. OUALIM Zouhir*
 287. Pr. SABBAH Farid
 288. Pr. SEFIANI Yasser
 289. Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia
 290. Pr. TAZI MOUKHA Karim

Néphrologie
 Chirurgie Générale
 Chirurgie Vasculaire Périphérique
 Pédiatrie
 Urologie

Décembre 2002

291. Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*
 292. Pr. AMEUR Ahmed *
 293. Pr. AMRI Rachida
 294. Pr. AOURARH Aziz*
 295. Pr. BAMOU Youssef *
 296. Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*
 297. Pr. BENBOUAZZA Karima
 298. Pr. BENZEKRI Laila
 299. Pr. BENZZOUBEIR Nadia*
 300. Pr. BERNOUSSI Zakiya
 301. Pr. BICHRA Mohamed Zakariya
 302. Pr. CHOHO Abdelkrim *
 303. Pr. CHKIRATE Bouchra
 304. Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair
 305. Pr. EL ALJ Haj Ahmed
 306. Pr. EL BARNOUSSI Leila
 307. Pr. EL HAOURI Mohamed *
 308. Pr. EL MANSARI Omar*
 309. Pr. ES-SADEL Abdelhamid
 310. Pr. FILALI ADIB Abdelhai
 311. Pr. HADDOUR Leila
 312. Pr. HAJJI Zakia
 313. Pr. IKEN Ali
 314. Pr. ISMAEL Farid
 315. Pr. JAAFAR Abdeloihab*
 316. Pr. KRIOULE Yamina
 317. Pr. LAGHMARI Mina
 318. Pr. MABROUK Hfid*
 319. Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*
 320. Pr. MOUSTAGHFIR Abdelhamid*
 321. Pr. MOUSTAINE My Rachid
 322. Pr. NAITLHO Abdelhamid*
 323. Pr. OUJILAL Abdelilah
 324. Pr. RACHID Khalid *
 325. Pr. RAISS Mohamed
 326. Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha*
 327. Pr. RHOU Hakima
 328. Pr. SIAH Samir *

Anatomie Pathologique
 Urologie
 Cardiologie
 Gastro-Entérologie
 Biochimie-Chimie
 Endocrinologie et Maladies Métaboliques
 Rhumatologie
 Dermatologie
 Gastro-Entérologie
 Anatomie Pathologique
 Psychiatrie
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie
 Chirurgie Pédiatrique
 Urologie
 Gynécologie Obstétrique
 Dermatologie
 Chirurgie Générale
 Chirurgie Générale
 Gynécologie Obstétrique
 Cardiologie
 Ophtalmologie
 Urologie
 Traumatologie Orthopédie
 Traumatologie Orthopédie
 Pédiatrie
 Ophtalmologie
 Traumatologie Orthopédie
 Gynécologie Obstétrique
 Cardiologie
 Traumatologie Orthopédie
 Médecine Interne
 Oto-Rhino-Laryngologie
 Traumatologie Orthopédie
 Chirurgie Générale
 Pneumophtisiologie
 Néphrologie
 Anesthésie Réanimation

329. Pr. THIMOU Amal
 330. Pr. ZENTAR Aziz*
 331. Pr. ZRARA Ibtisam*

Pédiatrie
 Chirurgie Générale
 Anatomie Pathologique

PROFESSEURS AGREGES :

Janvier 2004

332. Pr. ABDELLAH El Hassan
 333. Pr. AMRANI Mariam
 334. Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
 335. Pr. BENKIRANE Ahmed*
 336. Pr. BENRAMDANE Larbi*
 337. Pr. BOUGHALEM Mohamed*
 338. Pr. BOULAADAS Malik
 339. Pr. BOURAZZA Ahmed*
 340. Pr. CHAGAR Belkacem*
 341. Pr. CHERRADI Nadia
 342. Pr. EL FENNI Jamal*
 343. Pr. EL HANCHI ZAKI
 344. Pr. EL KHORASSANI Mohamed
 345. Pr. EL YOUNASSI Badreddine*
 346. Pr. HACHI Hafid
 347. Pr. JABOUIRIK Fatima
 348. Pr. KARMANE Abdelouahed
 349. Pr. KHABOUZE Samira
 350. Pr. KHARMAZ Mohamed
 351. Pr. LEZREK Mohammed*
 352. Pr. MOUGHIL Said
 353. Pr. NAOUMI Asmae*
 354. Pr. SAADI Nozha
 355. Pr. SASSENOU ISMAIL*
 356. Pr. TARIB Abdelilah*
 357. Pr. TIJAMI Fouad
 358. Pr. ZARZUR Jamila

Ophtalmologie
 Anatomie Pathologique
 Oto-Rhino-Laryngologie
 Gastro-Entérologie
 Chimie Analytique
 Anesthésie Réanimation
 Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
 Neurologie
 Traumatologie Orthopédie
 Anatomie Pathologique
 Radiologie
 Gynécologie Obstétrique
 Pédiatrie
 Cardiologie
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie
 Ophtalmologie
 Gynécologie Obstétrique
 Traumatologie Orthopédie
 Urologie
 Chirurgie Cardio-Vasculaire
 Ophtalmologie
 Gynécologie Obstétrique
 Gastro-Entérologie
 Pharmacie Clinique
 Chirurgie Générale
 Cardiologie

Janvier 2005

359. Pr. ABBASSI Abdellah
 360. Pr. AL KANDRY Sif Eddine*
 361. Pr. ALAOUI Ahmed Essaid
 362. Pr. ALLALI Fadoua
 363. Pr. AMAR Yamama
 364. Pr. AMAZOUZI Abdellah
 365. Pr. AZIZ Nouredine*
 366. Pr. BAHIRI Rachid
 367. Pr. BARKAT Amina

Chirurgie Réparatrice et Plastique
 Chirurgie Générale
 Microbiologie
 Rhumatologie
 Néphrologie
 Ophtalmologie
 Radiologie
 Rhumatologie
 Pédiatrie

368. Pr. BENHALIMA Hanane
 369. Pr. BENHARBIT Mohamed
 370. Pr. BENYASS Aatif
 371. Pr. BERNOUSSI Abdelghani
 372. Pr. BOUKLATA Salwa
 373. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed
 374. Pr. DOUDOUH Abderrahim*
 375. Pr. EL HAMZAOUI Sakina
 376. Pr. HAJJI Leila
 377. Pr. HESSISSEN Leila
 378. Pr. JIDAL Mohamed*
 379. Pr. KARIM Abdelouahed
 380. Pr. KENDOSSI Mohamed*
 381. Pr. LAAROUSSI Mohamed
 382. Pr. LYAGOUBI Mohammed
 383. Pr. NIAMANE Radouane*
 384. Pr. RAGALA Abdelhak
 385. Pr. SBIHI Souad
 386. Pr. TNACHERI OUZZANI Btissam
 387. Pr. ZERAIDI Najia

Stomatologie et Chirurgie Maxillo Faciale
 Ophtalmologie
 Cardiologie
 Ophtalmologie
 Radiologie
 Ophtalmologie
 Biophysique
 Microbiologie
 Cardiologie
 Pédiatrie
 Radiologie
 Ophtalmologie
 Cardiologie
 Chirurgie Cardio-vasculaire
 Parasitologie
 Rhumatologie
 Gynécologie Obstétrique
 Histo-Embryologie Cytogénétique
 Ophtalmologie
 Gynécologie Obstétrique

AVRIL 2006

423. Pr. ACHEMLAL Lahsen*
 424. Pr. AFIFI Yasser
 425. Pr. AKJOUJ Said*
 426. Pr. BELGNAOUI Fatima Zahra
 427. Pr. BELMEKKI Abdelkader
 428. Pr. BENCHEIKH Razika
 429. Pr. BIYI Abdelhamid*
 430. Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine
 431. Pr. BOULAHYA Abdellatif*
 432. Pr. CHEIKHAOUI Younes
 433. Pr. CHENGUETI ANSARI Anas
 434. Pr. DOGHMI Nawal
 435. Pr. ESSAMRI Wafaa
 436. Pr. FELLAT Ibtissam
 437. Pr. FAROUDY Mamoun
 438. Pr. GHADOUANE Mohammed*
 439. Pr. HARMOUCHE Hicham
 440. Pr. HANAFI Sidi Mohamed*
 441. Pr. IDRIS LAHLOU Amine
 442. Pr. JROUNDI Laila
 443. Pr. KARMOUNI Tariq
 444. Pr. KILI Amina

Rhumatologie
 Dermatologie
 Radiologie
 Dermatologie
 Hématologie
 O.R.L
 Biophysique
 Chirurgie - Pédiatrique
 Chirurgie Cardio – Vasculaire
 Chirurgie Cardio – Vasculaire
 Gynécologie Obstétrique
 Cardiologie
 Gastro-entérologie
 Cardiologie
 Anesthésie Réanimation
 Urologie
 Médecine Interne
 Anesthésie Réanimation
 Microbiologie
 Radiologie
 Urologie
 Pédiatrie

445. Pr. KISRA Hassan
 446. Pr. KISRA Mounir
 447. Pr. KHARCHAFI Aziz*
 448. Pr. LAATIRIS Abdelkader*
 449. Pr. LMIMOUNI Badreddine*
 450. Pr. MANSOURI Hamid*
 451. Pr. NAZIH Naoual
 452. Pr. OUANASS Abderrazzak
 453. Pr. SAFI Soumaya*
 454. Pr. SEKKAT Fatima Zahra
 455. Pr. SEFIANI Sana
 456. Pr. SOUALHI Mouna
 457. Pr. TELLAL Saida*
 458. Pr. ZAHRAOUI Rachida

Psychiatrie
 Chirurgie – Pédiatrique
 Médecine Interne
 Pharmacie Galénique
 Parasitologie
 Radiothérapie
 O.R.L
 Psychiatrie
 Endocrinologie
 Psychiatrie
 Anatomie Pathologique
 Pneumo – Phtisiologie
 Biochimie
 Pneumo – Phtisiologie

Octobre 2007

458. Pr. LARAQUI HOUSSEINI Leila
 459. Pr. EL MOUSSAOUI Rachid
 460. Pr. MOUSSAOUI Abdelmajid
 461. Pr. LALAOUI SALIM Jaafar *
 462. Pr. BAITE Abdelouahed *
 463. Pr. TOUATI Zakia
 464. Pr. OUZZIF Ezzohra *
 465. Pr. BALOUCH Lhousaine *
 466. Pr. SELKANE Chakir *
 467. Pr. EL BEKKALI Youssef *
 468. Pr. AIT HOUSSA Mahdi *
 469. Pr. EL ABSI Mohamed
 470. Pr. EHIRCHIOU Abdelkader *
 471. Pr. ACHOUR Abdessamad *
 472. Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*
 473. Pr. GHARIB Noureddine
 474. Pr. TABERKANET Mustafa *
 475. Pr. ISMAILI Nadia
 476. Pr. MASRAR Azlarab
 477. Pr. RABHI Monsef *
 478. Pr. MRABET Mustapha *
 479. Pr. SEKHSOKH Yessine *
 480. Pr. SEFFAR Myriame
 481. Pr. LOUZI Lhoussain *
 482. Pr. MRANI Saad *
 483. Pr. GANA Rachid
 484. Pr. ICHOU Mohamed *
 485. Pr. TACHFOUTI Samira
 486. Pr. BOUTIMZINE Nourdine

Anatomie pathologique
 Anesthésie réanimation
 Anesthésier réanimation
 Anesthésie réanimation
 Anesthésie réanimation
 Cardiologie
 Biochimie
 Biochimie
 Chirurgie cardio vasculaire
 Chirurgie cardio vasculaire
 Chirurgie cardio vasculaire
 Chirurgie générale
 Chirurgie générale
 Chirurgie générale
 Chirurgie générale
 Chirurgie plastique
 Chirurgie vasculaire périphérique
 Dermatologie
 Hématologie biologique
 Médecine interne
 Médecine préventive santé publique et hygiène
 Microbiologie
 Microbiologie
 Microbiologie
 Virologie
 Neuro chirurgie
 Oncologie médicale
 Ophtalmologie
 Ophtalmologie

487. Pr. MELLAL Zakaria
 488. Pr. AMMAR Haddou *
 489. Pr. AOUI Sarra
 490. Pr. TLIGUI Houssain
 491. Pr. MOUTAJ Redouane *
 492. Pr. ACHACHI Leila
 493. Pr. MARC Karima
 494. Pr. BENZIANE Hamid *
 495. Pr. CHERKAOUI Naoual *
 496. Pr. EL OMARI Fatima
 497. Pr. MAHI Mohamed *
 498. Pr. RADOUANE Bouchaib*
 499. Pr. KEBDANI Tayeb
 500. Pr. SIFAT Hassan *
 501. Pr. HADADI Khalid *
 502. Pr. ABIDI Khalid
 503. Pr. MADANI Naoufel
 504. Pr. TANANE Mansour *
 505. Pr. AMHAJJI Larbi *

Ophtalmologie
 ORL
 Parasitologie
 Parasitologie
 Parasitologie
 Pneumo phtisiologie
 Pneumo phtisiologie
 Pharmacie clinique
 Pharmacie galénique
 Psychiatrie
 Radiologie
 Radiologie
 Radiothérapie
 Radiothérapie
 Radiothérapie
 Réanimation médicale
 Réanimation médicale
 Traumatologie orthopédie
 Traumatologie orthopédie

Mars 2009

Pr. BJIJOU Younes
 Pr. AZENDOUR Hicham *
 Pr. BELYAMANI Lahcen*
 Pr. BOUHSAIN Sanae *
 Pr. OUKERRAJ Latifa
 Pr. LAMSAOURI Jamal *
 Pr. MARMADE Lahcen
 Pr. AMAHZOUNE Brahim*
 Pr. AIT ALI Abdelmounaim *
 Pr. BOUNAIM Ahmed *
 Pr. EL MALKI Hadj Omar
 Pr. MSSROURI Rahal
 Pr. CHTATA Hassan Toufik *
 Pr. BOUI Mohammed *
 Pr. KABBAJ Nawal
 Pr. FATHI Khalid
 Pr. MESSAOUDI Nezha *
 Pr. CHAKOUR Mohammed *
 Pr. DOGHMI Kamal *
 Pr. ABOUZAHER Ali*
 Pr. ENNIBI Khalid *
 Pr. EL OUENNASS Mostapha
 Pr. ZOUHAIR Said*
 Pr. L'kassimiHachemi*

Anatomie
 Anesthésie Réanimation
 Anesthésie Réanimation
 Biochimie
 Cardiologie
 Chimie Thérapeutique
 Chirurgie Cardio-vasculaire
 Chirurgie Cardio-vasculaire
 Chirurgie Générale
 Chirurgie Générale
 Chirurgie Générale
 Chirurgie Générale
 Chirurgie Vasculaire Périphérique
 Dermatologie
 Gastro-entérologie
 Gynécologie obstétrique
 Hématologie biologique
 Hématologie biologique
 Hématologie clinique
 Médecine interne
 Médecine interne
 Microbiologie
 Microbiologie
 Microbiologie

Pr. AKHADDAR Ali *
 Pr. AIT BENHADDOU El hachmia
 Pr. AGADR Aomar *
 Pr. KARBOUBI Lamya
 Pr. MESKINI Toufik
 Pr. KABIRI Meryem
 Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani *
 Pr. BASSOU Driss *
 Pr. ALLALI Nazik
 Pr. NASSAR Ittimade
 Pr. HASSIKOU Hasna *
 Pr. AMINE Bouchra
 Pr. BOUSSOUGA Mostapha *
 Pr. KADI Said *

Neuro-chirurgie
 Neurologie
 Pédiatrie
 Pédiatrie
 Pédiatrie
 Pédiatrie
 Pneumo-phtisiologie
 Radiologie
 Radiologie
 Radiologie
 Rhumatologie
 Rhumatologie
 Traumatologie orthopédique
 Traumatologie orthopédique

Octobre 2010

Pr. AMEZIANE Taoufiq*
 Pr. ERRABIH Ikram
 Pr. CHERRADI Ghizlan
 Pr. MOSADIK Ahlam
 Pr. ALILOU Mustapha
 Pr. KANOUNI Lamya
 Pr. EL KHARRAS Abdennasser*
 Pr. DARBI Abdellatif*
 Pr. EL HAFIDI Naima
 Pr. MALIH Mohamed*
 Pr. BOUSSIF Mohamed*
 Pr. EL MAZOUZ Samir
 Pr. DENDANE Mohammed Anouar
 Pr. EL SAYEGH Hachem
 Pr. MOUJAHID Mountassir*
 Pr. RAISSOUNI Zakaria*
 Pr. BOUAITY Brahim*
 Pr. LEZREK Mounir
 Pr. NAZIH Mouna*
 Pr. LAMALMI Najat
 Pr. ZOUAIDIA Fouad
 Pr. BELAGUID Abdelaziz
 Pr. DAMI Abdellah*
 Pr. CHADLI Mariama*

Médecine interne
 Gastro entérologie
 Cardiologie
 Anesthésie Réanimation
 Anesthésie réanimation
 Radiothérapie
 Radiologie
 Radiologie
 Pédiatrie
 Pédiatrie
 Médecine aérologique
 Chirurgie plastique et réparatrice
 Chirurgie pédiatrique
 Urologie
 Chirurgie générale
 Traumatologie orthopédie
 ORL
 Ophtalmologie
 Hématologie
 Anatomie pathologique
 Anatomie pathologique
 Physiologie
 Biochimie chimie
 Microbiologie

ENSEIGNANTS SCIENTIFIQUES
PROFESSEURS

1. Pr. ABOUDRAR Saadia	Physiologie
2. Pr. ALAMI OUHABI Naima	Biochimie
3. Pr. ALAOUI KATIM	Pharmacologie
4. Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma	Histologie-Embryologie
5. Pr. ANSAR M'hammed	Chimie Organique et Pharmacie Chimique
6. Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz	Applications Pharmaceutiques
7. Pr. BOUHOUCHE Ahmed	Génétique Humaine
8. Pr. BOURJOUANE Mohamed	Microbiologie
9. Pr. CHAHED OUZZANI LallaChadia	Biochimie
10. Pr. DAKKA Taoufiq	Physiologie
11. Pr. DRAOUI Mustapha	Chimie Analytique
12. Pr. EL GUESSABI Lahcen	Pharmacognosie
13. Pr. ETTAIB Abdelkader	Zootechnie
14. Pr. FAOUZI Moulay El Abbes	Pharmacologie
15. Pr. HMAMOUCHE Mohamed	Chimie Organique
16. Pr. IBRAHIMI Azeddine	Biotechnologie
17. Pr. KABBAJ Ouafae	Biochimie
18. Pr. KHANFRI Jamal Eddine	Biologie
19. Pr. REDHA Ahlam	Biochimie
20. Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med	Chimie Organique
21. Pr. TOUATI Driss	Pharmacognosie
22. Pr. ZAHIDI Ahmed	Pharmacologie
23. Pr. ZELLOU Amina	Chimie Organique

**** Enseignants Militaires***

DÉDICACES

A Mes Très Chers Parents

Tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense amour que je vous porte, ni la profonde gratitude que je vous témoigne pour tous les efforts et les sacrifices que vous n'avez jamais cessé de consentir pour mon instruction et mon bien-être.

C'est à travers vos encouragements que j'ai opté pour cette noble profession, et c'est à travers vos critiques que je me suis réalisée.

Je vous rends hommage par ce modeste travail en guise de ma reconnaissance éternelle et de mon infini amour.

Que Dieu tout puissant vous garde et vous procure santé, bonheur et longue vie pour que vous demeuriez le flambeau illuminant le chemin de vos enfants.

A mes frères et sœurs

Vous m'aviez toujours aidé et ces quelques lignes sont insuffisantes pour exprimer mon profond amour et ma reconnaissance pour les honorables services soutenus.

Que cette thèse vous traduise ma profonde affection.

A ma grande famille

En témoignage de mon respect et de mon amour.

A mes amis

En souvenir des agréables moments partagés

REMERCIEMENT

*A NOTRE MAÎTRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE
MONSIEUR LE PROFESSEUR A. BELMEKKI
Professeur d'Hématologie*

*Vous nous avez accordé un grand honneur en acceptant de
présider le jury de notre thèse.*

*Votre culture scientifique, vos compétences professionnelles
incontestables ainsi que vos qualités humaines vous valent
l'admiration et le respect.*

*Veuillez, Cher Maître, trouver dans ce modeste travail
l'expression de notre haute considération et notre profond
respect.*

*A NOTRE MAÎTRE ET RAPPORTEUR DE THÈSE
MONSIEUR LE PROFESSEUR A. MASRAR
Professeur d'Hématologie biologique*

Nous sommes très heureux de l'honneur que vous nous avez fait en nous confiant ce travail.

Vous nous avez consacré votre temps précieux. Vos conseils et vos orientations nous ont été très précieux. Nous espérons être dignes de votre confiance.

Votre large compétence, votre sympathie et gentillesse et qualités humaines et professionnelles font de vous un maître bien aimé de tous.

Veillez trouver ici, Cher Maître, l'expression de nos vifs remerciements et notre admiration.

A NOTRE MAÎTRE ET JUGE DE THÈSE
MONSIEUR LE PROFESSEUR A.DAMI
Professeur agrégé de biochimie

Nous sommes particulièrement touchés par la spontanéité et la gentillesse avec laquelle vous avez bien voulu accepter de juger ce travail.

Vos qualités humaines et professionnelles seront pour nous un exemple à suivre.

Permettez nous, Cher Maître de vous exprimer notre profond respect et notre sincère gratitude.

*A NOTRE MAITRE ET JUGE DE THESE
MADAME LE PROFESSEUR M.NAZIH
Professeur agrégé d'hématologie*

Vous nous faites le grand honneur de prendre part au jury de ce travail.

Votre compréhension, vos qualités humaines et professionnelles suscitent notre admiration.

Veillez accepter, Chère Maître, nos sincères remerciements et toute la reconnaissance que nous vous témoignons.

Liste des figures

Figure 1 : Voies de signalisation de l'Apoptose	5
Figure 2 : Voies de signalisation impliquées dans l'apoptose des précurseurs érythroïdes des SMD.	7
Figure 3 : Etapes de la réalisation du caryotype.	29
Figure 4 : Aspect morphologique d'un chromosome métaphasique	30
Figure 5 : Aspects morphologiques des chromosomes en fonction de l'indice centromériques.	31
Figure 6 : Caryotype humain normal (46, XY) en bande G et R.....	34
Figure 7 : Caryotype féminine normal en bande G	34
Figure 8 : Principe de la technique FISH.....	37
Figure 9: Différents types de sondes utilisées en hybridation in situ.....	39
Figure 10 : La microscopie en épi-fluorescence.....	41
Figure 11 : Triploïdie en hybridation in situ interphasique.....	42
Figure 12 : Caryotype féminin en bandes R présentant du matériel d'origine inconnue à l'extrémité du chromosome 7	43
Figure 13 : FISH avec une peinture en chromosomes X.	44
Figure 14 : Caryotype masculin en bandes R.....	45
Figure 15 : Patient analysé en hybridation in situ par la sonde D15S10.....	45
Figure 16: Caryotype spectral.....	47
Figure 17 : Principe de la CGH classique	49
Figure 18 : Principe de la CGH-array.....	51
Figure 19 : Illustration d'observations morphologiques, immunohistochimiques et cytogénétiques dans les SMD.	66
Figure 20 : comparaison de résultats de caryotype, FISH et SNP de deux sujets, avec chromosome 5 normale et avec délétion 5q	68

Figure 21 : comparaison de résultats de caryotype, FISH et SNP de deux sujets, avec chromosome 7 normale et avec monosomie7	69
Figure 22 : Syndrome 5q- en caryotype (bande G).	74
Figure 23 : syndrome 5q- en FISH	74

Liste des tableaux

Tableau I : Classification FAB des syndromes myélodysplasiques	13
Tableau II : Classification OMS 2001 des SMD.....	16
Tableau III : Classification OMS 2008 des SMD.	20
Tableau IV : Nomenclature cytogénétique	33
Tableau V : Anomalies cytogénétiques typiques des SMD.....	68
Tableau VI : Score WPSS.....	76
Tableau VII: Score IPSS.....	77
Tableau VIII: Paramètres du score IPSS-R	80
Tableau IX : Groupe pronostique du score IPSS-R.....	80
Tableau X : Nouveau score cytogénétique inclus dans l'IPSS-R.	81

Liste des schémas

Schéma 1 : Schéma récapitulatif de la physiopathologie des SMD	11
Schéma 2 : Caryotype triploïde.....	54
Schéma 3 : Mécanisme d'une délétion.....	55
Schéma 4 : Chromosome en anneau	56
Schéma 5 : Inversion	57
Schéma 6 : Mécanisme de formation d'un iso-chromosome	58
Schéma 7 : Duplication intra-chromosomique	59
Schéma 8 : Translocation réciproque.....	60
Schéma 9 : Insertion.....	61
Schéma 10 : Mécanisme de formation de chromosome di-centrique.	62

SOMMAIRE

Introduction	1
Première partie: Les syndromes myélodysplasiques.....	3
I. Physiopathologie.....	4
1. Apoptose intra médullaire.....	4
2. les facteurs immunologiques.....	8
3. Anomalies du microenvironnement médullaire.....	8
4. Angiogénèse.....	9
5. Anomalies génétiques.....	10
II. Classification des SMD.....	12
1. Classification FAB.....	12
2. Classification OMS.....	14
2.1. Classification OMS 2001.....	14
2.2. Classification OMS 2008.....	17
3. Conséquences de la nouvelle classification OMS.....	21
III. Traitement.....	22
Deuxième partie: Techniques cytogénétiques.....	23
I. Historique.....	24
II. Cytogénétique conventionnelle: Caryotype.....	26
1. Les prélèvements.....	26
2. Principe et techniques.....	26
2.1. Culture cellulaire.....	26
2.2. Blocage des cellules en métaphase.....	26
2.3. Choc hypotonique.....	27
2.4. Fixations/ Etalement.....	27
2.5. Vieillissement des lames.....	27

2.6. Dénaturation /Coloration.....	27
3. Classement des chromosomes métaphasiques.....	30
3.1. Structure du chromosome métaphasique.....	30
3.2. Critères de classement des chromosomes.....	31
3.3. Nomenclature.....	32
4. Avantages et limites.....	35
III. Cytogénétique moléculaire.....	36
1. Hybridation in situ fluorescence: FISH.....	36
1.1. Principe.....	36
1.2. Sondes utilisées.....	38
1.2.1. Les sondes centromériques	38
1.2.2. Les sondes télomériques.....	38
1.2.3. Les sondes de peinture chromosomique.....	38
1.2.4. Sondes spécifiques de régions chromosomiques.....	39
1.3. Dénaturation /Hybridation.....	40
1.4. Visualisation et analyse des hybrides.....	40
1.5. Nomenclature.....	41
1.6. Principales applications de l'hybridation in situ.....	42
1.7. Avantages et limites de la FISH.....	46
1.8. Dérivées de la FISH : La FISH multi-couleurs.....	46
2. Hybridation génomique comparative (CGH) et dérivées.....	48
2.1. CGH sur chromosomes.....	48
2.2. CGH array.....	49
2.3. Les puces à SNPs.....	51
2.4. Avantages et limites.....	52
IV. Les anomalies chromosomiques.....	53

1. Introduction.....	53
2. Les anomalies de nombre.....	53
2.1. Aneuploïdies.....	53
2.2. Polyploïdies.....	54
3. Anomalies de structure.....	55
3.1. Anomalies de structure touchant 1 chromosome.....	55
3.2. Anomalies de structure touchant 2 chromosomes.....	60
3.3. Remaniements complexes.....	62
3.4. Les microremaniements chromosomiques.....	62
Troisième partie: apport de la cytogénétique au SMD.....	63
I. Apport de la cytogénétique au diagnostic des SMD.....	64
1. Diagnostique et Circonstances de découverte des SMD.....	64
2. Les anomalies cytogénétiques.....	66
3. Apports de la cytogénétique.....	69
II. Apport de la cytogénétique à la classification des SMD.....	71
1. Classification des SMD.....	71
2. Place de la cytogénétique dans la nouvelle classification.....	72
3. Intérêt de la cytogénétique dans les SMD avec délétion 5q.....	73
III. Apport de la cytogénétique à l'évaluation pronostique des SMD.....	75
1. Les principaux facteurs pronostiques.....	75
2. Les Scores pronostiques.....	75
2.1. Score IPSS.....	77
2.2. Valeur pronostique des anomalies cytogénétiques dans l'IPSS....	78
2.3. Score IPSS-R.....	74
IV. Apport de la cytogénétique au traitement et suivi des SMD.....	82

Conclusion.....	84
------------------------	-----------

Résumés

Références bibliographiques

Liste des abréviations

ADN : acide désoxyribonucléique.

AR : anémie réfractaire

AREB : anémie réfractaire avec excès de blastes

AREB-t : anémie réfractaire avec excès de blastes en transformation

ARS : anémie réfractaire avec sidéroblastes

ASIA : anémie sidéroblastique idiopathique acquise

CGH : hybridation génomique comparative.

CRDM : cytopénie réfractaire avec dysplasie multi-lignée

CRDU : cytopénie réfractaire avec dysplasie uni-lignée

DAPI: 4',6'-diamidino-2-phénylindole

EPO : érythropoïétine

FAB : franco-américano-britannique.

FISH: Fluorescence In Situ Hybridisation.

IPSS: International Prognosis Scoring System

LAM : leucémies aigue myéloïde

LMMC : leucémie myélomonocytaire chronique

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

SMD: syndrome myélodysplasique.

SNP: single-nucleotide polymorphism

Introduction

Les syndromes myélodysplasiques (SMD) désignent un groupe hétérogène de maladies clonales touchant les cellules souches hématopoïétiques et aboutissant à des anomalies qualitatives et quantitatives des trois lignées myéloïdes. Ce sont des hémopathies dont la fréquence augmente avec l'âge de façon majeure, elle est globalement de 5 pour 100 000 habitants et atteint 70 à 80 pour 100 000 habitants après 80 ans [1], ce qui la place comme l'hémopathie la plus fréquente du sujet âgé. Les SMD ont bénéficié récemment des avancées sur les connaissances en cytogénétique. L'analyse cytogénétique est devenue un examen indispensable dans la prise en charge des SMD. Schématiquement, l'étude des anomalies chromosomique dans les SMD peut apporter quatre types d'informations. Tout d'abord, la mise en évidence de certaines anomalies peut avoir une implication diagnostique. Ensuite elle est un utile intéressant à la classification. En troisième lieu, et surtout, ces analyses ont un but pronostique, permettant une action thérapeutique adaptée au pronostic individuel ainsi défini. Enfin la cytogénétique hématologique peut avoir une place dans le choix de la thérapie appropriée, de l'évaluation de la réponse au traitement et du suivi de la maladie résiduelle.

L'objectif de notre travail est de présenter les principales techniques de cytogénétiques conventionnelle et moléculaire, et de souligner leurs applications de dans les syndromes myélodysplasiques.

Première partie:
Les syndromes myélodysplasiques

I. Physiopathologie :

Les SMD sont des hémopathies myéloïdes caractérisées par une atteinte clonale de la cellule souche conduisant, d'une part, à une hématopoïèse inefficace responsable de cytopénies périphériques et, d'autre part, à une instabilité chromosomique associée au risque de transformation leucémique. L'histoire naturelle complexe de la maladie peut associer successivement chez un même patient une phase où l'excès d'apoptose domine expliquant l'anémie et par la suite une phase où la prolifération domine au moment de l'évolution en leucémie aiguë myéloïde (LAM) [2].

1. Apoptose intra médullaire :

1.1. Les voies de mort cellulaire normale : [3,4]

La mort cellulaire physiologique est principalement une mort cellulaire programmée de type apoptose qui est soit dépendante, soit indépendante de l'activation de cystéine protéases ou caspases. La protéolyse des cibles de caspases induit le bourgeonnement de la membrane plasmique, la fragmentation nucléaire, la condensation de la chromatine et l'exposition des phosphatidylserine. Les voies d'apoptose sont contrôlées, en amont de l'activation des caspases, par les protéines de la famille Bcl-2 localisées sur la membrane externe de la mitochondrie, du réticulum endoplasmique et du noyau. Les protéines antiapoptotiques Bcl-2 ou Bcl-xL sont les gardiens de la fonction du réticulum endoplasmique et de l'intégrité de la mitochondrie (figure 1).

Au niveau de la mitochondrie, Bcl-2 ou Bcl-xL empêche l'oligomérisation des protéines pro-apoptotiques Bax et Bak ancrées dans cette membrane. L'inhibition de Bcl-2/Bcl-xL par activation des protéines à domaine BH3 unique (Bad, Bik, NOXA) ou l'activation directe de Bax/Bak par tBid Bim ou PUMA induit la perméabilisation de la membrane externe de la mitochondrie, la

libération dans le cytoplasme des protéines mitochondriales comme le cytochrome c qui active les caspases et d'autres médiateurs directs de la destruction du génome comme l'apoptosis-inducing factor (AIF) et l'endonucléase G.

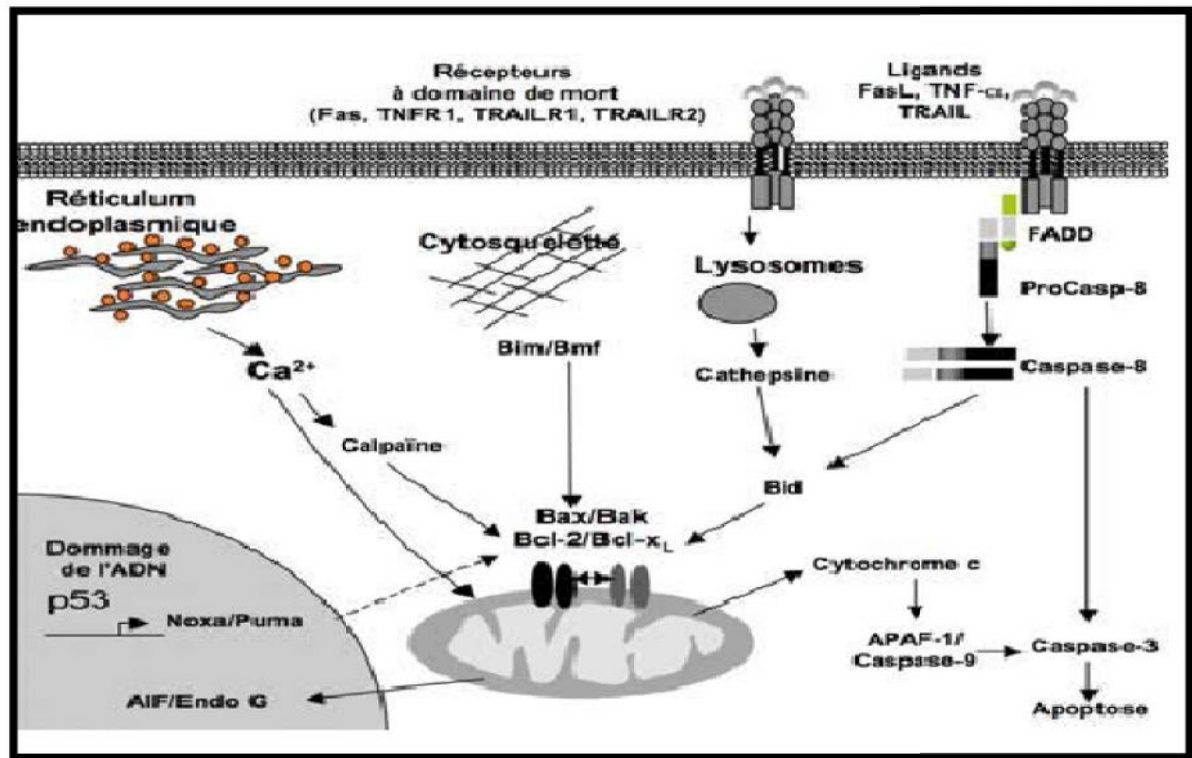


Figure 1 – Voies de signalisation de l'Apoptose. [4]

L'intégrité de la chaîne respiratoire mitochondriale est nécessaire pour la survie de la cellule. L'interruption du transport des électrons génère des radicaux oxygénés qui induisent la peroxydation des lipides, des dommages des membranes internes, la libération des enzymes lysosomales qui hydrolysent les protéines, les acides nucléiques et les lipides. La mort cellulaire est davantage liée à la perméabilisation de la membrane mitochondriale plutôt qu'à la seule activation des caspases. En effet, l'inhibition des caspases bloque la plupart des

changements phénotypiques mais ne prévient pas la mort cellulaire qui peut se manifester par un processus d'autophagie ou de nécrose.

Au niveau du réticulum endoplasmique, Bcl-2 régule l'homéostasie du Ca^{2+} . Dans des conditions de stress prolongé, le réticulum endoplasmique peut transmettre à la mitochondrie des signaux déclenchant l'apoptose via l'activation de caspases qui clivent des protéines réticulaires et la libération massive de Ca^{2+} .

1.2. Anomalies d'apoptose et de différenciation dans les SMD : [3,4]

L'apoptose est un mode de régulation négative de l'hématopoïèse normale. Ceci a été établi dans la lignée érythroïde. En effet, il a été montré que l'érythropoïèse est régulée dans la moelle par l'interaction entre Fas et son ligand qui déclenche une apoptose dépendante de caspases. De plus, une activation contrôlée des caspases est nécessaire à la différenciation érythroïde, monocyttaire et mégacaryocytaire terminales et se produit sans apoptose.

L'hématopoïèse inefficace des SMD est en partie due à une apoptose accrue des précurseurs de la moelle, mise en évidence par plusieurs équipes depuis les années 1990. Cet excès d'apoptose est aussi observé lorsque les précurseurs érythroïdes sont obtenus en culture liquide à partir des progéniteurs immatures CD34^+ . Cette apoptose est dépendante de Fas et de l'interaction avec son ligand, les deux molécules étant surexprimées dans les progéniteurs immatures et matures, respectivement. Un excès de récepteur soluble pour Fas ou l'expression ectopique d'un mutant dominant négatif de FADD empêche la signalisation dépendante de Fas, l'activation de la caspase-8 et l'apoptose. De plus, l'expression d'un mutant de Bcl-2 ciblant le réticulum endoplasmique inhibe la perméabilisation de la membrane externe de la mitochondrie induite lors d'une stimulation des cellules par un anticorps activateur de Fas. Ce qui confirme

l'existence d'une signalisation spontanée de mort cellulaire en aval de Fas impliquant le réticulum endoplasmique et la mitochondrie dans les précurseurs érythroïdes de SMD. Compte tenu du rôle des caspases dans la différenciation érythroïde normale, il pourrait exister une relation entre activation excessive des caspases et anomalies de différenciation observées dans les SMD aussi bien dans la lignée érythroïde que dans la lignée mégacaryocytaire.

Dans les SMD, la surexpression de Fas et l'activation excessive des caspases est corrélée avec un défaut de croissance des progéniteurs érythroïdes engagés de type BFU-E (pour burst forming unit-erythroid) et à un défaut d'acquisition des marqueurs érythroïdes (glycophorine A, β et γ -globines).

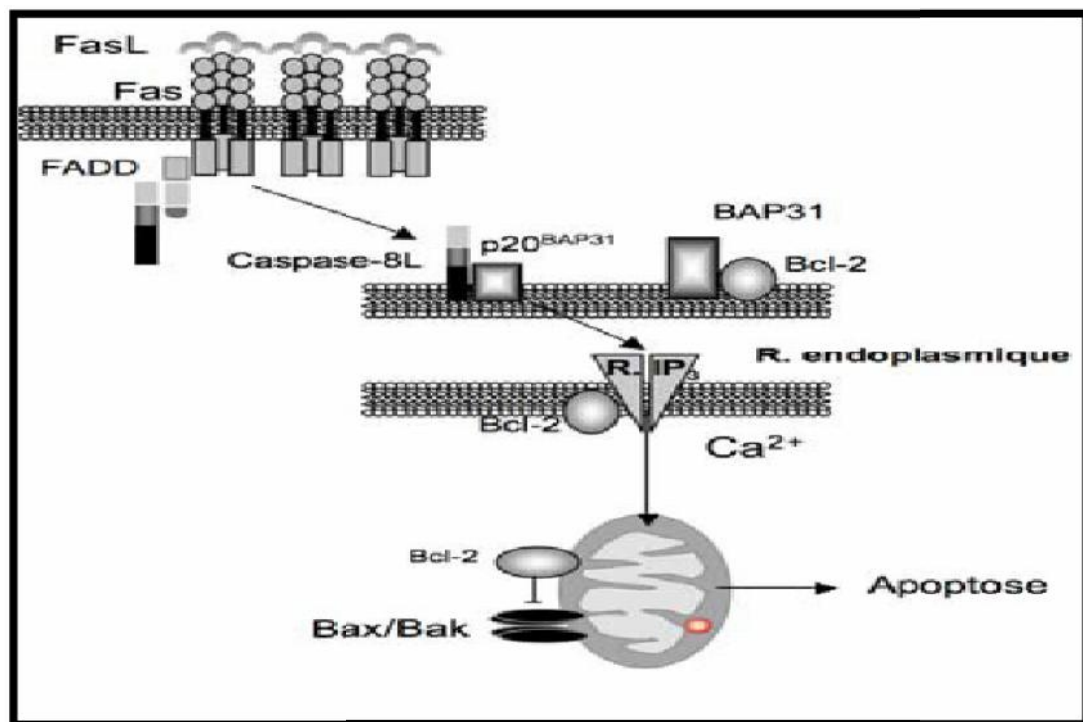


Figure 2 – : Voies de signalisation impliquées dans l'apoptose des précurseurs érythroïdes des SMD [4]

2. les facteurs immunologiques : [5]

Un dysfonctionnement du système immunitaire semble également jouer un rôle dans la physiopathologie des SMD. Les associations entre SMD et manifestations dysimmunitaires notamment avec des dermatoses neutrophiliques, la polyarthrite séronégative, la polychondrite atrophiante ou des vascularites sont classiques.

On note aussi fréquemment la présence d'auto anticorps ou de gammapathies monoclonales chez les patients atteints de SMD. Plusieurs études ont montré l'existence d'une expansion polyclonale des $CD4^+$ et une expansion clonale ou oligoclonale des cellules T cytotoxiques ($CD8^+$) dans le sang et la moelle osseuse de patients présentant un SMD. Ces changements sont plus prononcés dans les SMD à faible risque, qui se caractérise par une diminution du nombre des cellules T régulatrices ($CD4^+$, $CD25$ high, et $FOXP3^+$).

3. Anomalies du microenvironnement médullaire:

L'hématopoïèse est régulée par les étroites relations existant entre les cellules hématopoïétiques et le microenvironnement médullaire. Les cellules hématopoïétiques adhèrent aux protéines de matrice extracellulaire et aux cellules stromales. Celles-ci produisent des cytokines qui influencent la survie, la prolifération, la différenciation et la mobilisation des cellules hématopoïétiques. Le contact est assuré par des couples ligands-récepteurs comme VCAM-1 exprimé à la surface des cellules adhérentes et son récepteur l'intégrine $\alpha4\beta1$ (VLA-4) présente sur les progéniteurs immatures ou l'héparane-sulfate glycosaminoglycane exprimé sur les cellules stromales et le PECAM-1 (CD31) présent sur les progéniteurs $CD34^+$. Les cellules du microenvironnement médullaire sont à l'origine de la production de cytokines impliquées dans la prolifération des cellules $CD34^+$ normales comme le

Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor (GM-CSF), le Stem Cell Factor (SCF) et la thrombopoïétine [3].

Le stroma médullaire des SMD a été très peu étudié. En culture à long terme des cellules adhérentes, le stroma des patients est capable de soutenir la croissance des cellules blastiques comme le stroma normal. Cependant, en culture la capacité du stroma des SMD à soutenir la prolifération de cellules CD34⁺ normales est variable : prolifération normale des cellules CD34⁺, prolifération normale entre J5 et J10 de la culture puis avortement de la culture entre J15 et J20 ou absence de prolifération.

Les cellules stromales des SMD secrèteraient des quantités augmentées de cytokines inhibitrices de l'hématopoïèse (interleukine 1 ou IL-1, Tumor Necrosis Factor alpha ou TNF-a, Transforming Growth Factor bêta ou TGF-b et interféron gamma ou IFN-g) qui participent à l'inhibition de la prolifération [6].

4. Angiogenèse : [7]

Des études récentes ont mis en évidence l'hyper-vascularisation de la moelle osseuse au cours des SMD (angiogenèse accrue), une hypothèse dit que l'augmentation compensatrice des facteurs pro-angiogéniques en réponse à la perte de la moelle osseuse observée au cours du vieillissement conduit à une prédisposition aux maladies néoplasiques comme les SMD.

L'équilibre entre les cytokines locales concurrentes est critique pour la détermination du développement d'un vaisseau sanguin au sein d'un tissu. Parmi ceux-ci, le tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha)- également impliqué dans l'apoptose prématurée mentionnée ci-dessus – qui joue un rôle clé dans la régulation de l'angiogenèse. L'hématopoïèse semble être particulièrement vulnérable aux effets des facteurs angiogéniques, car la plupart de ces facteurs semblent être sécrétée par les cellules hématopoïétiques. Sur la base de cette

hypothèse, les cellules endothéliales circulantes (CECs) et les précurseurs des cellules endothéliales (CEPs) ont été comparée chez des patients ayant un SMD et des donneurs sains. Les résultats ont montré que les CECs et les CEPs actives ont été significativement augmentés chez les SMD par rapport à l'âge témoin.

5. Anomalies génétiques : [3]

L'instabilité génomique observée dans les SMD se traduit par une instabilité chromosomique, une instabilité génique et par des modifications épigénétiques aberrantes de l'ADN. Il peut en résulter une perte d'hétérozygotie ou perte de l'expression concomitante des 2 allèles d'un même gène, mécanisme classique d'oncogenèse.

La responsabilité de ces anomalies génétiques se situe dans un processus global qui affecte la cellule souche pluripotente. Le caractère clonal est pratiquement toujours retrouvé mais certains patients ont une hématopoïèse clonale avant l'apparition d'anomalies cytogénétiques. L'évolution clonale leucémogène semble liée à l'impact des anomalies chromosomiques sur un certain nombre d'altérations moléculaires, par exemple les anomalies de la voie Ras, l'inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs (par mutations ponctuelles de p53, par hyperméthylation conduisant à l'extinction de gènes comme p15), les anomalies conduisant à l'activation de récepteurs à tyrosine-kinase qui sont connues comme pouvant favoriser une expansion tumorale. L'apparition d'une instabilité chromosomique associée à une attrition télomérique aggrave la survenue des anomalies cytogénétiques.

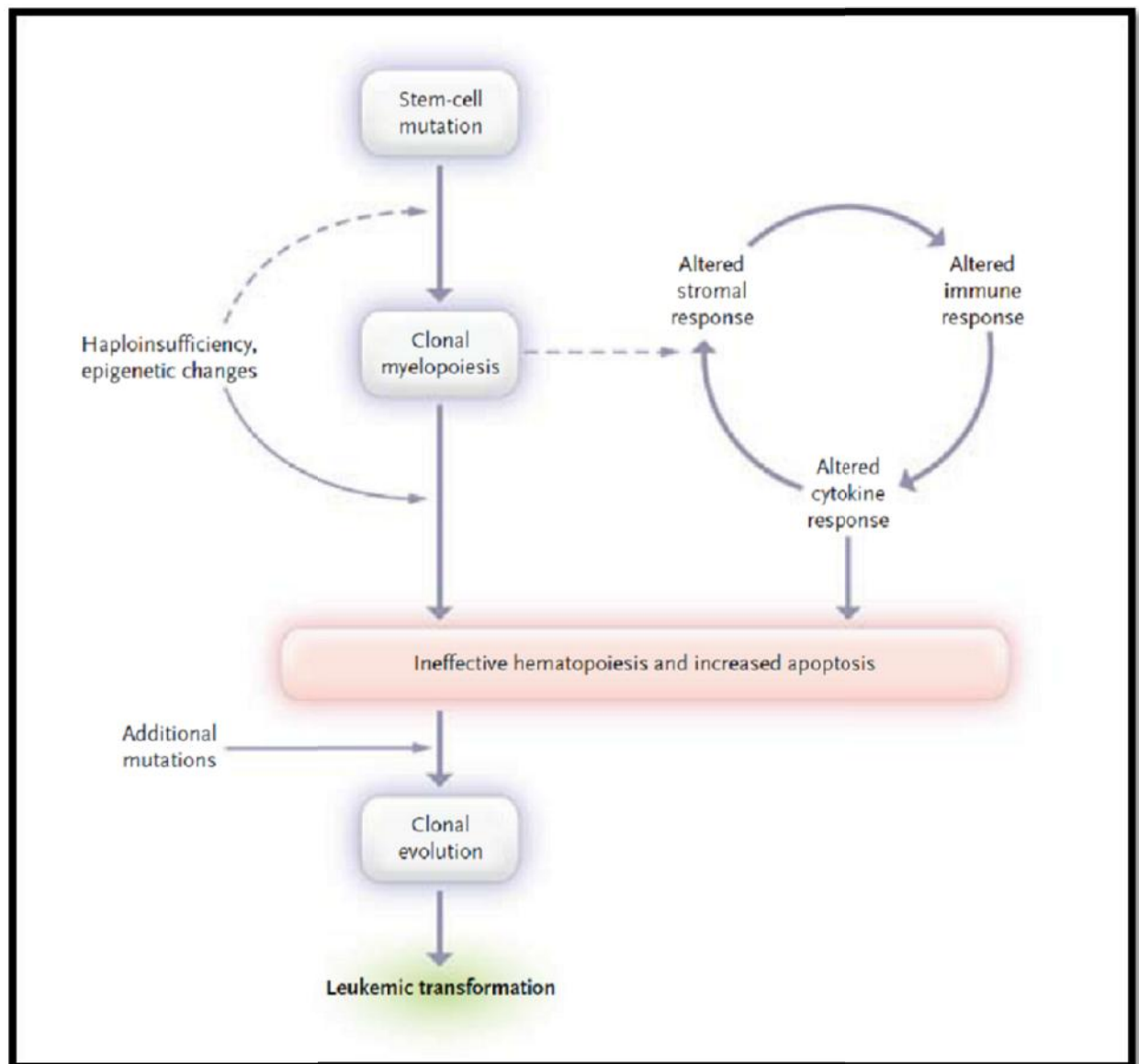


Schéma 1 : Schéma récapitulatif de la physiopathologie des SMD [8]

III. Classification des SMD

1. Classification FAB : [3, 9, 10]

La classification Franco-Américano- Britannique (FAB) élaborée en 1982 s'appuyait sur des critères morphologiques, comme la présence de signes de dysplasie, de sidéroblastes en couronne, le nombre de blastes circulants et médullaires et celui des monocytes circulants. Cette classification permet de distinguer cinq catégories de SMD : l'anémie réfractaire (AR), l'anémie sidéroblastique idiopathique acquise (ASIA), l'anémie réfractaire avec excès de blastes (AREB), l'anémie réfractaire avec excès de blastes "en transformation" (AREB-t) et la leucémie myélomonocytaire chronique (LMMC) (tableau I).

L'AR et l'ASIA se présentent comme une anémie normo- ou macrocytaire arégénérative, parfois associée à une neutropénie et/ou à une thrombopénie. Par définition, le taux de blastes circulants est inférieur à 1% et le taux de blastes médullaires est inférieur à 5%. La moelle est normo- ou hyper-cellulaire et il existe une hyperplasie érythroïde avec dysérythropoïèse, isolée, ou associée à une dysgranulopoïèse et/ou une dysmégacaryopoïèse. La présence de plus de 15% de sidéroblastes en couronne dans la moelle après coloration de Perls permet de porter le diagnostic d'ASIA.

L'AREB se caractérise par l'existence de cytopénies sanguines, touchant 2 ou 3 lignées le plus souvent, associées à des anomalies qualitatives importantes. Par définition, le taux de blastes circulants est inférieur à 5% et le taux de blastes médullaires est compris entre 5% et 20%. La moelle est le plus souvent hyper-cellulaire avec une dysmyélopoïèse marquée. L'AREB-t se distingue de l'AREB par un taux de blastes circulants supérieur à 5%, et/ou un taux de blastes

médullaires compris entre 20 et 30%, et/ou la présence de corps d'Auer dans les blastes.

La LMMC est définie par une monocytose sanguine au sein d'une leucocytose variable et la possibilité d'une anémie ou d'une thrombopénie. Le médullogramme révèle un excès de précurseurs monocytaires dystrophiques.

Les limites de cette classification sont multiples : le terme d'"anémie réfractaire" peut être appliqué à un SMD ayant des cytopénies autres que l'anémie, l'AREB-t a un potentiel d'évolution proche d'une LAM, enfin le profil évolutif des LMMC se rapproche plus des syndromes myéloprolifératifs chroniques.

Tableau I : Classification Franco-Américano- Britannique des syndromes myélodysplasiques [11]

	Sang		Moelle	
	Blastes (%)	Monocytes par mm ³	Blastes (%)	Sidéroblastes en couronne(%)
Anémie réfractaire (AR)	< 1	normaux ou peu augmentés	< 5 %	< 15 %
Anémie sidéroblastique (ASAI)	< 1	normaux ou peu augmentés	< 5 %	< 15 %
Anémie réfractaire avec excès de blastes (AREB)	< 5	normaux ou peu augmentés	5-20 %	< 15 %
AREB en transformation (AREB-T)	> 5	normaux ou peu augmentés	20-30 %	< 15 %
Leucémie myélomonocytaire chronique (LMMC)	< 5	très augmentés > 1 x 10 ⁹ /mm ³	< 20 %	< 15 %

2. Classification OMS :

2.1. Classification OMS 2001 : [9, 10, 12]

En 2001, l'OMS a proposé une nouvelle classification des pathologies hématologiques, introduisant de nouveaux paramètres, principalement l'analyse cytogénétique pour les syndromes myélodysplasiques. Elle définit également 5 catégories (tableau II), mais différentes de celles du F.A.B : l'anémie réfractaire (AR) sans ou avec sidéroblastes en couronne (ARS), la cytopénie réfractaire ou syndrome myélodysplasique avec myélodysplasies touchant plusieurs lignées (CRMD), le syndrome 5q-, l'anémie réfractaire avec excès de blastes (AREB), et les SMD inclassables. L'anémie réfractaire (AR) de la classification OMS est différente de celle de la classification F.A.B., car elle est définie par la présence exclusive d'anomalies de la lignée érythroïde (dysérythropoïèse), sans (AR) ou avec sidéroblastes en couronne (ARS). La CRMD est une nouvelle catégorie, qui suppose la présence de signes de dysmyélopoïèse touchant au moins 2 des 3 lignées (érythroïde, granuleuse et mégacaryocytaire), avec ou sans sidéroblastes en couronne, et de moins de 5% de blastes médullaires. La création de ce groupe diagnostique comble l'ambiguïté existant dans la classification F.A.B., et est justifiée par le pronostic défavorable de ces SMD par rapport aux AR et ARS.

L'AREB est la catégorie la moins modifiée dans la nouvelle classification par rapport à la classification F.A.B. Il est cependant proposé de distinguer deux types d'AREB en fonction du pourcentage de blastes médullaires (5–10% et 10–20%). Cette distinction est justifiée par l'importance du taux de blastes sur le pronostic et le risque de transformation en leucémie aiguë.

Le syndrome 5q- est une forme particulière de SMD, identifié comme entité à part entière dans la classification OMS. Il s'agit d'un SMD de prédominance

féminine, survenant vers 60–70 ans, qui associe une anémie macrocytaire arégénérative et une thrombocytose, parfois très importante. La lignée myéloïde est normale le plus souvent, la moelle est riche et présente une dysmégacaryopoïèse caractéristique, avec des mégacaryocytes à noyau unilobé et excentré. Une érythroblastopénie est fréquente (définie par des érythroblastes inférieur à 5%). Le caryotype médullaire montre une délétion isolée du bras long du chromosome 5 : del (5q). Selon les critères diagnostiques utilisés dans la classification F.A.B., 75% des syndromes 5q- étaient classés comme AR. Ce SMD est remarquable au niveau évolutif, par la rareté de la transformation en leucémie aiguë et le caractère souvent très récidivant de l'anémie.

Enfin, certains cas de SMD, plus difficiles à classer, sont peu pris en compte dans la classification F.A.B. La classification OMS prévoit une catégorie « ouverte » pour ces SMD inclassables, incluant les SMD à moelle hypoplasique, ou avec fibrose médullaire et prélèvement de mauvaise qualité, voire les cas où l'analyse cytogénétique n'est pas disponible.

Tableau II : classification OMS 2001 des SMD. [3]

	Sang	Moelle
AR sans sidéroblaste AR AR avec sidéroblastes	Anémie	Blastes <5%, dysplasie érythroïde isolée
	Anémie	Blastes <5%, dysplasie érythroïde isolée >15% de sidéroblastes en couronne
CRDM CRDM CRDM avec sidéroblastes	Cytopénies	Blastes <5%, dysplasie de 2 ou 3 lignées
	Cytopénies	Blastes <5% >15% de sidéroblastes en couronne
AREB-1 AREB AREB-2	Cytopénies blastes <5% <1x10 ⁹ /L monocytes	5% < Blastes < 10%
	Cytopénies blastes <5% <1x10 ⁹ /L monocytes	10% < Blastes < 20%
Syndrome 5q-	Anémie Plaquette normale ou élevées	Dysmégacaryopoïèse délétion isolée du 5q Blastes <5%
SMD inclassable	-	Blastes <20%

AR : anémie réfractaire

CRDM : cytopénie réfractaire avec dysplasie multi-lignée

AREB : anémie réfractaire avec excès de blastes

SMD : syndrome myélodysplasique.

2.2. classification OMS 2008 : [9]

La classification OMS 2008 permet de définir plus précisément les sous-groupes créés en 2001. Ainsi, les paramètres suivants interviennent maintenant dans la classification :

- La nature de la dysplasie « uni-lignée » qui individualise chaque cytopénie réfractaire ;
- Le nombre de cytopénies sanguines qui sépare les cytopénies réfractaires « uni-lignées » des syndromes myélodysplasiques inclassables ;
- Le pourcentage de blastes circulants qui devient discriminant, pour identifier les anémies réfractaires avec excès de blastes de type 1, ou de type 2 ou les syndromes myélodysplasiques inclassables ;
- La présence de Corps d'Auer qui fait classer le cas en anémie réfractaire avec excès de blastes de type 2, indépendamment du pourcentage de blastes sanguins ou médullaires.

Cette nouvelle classification distingue les types suivants (tableau III) : Cytopénies réfractaires avec dysplasie uni-lignée (CRDU), Anémie réfractaire avec sidéroblastes en couronne ARS, Cytopénie réfractaire avec dysplasie multi-lignée (CRDM), Anémie réfractaire avec excès de blastes type1 et 2 (AREB-1, AREB-2), Syndrome myélodysplasique avec délétion 5q isolée, Syndromes myélodysplasiques inclassables.

L'anémie réfractaire pure (AR), déjà identifiée dans la classification OMS 2001 est caractérisée par une atteinte isolée de la lignée érythroïde dans la moelle, avec une dysérythropoïèse touchant plus de 10 % des érythroblastes. Deux autres entités sont définies en 2008 : la neutropénie réfractaire (NR), avec

dysgranulopoïèse isolée de plus de 10 % des éléments granuleux sanguins ou médullaires, et la thrombopénie réfractaire (TR), avec dysmégacaryopoïèse isolée de plus de 10 % des mégacaryocytes. Ces trois entités sont regroupées sous le terme de cytopénies réfractaires avec dysplasie uni-lignée (CRDU). Les blastes circulants sont absents ou rares, inférieurs à 1 %, et on compte moins de 5 % de blastes et moins de 15 % de sidéroblastes en couronne médullaire.

L'ARS, identifiée dans la classification OMS 2001, est définie par une anémie, et une dysérythropoïèse médullaire isolée caractérisée par plus de 15 % de sidéroblastes en couronne parmi les précurseurs érythroïdes. Il n'y a pas de blastes circulants et moins de 5 % de blastes dans la moelle.

La CRDM est caractérisée par une ou plusieurs cytopénie(s) associée(s) à une dysplasie de 2 ou 3 lignées dans la moelle. Le pourcentage de blastes est inférieur à 1 % dans le sang périphérique et à 5 % dans la moelle. Ils n'ont pas de corps d'Auer.

L'AREB-1 est un syndrome myélodysplasique défini soit : par une blastose médullaire comprise entre 5 et 9 %, si le nombre de blastes médullaires est inférieur à 5 %, ou par un pourcentage de blastes circulants compris entre 2 % et 4%. Les blastes n'ont pas de corps d'Auer. Alors que l'AREB-2 est un syndrome myélodysplasique défini : par une blastose médullaire comprise entre 10 et 19 %, ou si le nombre de blastes médullaires est inférieur à 10 %, par un pourcentage de blastes circulants compris entre 5 % et 19 % ou indépendamment du nombre de blastes circulants ou médullaires, par la présence de corps d'Auer.

Le syndrome myélodysplasique avec délétion 5q isolée, déjà identifié dans la classification de 2001 sous le terme de « syndrome 5q- », est un syndrome myélodysplasique défini par une anémie, souvent isolée, et/ou une

thrombocytose, et pour lequel la seule anomalie cytogénétique retrouvée est la délétion du bras long du chromosome 5 (del(5q)). Les blastes circulants sont absents ou rares (moins de 1 %), représentent moins de 5 % des cellules nucléées médullaires, et n'ont pas de corps d'Auer.

Les syndromes myélodysplasiques inclassables regroupent l'ensemble des myélodysplasies ne répondant pas aux critères précédemment définis. La classification OMS 2008 précise leurs caractéristiques sanguines et médullaires et identifie trois situations particulières :

- Présence de rares blastes circulants (1 %) sans excès de blastes médullaires.
- Présence d'une pancytopénie avec dysplasie médullaire d'une seule lignée.
- Présence d'une cytopénie sans dysplasie significative, avec anomalie cytogénétique.

Tableau III : classification OMS 2008 des SMD [9]

Pathologie	Sang	Moelle
Cytopénies réfractaires avec dysplasie uni-lignée • AR (anémie réfractaire) • NT (neutropénie réfractaire) • RT (thrombopénie réfractaire)	• Cytopénie isolée • Absence ou rares blastes (<1%)	• Dysplasie uni-lignée >10% des cellules de la lignée touchée sont dysplasique • <5% blastes • <15% des précurseurs érythroïdes sont des sidéroblastes en couronne
Anémie réfractaire avec sidéroblastes en couronne ARS	• Anémie, absence de blastes	• Dysplasie érythroblastique isolée • < 5% de blastes • ≥ 15% de sidéroblastes
Anémie réfractaire avec dysplasie multi-lignée	• Cytopénie (bicytopénie ou pancytopénie), absence ou rares blastes • pas de corps d'Auer, • monocytose < 1000/μl	• Dysplasie dans ≥ 10% des cellules dans au moins deux lignées - Myéloïdes • < 5% de blastes, pas de corps d'Auer • ≥ 15% de sidéroblastes
Anémie réfractaire avec excès de blastes type1 AERB-1	• Cytopénies • < 5% de blastes, pas de corps d'Auer, • monocytose l 1000/μl	• Dysplasie uni- ou multi-lignée • 5 à 9% de blastes • Pas de corps d'Auer
Anémie réfractaire avec excès de blastes type 2 AREB-2	• Cytopénies • < 20% de blastes ± corps d'Auer, • monocytose <1000/μl	• Dysplasie uni- ou multi-lignée • 10 à 19% de blastes ± corps d'Auer
Syndrome myélodysplasique avec délétion 5q isolée	• Anémie avec plaquettose normale ou augmentée • < 5% de blastes	• Mégacaryocytes normaux ou augmentés avec noyaux hypo-lobés • < 5% de blastes, pas de corps d'Auer • Délétion isolée (5q)
Syndromes myélodysplasiques inclassables	• Cytopénies, absence ou rares blastes, • pas de corps d'Auer	• Dysplasie de la lignée granuleuse ou mégacaryocytaire • < 5% de blastes, pas de corps d'Auer

3. Conséquences de la nouvelle classification OMS

Dans la classification OMS des SMD, l'AREB-t disparaît, et la présence de plus de 20% de myéloblastes dans la moelle entraîne le diagnostic de leucémie aiguë myéloblastique (LAM). L'abaissement du seuil de blastes nécessaire au diagnostic de LAM repose sur un argument clinique, puisque les patients atteints d'AREB-t ont un mauvais pronostic, comme ceux atteints de LAM. Les AREB-t et les LAM avec myélodysplasie ont donc en commun leur pronostic très défavorable, lié à une mauvaise réponse au traitement habituel des LAM.

La leucémie myélomonocytaire chronique fait partie des syndromes myélodysplasiques définis dans la classification F.A.B. En fait, les aspects morphologiques dans cette pathologie sont hétérogènes, les signes de dysmyélopoïèse peuvent être absents, et les caractéristiques hématologiques de certaines LMMC se rapprochent plus des syndromes myéloprolifératifs chroniques (SMP).

Ainsi, l'appartenance de la LMMC aux syndromes myélodysplasiques est remise en cause dans la classification OMS, qui crée une nouvelle classe diagnostique pour des maladies actuellement considérées comme des formes frontières entre les SMD et les SMP ce sont les Syndromes frontières myélodysplasiques/myéloprolifératifs (syndromes SMD/SMP). Les anémies réfractaires avec sidérobastes en couronne avec thrombocytose, précédemment classées parmi les syndromes myélodysplasiques dans les classifications FAB ou OMS 2001, sont classées parmi les syndromes frontières SMD/SMP dans la classification OMS 2008 [10, 13, 14].

IV. Traitement

Le seul traitement curatif des SMD est l'allogreffe de moelle osseuse réservée aux sujets de moins de 65 ans. En dehors de l'allogreffe, il existe un consensus pour séparer, les patients à « haut risque », qui comprennent les patients ayant un score IPSS élevé et intermédiaire II, de ceux à « faible risque » associant les patients à risque faible et intermédiaire I de l'IPSS. Le traitement symptomatique, principalement les transfusions globulaires et le traitement rapide des infections en cas de neutropénie par une antibiothérapie à large spectre, reste fondamental dans la plupart des SMD [15,16].

Le traitement des syndromes myélodysplasiques de «faible risque» visent avant tout à corriger les cytopénies, principalement l'anémie. Les principaux traitements utilisés sont : Les agents stimulant l'érythropoïèse (EPO- α , EPO- β et darbépôïétine), le Lénalidomide (plus efficace chez les porteurs de del 5q), et thalidomide.

En cas d'échec de ces produits en première ligne, les agents hypométhylants (notamment l'azacitidine) commence à être employée en 2e ligne, associée ou non avec l'EPO. Alors que L'azacytidine, les Agents hypométhylants (Il s'agit de la 5-azacytidine et de la décitabine), la chimiothérapie intensive et la cytarabine à faible dose sont les principaux traitements des SMD de «haut risque» [16,17].

Deuxième partie : Techniques cytogénétiques

I. Historique [18, 19, 20, 21, 22]

Si le terme de chromosome a été proposé dès 1888 par Waldeyer pour désigner les éléments colorés visibles au cours de la division cellulaire, leur dénombrement a longtemps été difficile du fait de l'enchevêtrement des chromosomes visibles à la métaphase, et il aura fallu attendre 1956 date à laquelle Tjio et Levan confirme définitivement que le nombre de chromosomes était de 46 dans les cellules somatiques humaines.

La première anomalie chromosomique constitutionnelle que les techniques de l'époque avaient permis de diagnostiquer en 1959 était la trisomie 21, par Lejeune et al, en établissant le lien entre un handicap (mongolisme) et une anomalie cytogénétique (la trisomie 21) ; c'est la naissance de la cytogénétique humaine et médicale.

La reconnaissance individuelle des chromosomes humains qui reposait sur leur longueur relative et la position du centromère n'était pas possible pour tous les chromosomes avec les premières techniques utilisées. Néanmoins, la première nomenclature internationale des chromosomes mitotiques humains à Denver, Colorado en 1960, suivie de la conférence de Londres en 1963 ont donné aux cytogénéticiens la base d'un langage commun permettant de classer les chromosomes et de décrire leurs anomalies.

La première introduction de technique de bandes sur les chromosomes humains est due à Caspersson et al. Utilisant un marquage fluorescent (moutarde de quinacrine devant s'intercaler dans la double hélice d'ADN). À partir de 1970, d'autres techniques de bandes utilisant souvent le colorant de Giemsa et permettant d'obtenir des préparations permanentes, impossibles avec un colorant fluorescent, furent mises au point. Les plus employées donnent des bandes G, des bandes R (marquage inverse des bandes G), des bandes C (marquant

spécifiquement la chromatine constitutive), et selon les besoins de l'analyse les bandes T (régions télomériques), NOR (organisateurs nucléolaires).

L'hybridation in situ fut appliquée à l'homme au début des années 70 pour localiser des séquences d'ADN satellite. Après une période pendant laquelle le marquage des sondes se faisait par des techniques utilisant la radioactivité, la simplification de la méthode est venue par leur marquage en fluorescence, d'où le terme d'hybridation in situ fluorescente ou FISH (Fluorescence In Situ Hybridisation) qui qualifie cette technique. La FISH s'est rapidement imposée comme une technique complémentaire du caryotype en bandes et indispensable dans certaines indications, en particulier lorsqu'il s'agit de détecter un microremaniement dont on connaît le phénotype.

En 1992 l'équipe de Dan Pinkel a mis au point une nouvelle technique de cytogénétique appelée hybridation génomique comparative ou CGH, et actuellement d'autres techniques se sont développées sur la base de la CGH (CGH-array et SNP-array) grâce au développement de l'informatique, des techniques de biologie moléculaire, et la connaissance de la séquence du génome humain.

II. Cytogénétique conventionnelle : 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 (5 à 10 mégabases) [23].

1. Les prélèvements :

Le caryotype d'une hémopathie maligne est réalisé à partir d'un prélèvement contenant des cellules malignes ; il s'agit le plus souvent de moelle osseuse, de ganglion lymphatique ou de sang périphérique selon l'hémopathie en cause et les organes infiltrés. En cas des SMD Un échantillon de 10-20 ml du prélèvement héparinisé de moelle osseuse permet de préparer les métaphases en bande destinées au caryotype [24].

2. Principe et techniques : [23, 24, 25]

2.1. Culture cellulaire

Afin d'obtenir des cellules en métaphase, les prélèvements sont mis en culture courte (1 à 2 j le plus souvent) dans un milieu liquide qui peut contenir des facteurs de croissance ou des substances chimiques favorisant la prolifération des cellules.

2.2. Blocage des cellules en métaphase

L'étape suivante consiste à bloquer les cellules en métaphase afin de pouvoir observer les chromosomes. Pour cela, on utilise un poison du fuseau de division (classiquement c'est la Colchicine qui est utilisée ou son équivalent synthétique

la Colcémide) qui empêche la progression de la mitose vers l'anaphase en bloquant la polymérisation des tubulines dans les microtubules.

2.3. Choc hypotonique

Les cellules sont alors plongées dans une solution hypotonique ce qui entraîne leur gonflement suivi de l'éclatement de membrane nucléaire et la dispersion des chromosomes. Cette étape est indispensable à l'obtention d'un étalement correct des chromosomes.

2.4. Fixations/ Etalement

La fixation se fait par un mélange d'alcool et d'acide acétique. Cette acidification du milieu permet l'arrêt du choc cellulaire. La répétition des fixations élimine les débris cellulaire. La préparation est alors étalée en laissant tomber quelques gouttes de la suspension cellulaire sur une lame propre.

2.5. Vieillessement des lames

Les lames étalées sont séchées à l'air libre puis remises à l'étuve à 37°C pour parfaire la fixation et permettre une meilleure dénaturation.

2.6. Dénaturation /Coloration

Lorsque l'on colore des préparations chromosomiques avec du Giemsa, les chromosomes prennent un aspect rose violacé à peu près homogène sur toute leur longueur. On ne peut donc les distinguer les uns des autres que par leur taille et leur forme. Cependant, ces critères sont insuffisants pour assurer la reconnaissance et l'interprétation correcte des anomalies chromosomiques. Pour reconnaître spécifiquement chaque paire chromosomique, on utilise donc des techniques de marquage particulières qui permettent d'obtenir une coloration inhomogène des chromosomes par le Giemsa et l'apparition de bandes. C'est la succession de bandes sombres et claires le long d'un chromosome, identique

chez tous les individus pour un chromosome donné, qui en permet l'identification précise, selon le même principe qu'un code à barres.

Il existe deux principales techniques de marquage en bandes des chromosomes (banding), utilisées en routine :

- **Les bandes G** : obtenues par digestion trypsinique modérée des chromosomes. Elles sont les plus utilisées en raison de leur facilité d'obtention.
- **Les bandes R** : obtenues par dénaturation thermique ménagée.

Dans les deux cas, les bandes ne deviennent visibles qu'après une coloration avec le Giemsa. Ces deux techniques donnent un marquage réciproque, c'est-à-dire que là où l'on obtient une bande sombre avec l'une des deux techniques, on observe une bande claire avec l'autre.

D'autres techniques de marquage complémentaires existent qui permettent d'analyser certaines régions particulières du génome :

- **Bandes C** : cette coloration par le Sulfate de Baryum permet de mettre en évidence l' hétérochromatine constitutive, qui correspond à des régions non codantes du génome comme les régions centromériques.
- **Bandes Q** : obtenues après coloration par la moutarde de Quinacrine. Sous UV les chromosomes présentent des bandes fluorescentes, de même que les bandes G.
- **NOR** : cette technique consiste en un dépôt de nitrate d'argent qui met en évidence les organisateurs nucléolaires. Ces structures correspondent aux régions du génome contenant les gènes qui codent pour les ribosomes.
- **Bandes T** : une dénaturation thermique poussée ne laisse persister le marquage qu'au niveau des télomères.

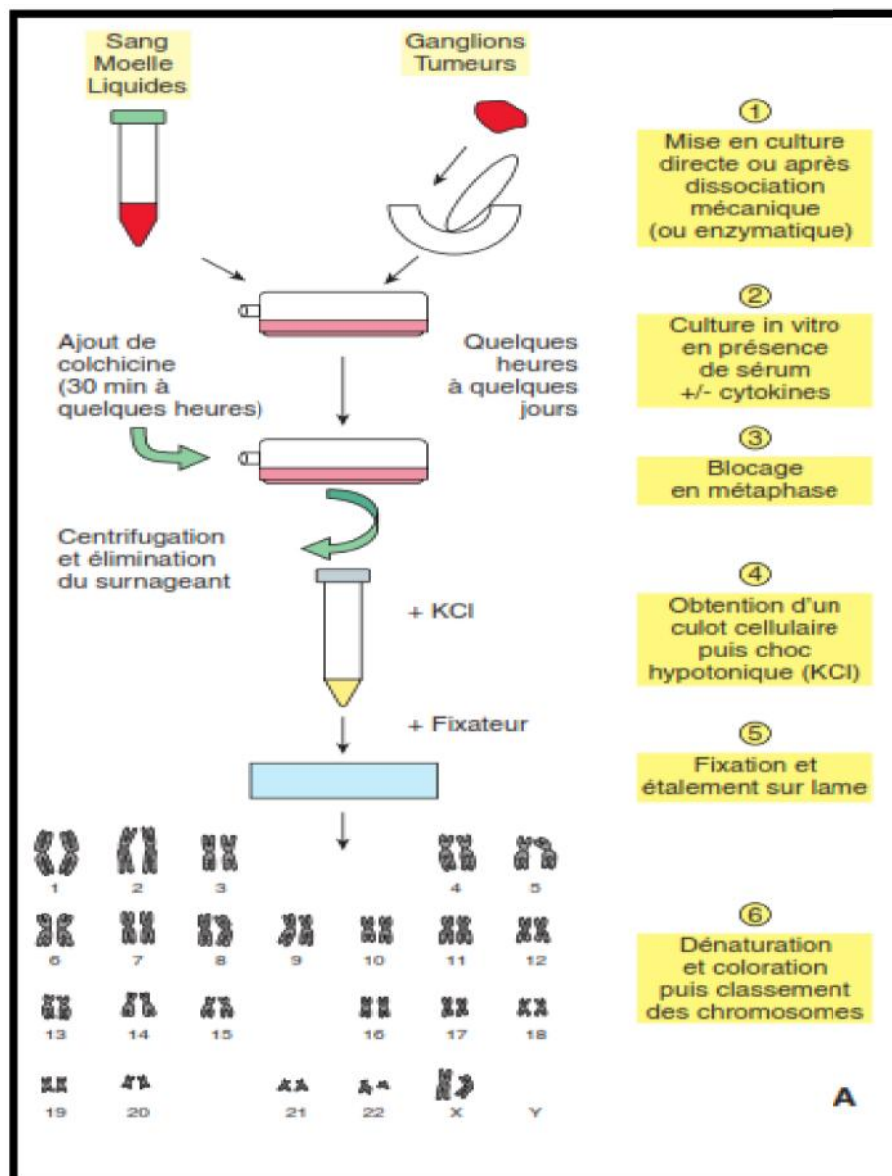


Figure 3 : étapes de la réalisation du caryotype [26]

3. Classement des chromosomes métaphasiques :

3.1. Structure du chromosome métaphasique

Les chromosomes métaphasiques sont constitués de deux chromatides sœurs réunies par un centromère dont la position définit les deux bras du chromosome le bras court (noté p) et le bras long (noté q). (Figure 4)

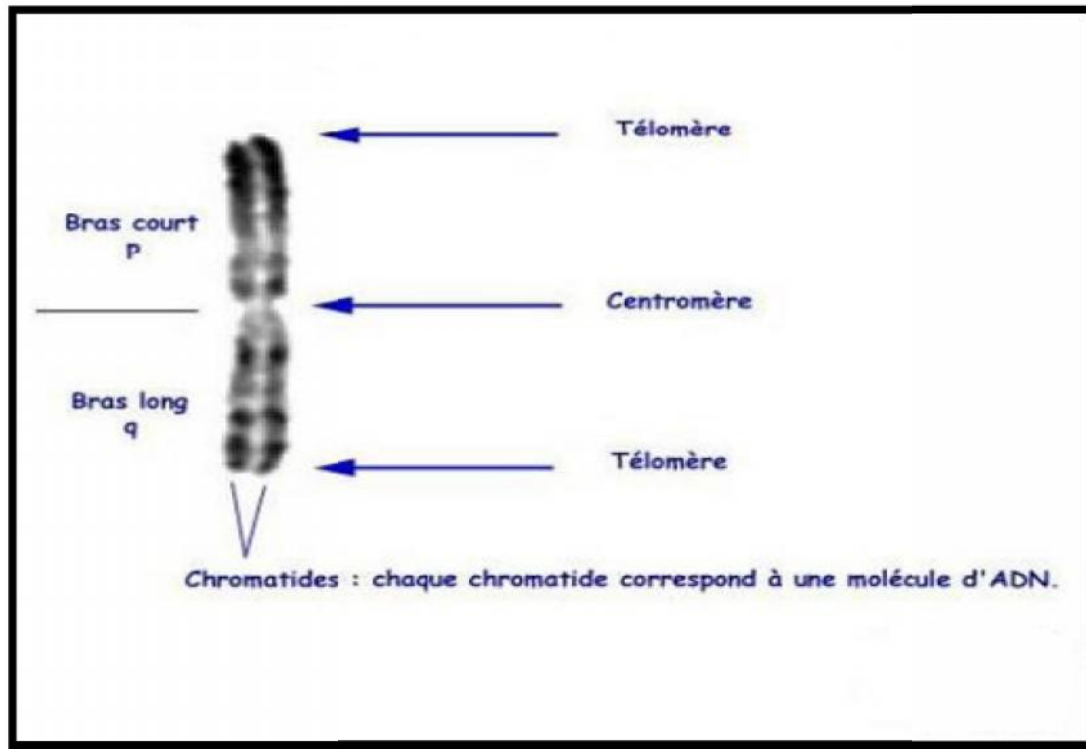


Figure 4 : Aspect morphologique d'un chromosome métaphasique [27]

3.2. Critères de classement des chromosomes [23,27]

Plusieurs critères vont permettre de reconnaître et de classer les chromosomes :

- **La taille** : Par convention, les chromosomes sont classés du plus grand au plus petit.
- **L'index centromérique (IC)** : c'est-à-dire le rapport entre la taille du bras court et la taille totale du chromosome ($p/p+q$)

Cet index permet de reconnaître trois familles de chromosomes (figure 5) :

Les chromosomes métacentriques : dont les deux bras ont une taille à peu près équivalente ($IC = 1/2$).

Les chromosomes submétacentriques : qui ont un bras franchement plus petit que le bras long ($0 < IC < (1/2)$).

Les chromosomes acrocentriques : dont le bras court est quasi inexistant ($IC \approx 0$).

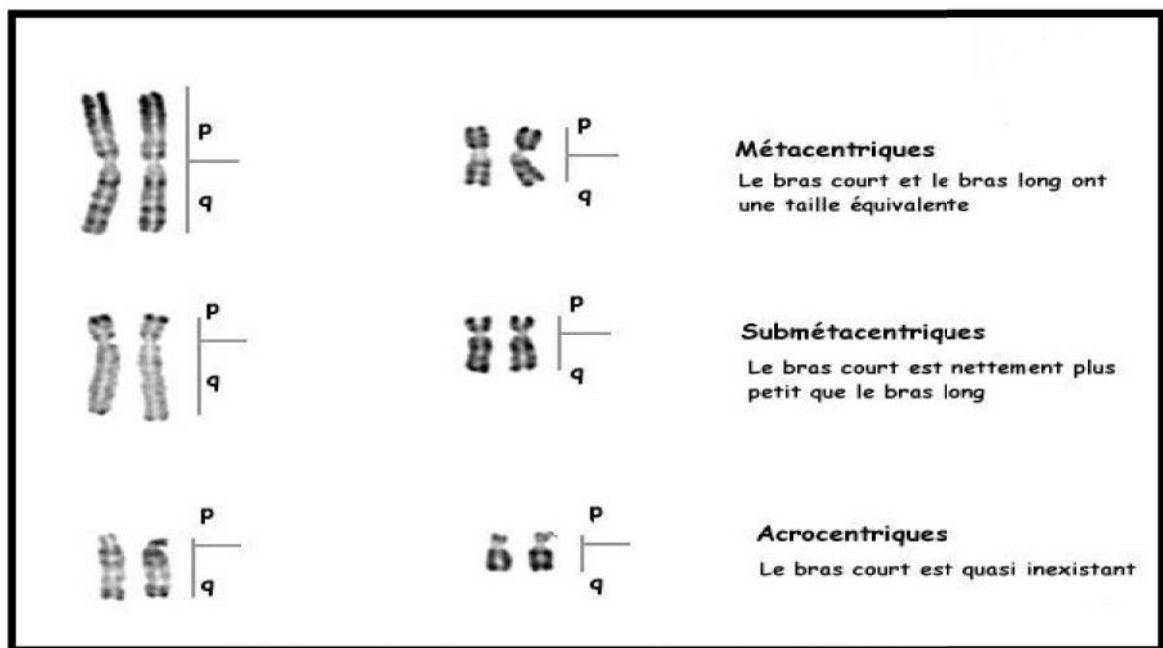


Figure 5 : aspects morphologiques des chromosomes en fonction de l'indice centromériques [28]

En fonction de la taille et de la position du centromère, les chromosomes sont classés en 7 groupes :

Le groupe A : Les grands médians et submédians 1, 2, 3.

Le groupe B : Les grands distaux 4, 5.

Le groupe C : Les médians et submédians moyens 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 et X.

Le groupe D : Les grands acrocentriques 13, 14 et 15.

Le groupe E : Les petits submédians 16, 17 et 18.

Le groupe F : Les petits médians 19, 20.

Le groupe G : Les petits acrocentriques 21, 22 et Y.

- **Les bandes chromosomiques** : qui sont caractéristiques de chacune des paires. Le nombre de bandes visibles est variable d'une mitose à l'autre et dépend du niveau de condensation du chromosome.

3.3. Nomenclature : [28,29]

La formule chromosomique normale de l'homme : 46, XY.

La formule chromosomique normale de la femme : 46, XX.

- Chaque bras chromosomique est divisé en régions numérotées de 1 à 4, chaque région est divisée en bandes et sous-bandes numérotées du centromère au télomère.

- Donc pour la précision d'une zone sur un chromosome, on utilise : le numéro du chromosome, bras court ou bras long, région, bande, sous bande.

Par exemple, la dénomination 6p12 désigne la deuxième bande de la région 1 des bras courts du chromosome 6.

Tableau IV : Nomenclature cytogénétique [30]

Nomenclature génétique	Signification
P	Bras court
q	Bras long
q2	Deuxième région du bras long
q23	Troisième bande de la deuxième région du bras long
11q23	Troisième bande de la deuxième région du bras long du chromosome 11
T	Translocation : échange de matériel entre deux chromosomes
Inv	Inversion : remaniement impliquant une double cassure sur un chromosome et recollement après inversion
Del	Délétion : perte d'un segment chromosomique
Mar	Marqueur chromosomique non identifié
R	[ring] : chromosome en anneau
Der	Dérivé : marqueur partiellement identifié portant le centromère du chromosome reconnu

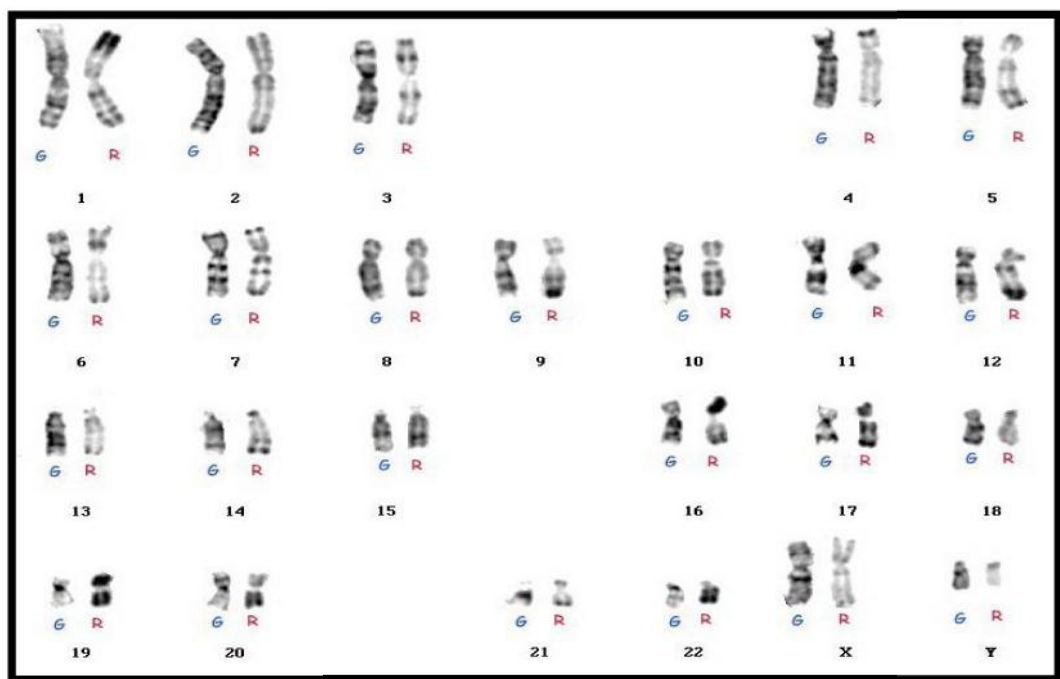


Figure 6: caryotype humain normal (46, XY) en bande G et R. [28]

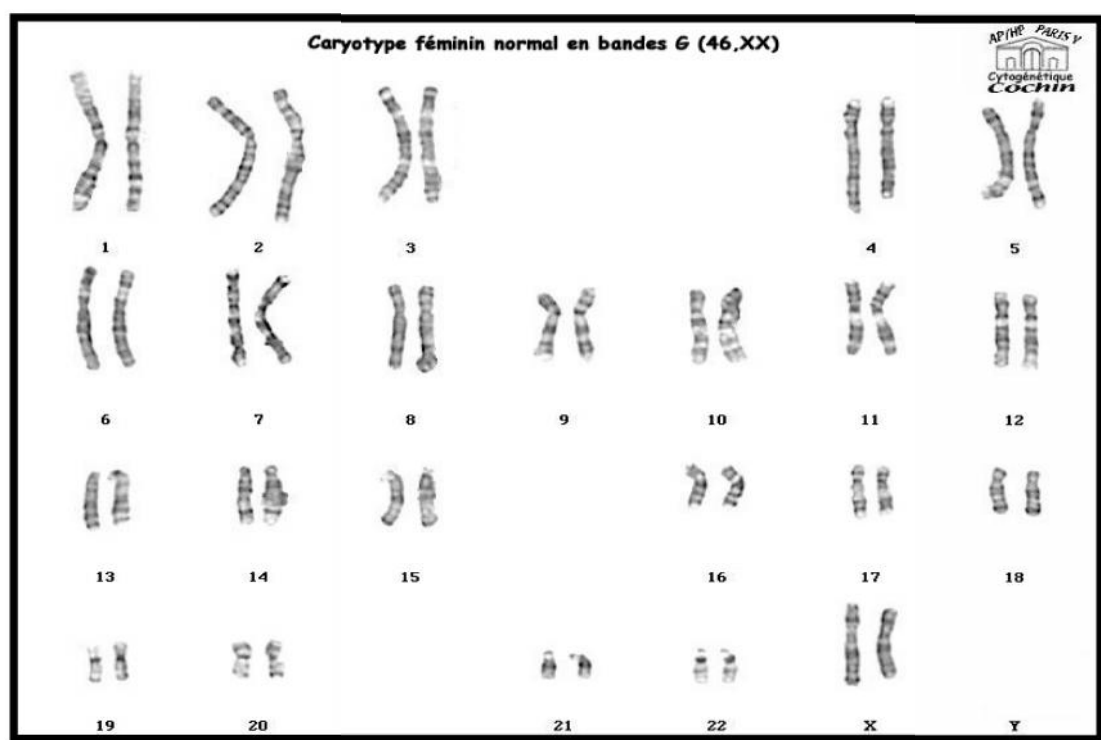


Figure 7: caryotype féminin normal en bande G (46XX) [28]

4. Avantages et limites

L'avantage le plus évident de la cytogénétique est la vision globale qu'elle donne des anomalies génétiques, détection des anomalies chromosomiques numériques et structurales, précision du caractère complexe ou non des anomalies. Alors que ces limites sont : la nécessité quasi absolue de travailler sur un échantillon fraîchement prélevé, et le fait que c'est une technique longue, et relativement peu sensible ; la résolution est de l'ordre de 10 millions de paires de bases (Mb) [26,30].

III. CYTOGENETIQUE MOLECULAIRE

Les techniques de la cytogénétique moléculaire reposent sur le principe de l'hybridation de la molécule d'ADN avec une séquence complémentaire variable, en fonction de la technique utilisée et la pathologie étudiée.

Les principales méthodes de cette discipline sont l'Hybridation in situ Fluorescente «FISH » (examen ciblé nécessitant la connaissance préalable du locus étudié) et l'Hybridation Génomique Comparative « CGH » (étude pangénomique ne détectant que les déséquilibres génomiques)

1. Hybridation in situ fluorescence: FISH

L'hybridation in situ en fluorescence (FISH) est une technique qui a considérablement amélioré l'analyse cytogénétique des hémopathies malignes. L'utilisation appropriée de sondes moléculaires révélées par fluorescence permet de détecter des anomalies chromosomiques de nombre et de structure aussi bien dans les métaphases que dans les noyaux inter-phasiques, c'est une technique qui vient renforcer considérablement le pouvoir de résolution de la cytogénétique, éliminant la plupart des inconvénients de la cytogénétique conventionnelle [31].

1.1. Principe

Le principe de l'hybridation in situ fluorescente repose sur la propriété d'hybridation, après dénaturation, d'une sonde nucléotidique de synthèse, le plus souvent préalablement marquée chimiquement de façon à pouvoir être repérée par la suite, sur une séquence spécifique d'ADN génomique à étudier, cela aussi bien sur plaque métaphasique que sur noyau interphasique. Grâce aux multiples possibilités de marquage et de détection, la FISH permet d'hybrider et de révéler simultanément plusieurs sondes moléculaires [31,32].

Les sondes sont marquées soit avec une molécule fluorescente, soit avec un haptène (molécule qui peut être reconnue par un anticorps). Dans le premier cas, la sonde est directement visible au microscope à fluorescence, tandis que dans le second, une étape supplémentaire de révélation avec un anticorps fluorescent est nécessaire [28].

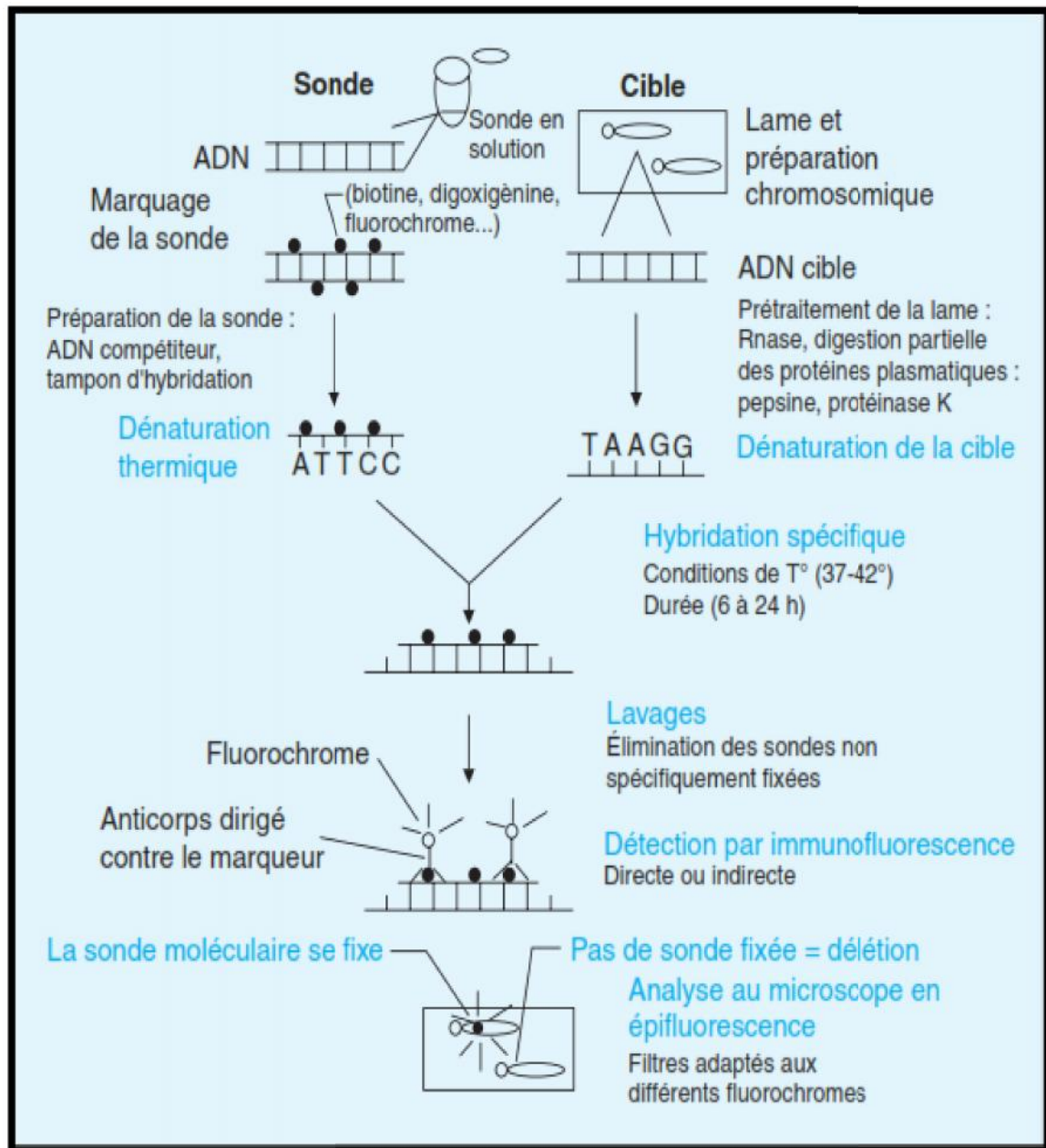


Figure 8 : principe de la technique FISH [33]

1.2. Sondes utilisées [32,34]

Différents types de sondes peuvent être utilisés, leur choix étant fonction de l'objectif à atteindre.

1.2.1. Les sondes centromériques :

Reconnaissent des séquences répétitives spécifiques des régions centromériques (chaque séquence comprend environ 171 paires de bases répétées de quelques centaines à plusieurs milliers de fois). Elles donnent un signal de forte intensité visible aussi bien sur noyau interphasique que sur métaphase et sont essentiellement utilisées pour dépister les aneuploïdies (anomalies de nombre).

1.2.2. Les sondes télomériques :

Les régions subtélomériques sont fréquemment impliquées dans les remaniements chromosomiques. Des séquences spécifiques de ces régions, pour chaque paire chromosomique, sont utilisées comme sondes. Elles permettent de mettre en évidence des microremaniements non détectés en cytogénétique conventionnelle.

1.2.3. Les sondes de peinture chromosomique :

Sont obtenues à partir de bibliothèques d'ADN spécifiques d'un chromosome donné. Elles permettent de colorer entièrement une paire chromosomique, à l'exception du centromère et des télomères. En utilisant des fluorochromes différents, il est possible de « peindre » spécifiquement des chromosomes hétérologues. Leur utilisation, essentiellement métaphasique, est destinée à mettre en évidence des translocations réciproques difficilement appréciables par les techniques de bandes (fragments échangés de même taille...).

1.2.4. Les sondes spécifiques de régions chromosomiques :

De taille variable selon les cas (de 15 Kb à 1 Mb), détectent des régions, des gènes ou des locus uniques du génome. Elles peuvent être subdivisées en :

- sondes spécifiques de régions qui peuvent détecter des remaniements de la taille d'une bande ; elles sont utilisables uniquement sur métaphase ;
- sondes de locus ou de gènes uniques qui détectent spécifiquement un microremaniement, elles sont utilisables aussi bien sur métaphase que sur noyau interphasique ; elles peuvent aussi être utilisées en tant que sondes chromosomes-spécifiques.

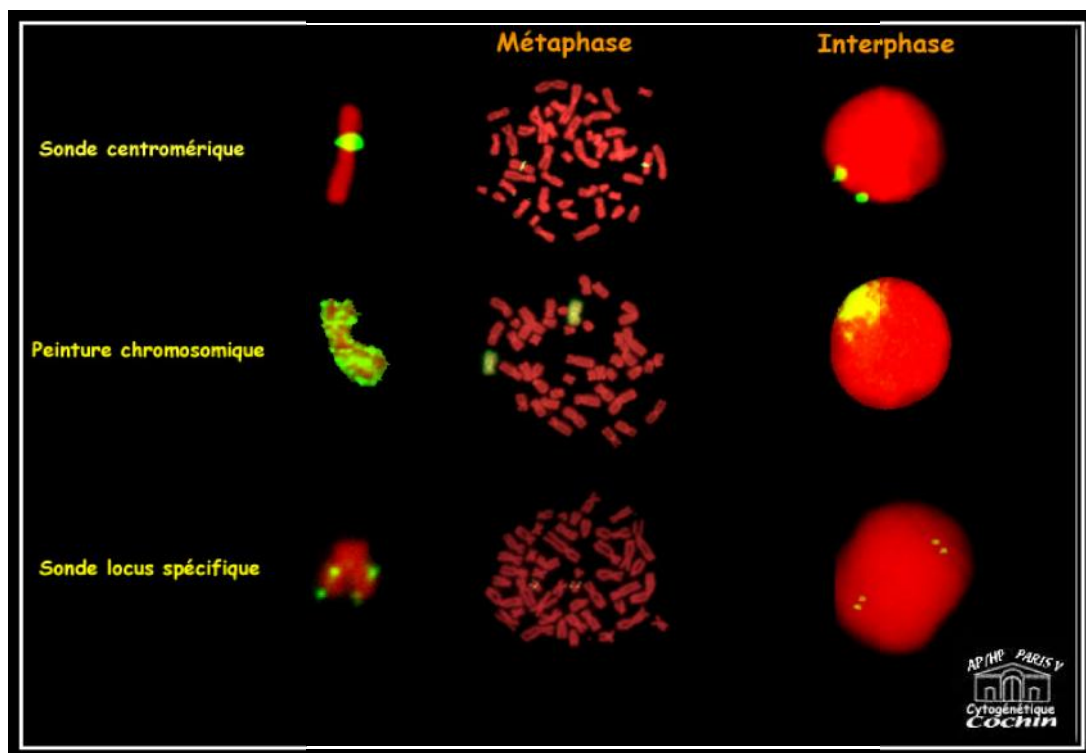


Figure 9 : différents types de sondes utilisées en hybridation in situ [28]

1.3. Dénaturation /Hybridation

C'est l'opération qui consiste à mettre en présence la sonde dénaturée, généralement par la chaleur, et l'ADN des chromosomes et des noyaux également dénaturés. Cette hybridation se déroulera dans des conditions précises de température, pH et salinité. Un appareil nommé « thermobrite » est utilisé pour garder la préparation à s'hybrider à la température requise. L'efficacité de cette étape dépend du temps d'hybridation et de la concentration de la sonde. Le temps d'hybridation varie de 5 minutes pour des sondes centromériques, à 24 ou 48 heures pour les sondes plus complexes comme les sondes de peinture. Un traitement à la pepsine avec des lavages post hybridation sont nécessaires pour éliminer les hybridations non spécifiques et diminuer le bruit de fond de la préparation [35,36].

1.4. Visualisation et analyse des hybrides [36,37]

Après contre coloration des noyaux, l'analyse des lames est faite à l'aide d'un microscope à épifluorescence équipé de filtres appropriés aux nombreux fluorochromes disponibles : isothiocyanate de fluorescéine (vert-jaune), rouge Texas, rhodamine (rouge), coumarine (bleu). Les molécules émettent une lumière lorsqu'elles sont excitées par une longueur d'onde appropriée. Des filtres sont disponibles avec plusieurs bandes passantes permettant de détecter plusieurs couleurs durant la même observation.

L'observation de couleurs difficilement perceptibles par l'œil humain (cyanine, rouge sombre) ou la distinction de combinaisons nombreuses couleurs (Multi-FISH) bénéficient indéniablement de l'avantage des caméras numériques de capture couplées au microscope. Il en est de même des logiciels adaptés au traitement de l'image.

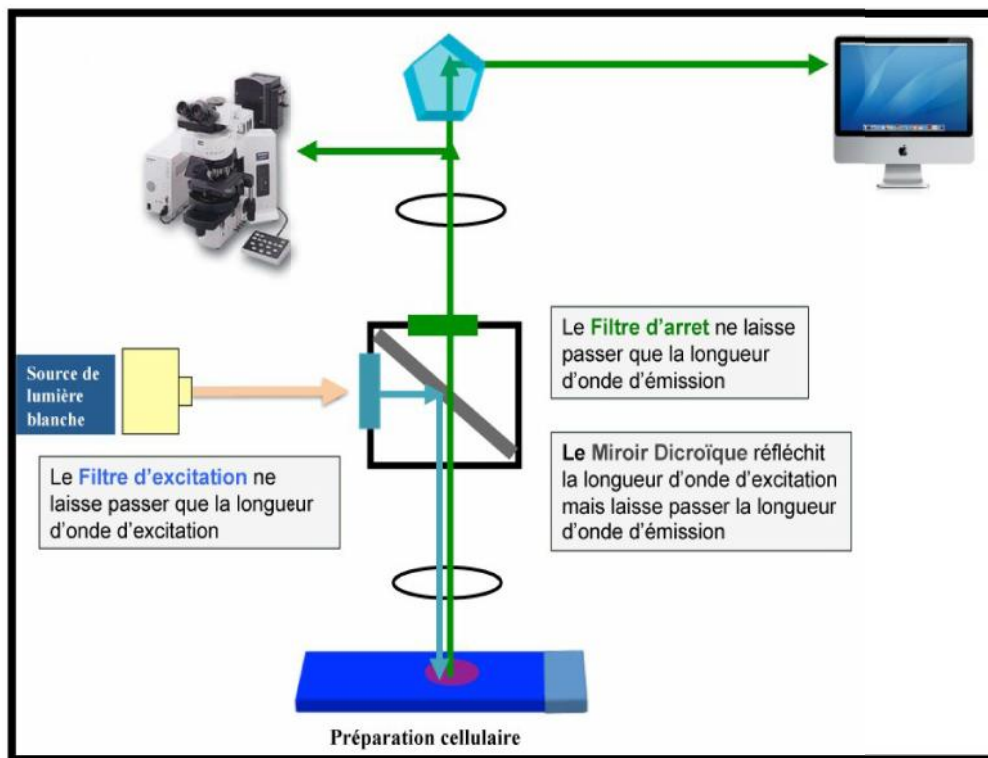


Figure 10 : La microscopie en épi-fluorescence [38]

1.5. Nomenclature : [28,39]

Le résultat est constitué du nom du chromosome analysé (en précisant éventuellement l'anomalie mise en évidence), de la région examinée, suivie entre parenthèses par le nom de la sonde ou du locus et son statut présent(+) ou absent(-). Si l'hybridation est réalisée sur métaphase : le résultat est précédé du sigle **ish** (pour In Situ hybridisation). Si un caryotype standard a également été réalisé, le résultat de l'hybridation est donné à la suite, séparé par un point. Si l'hybridation est réalisée sur noyau interphasique : le résultat est précédé du sigle **nuc ish** (Nuclear in Situ Hybridisation). Dans l'exemple ci-dessus, le résultat indique un caryotype masculin normal en cytogénétique conventionnelle (46,XY) et la présence de deux signaux obtenus avec la sonde D22S75 (D22S75x2) localisée en 22q11.2.

Ex : 46, XY.ish 22q11.2(D22S75x2)

Pour les peintures chromosomiques, le sigle utilisé est wcp (whole chromosome paint) pour les peintures de chromosome entier ou pcg (partial chromosome paint) pour les peintures de fragments chromosomiques. Quand plusieurs sondes sont utilisées, elles sont séparées par une virgule.

1.6. Principales applications de l'hybridation in situ: [38]

FISH est une technique qui a plusieurs application parmi celles-ci on cite :

- Dénombrement de chromosomes : mise en évidence d'anomalie de nombre des chromosomes, homogènes ou en mosaïque.

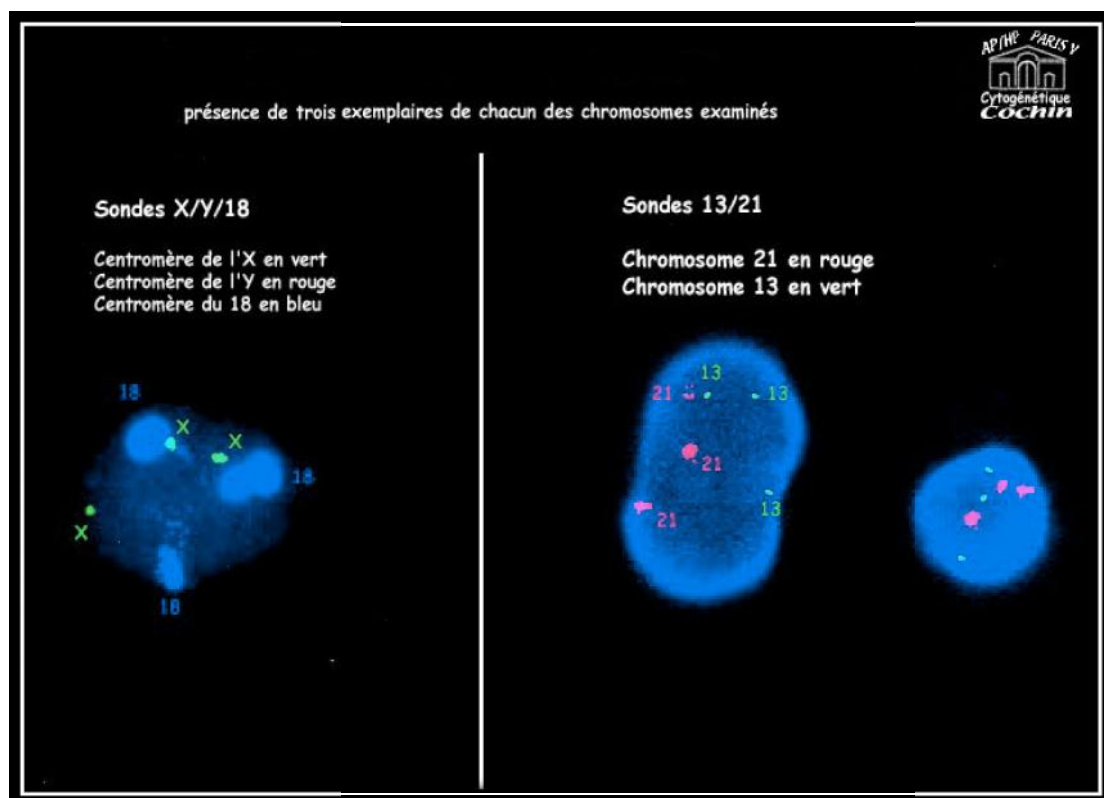


Figure 11 : triploïdie en hybridation in situ interphasique [28]

- Identification de l'origine d'un fragment chromosomique : chromosomes marqueurs, matériel supplémentaire d'origine inconnue sur un chromosome, remaniement complexes ou de toute petite taille.

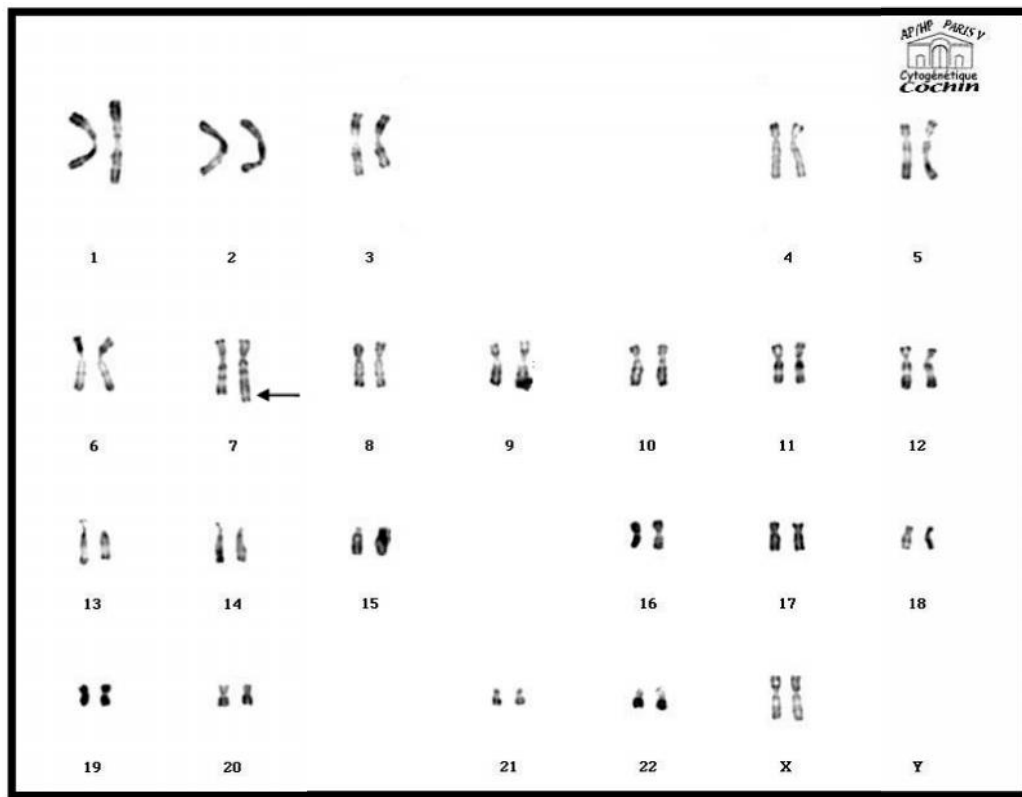


Figure 12 : Caryotype féminin en bandes R présentant du matériel d'origine inconnue à l'extrémité du chromosome 7. [28]

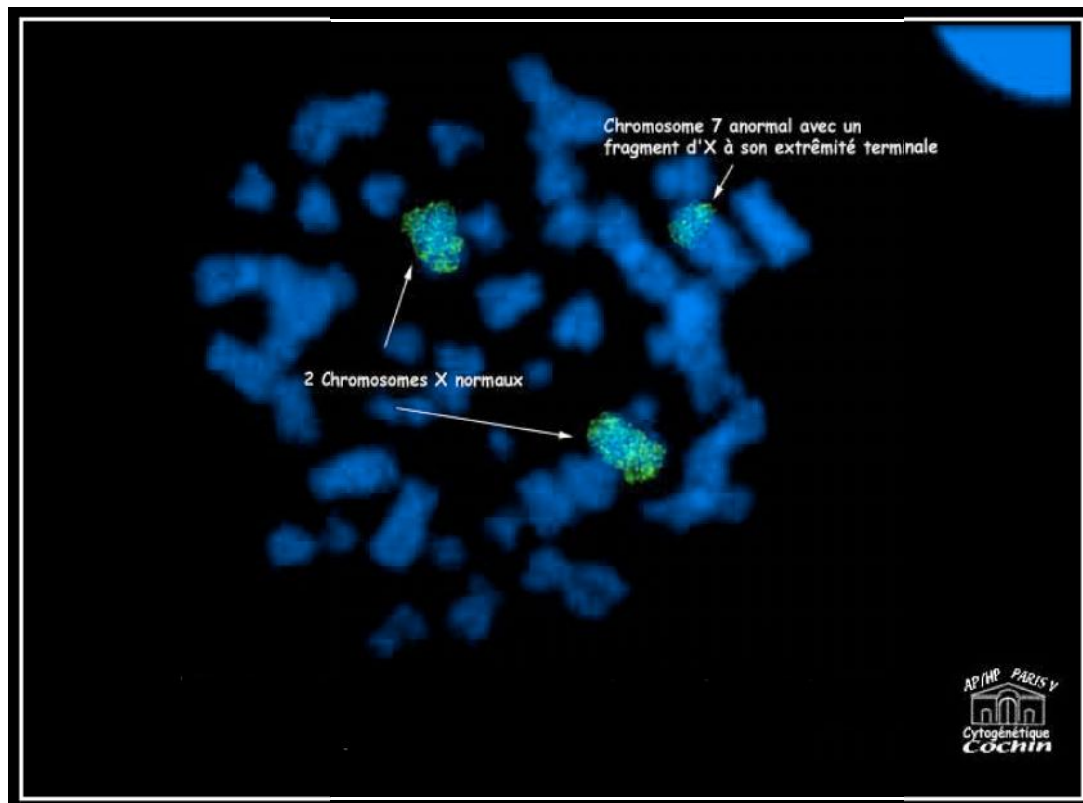


Figure 13 : Même patient que précédemment analysé par FISH avec une peinture en chromosomes X (la présence d'un signal à l'extrémité du chromosome 7 démontre que ce matériel supplémentaire provient d'un chromosome X). [28]

- Mise en évidence de microremaniements chromosomiques ou inter-chromosomiques, non vues sur le caryotype standard. C'est l'une des applications fréquentes de la FISH [40].

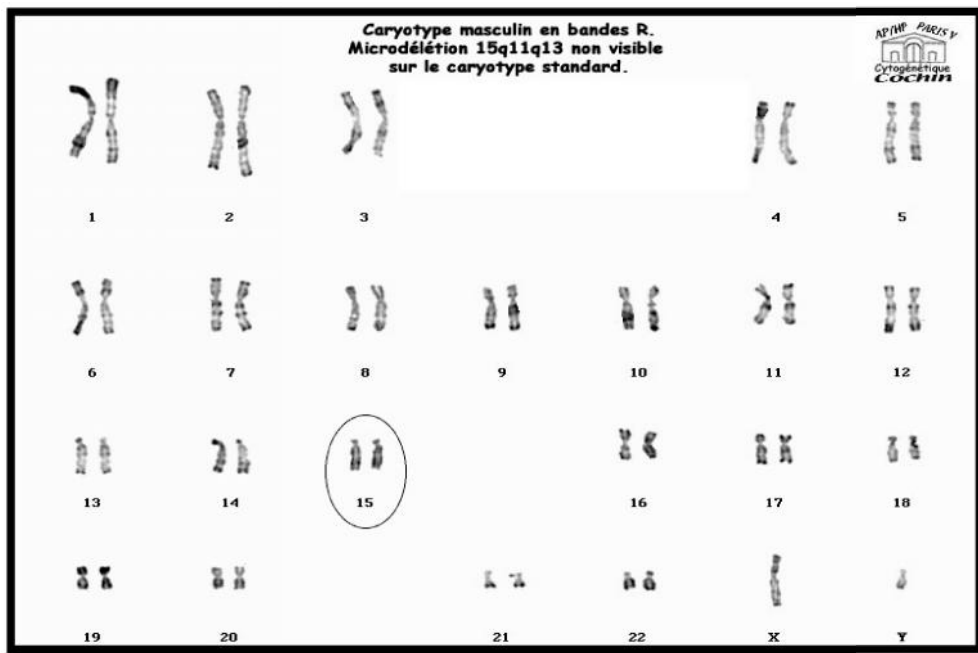


Figure 14 : Caryotype masculin en bandes R. Micro-délétion 15q11q13 non visible sur caryotype standard [28]

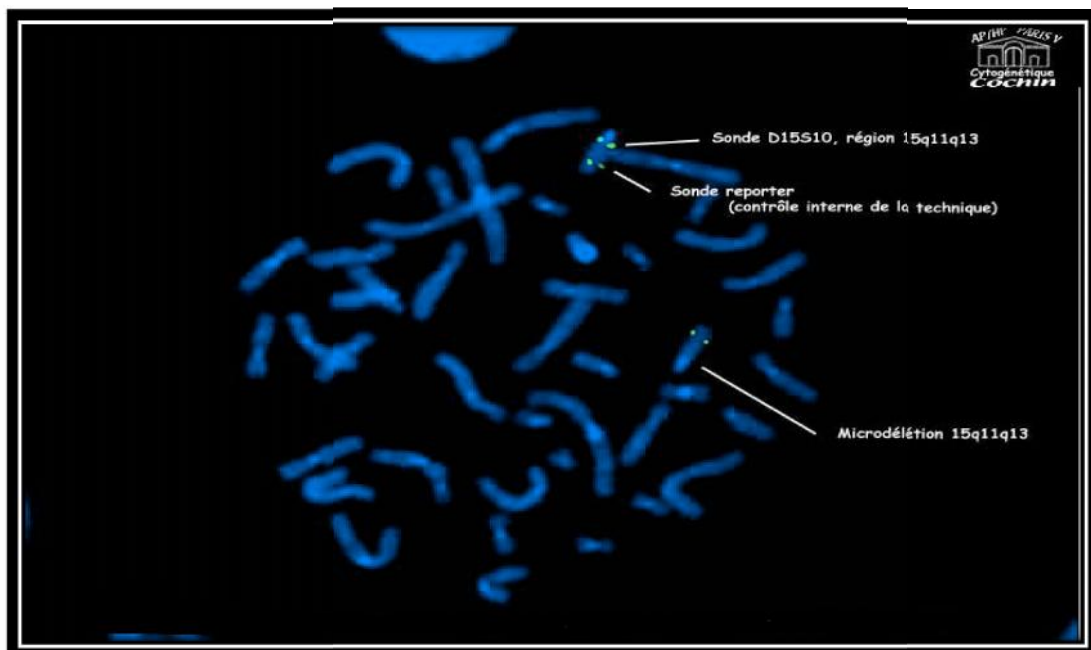


Figure 15: Même patient que précédemment analysé en hybridation in situ par la sonde D15S10 [28]

1.7. Avantages et limites de la FISH

Les principaux avantages de la FISH sont : sa spécificité, sa sensibilité, sa rapidité (24-48 heures pour l'étude d'un locus spécifique) et le fait qu'elle peut être exécutée sur des cellules de métaphase ou des noyaux d'interphase.

La principale limitation de cette technique est une conséquence directe de sa spécificité. En effet, contrairement au caryotype classique qui donne une vue d'ensemble de tous les chromosomes, l'hybridation in situ ne permet d'obtenir une information que sur la région chromosomique correspondant à la sonde utilisée (environ 100 kb) [30, 41].

1.8. Dérivées de la FISH : La FISH multi-couleurs [42, 43, 44]

L'apparition des procédés de multi-hybridation avec plusieurs sondes sur une même préparation cellulaire a permis d'analyser l'ensemble des chromosomes en une seule expérimentation et ainsi, d'améliorer l'identification de chromosomes additionnels. Ces techniques permettant l'analyse simultanée de tous les chromosomes. La FISH multi-couleurs encore appelée FISH 24-couleurs est développée en 1996, deux types de FISH multi-couleurs sont décrits: la multiplex-FISH (M-FISH) par Speicher et al, et le caryotype spectral (SKY) par Schrok et al.

Le principe de la FISH multi-couleurs repose sur la co-hybridation de 24 sondes de peintures (spécifiques des 22 autosomes et des deux gonosomes) marquées chacune avec une combinaison spécifique de 5 fluorochromes. Après hybridation sur des chromosomes métaphasiques, les différences entre les deux techniques apparaissent lors de l'analyse microscopique des lames hybridées. En effet deux approches sont possibles : l'analyse successive, par vidéomicroscopie,

des lumières de fluorescence émises (M-Fish) et l'analyse spectrale de la lumière émise (Sky).

Le principal avantage de ces techniques est qu'en une seule hybridation, il est possible d'identifier l'ensemble des réarrangements inter-chromosomiques présents au sein du clone tumoral. À l'inverse, cette technique ne permet pas de mettre en évidence des réarrangements intra-chromosomiques de type délétion, duplication ou inversion.

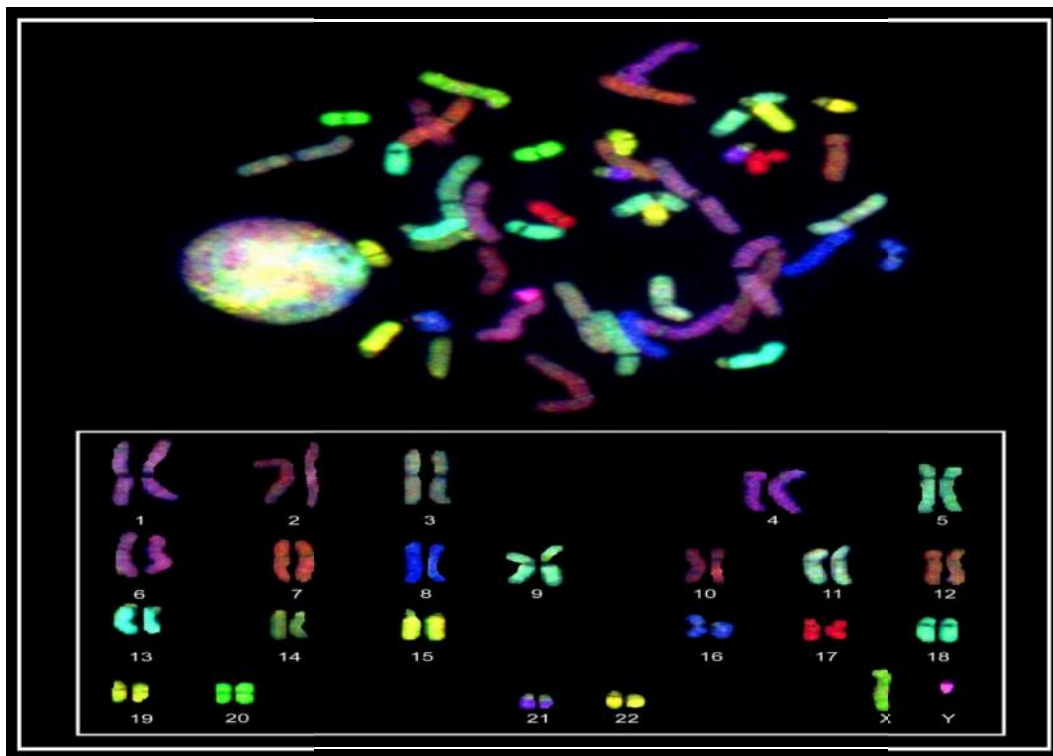


Figure 16 : caryotype spectral [45]

2. Hybridation génomique comparative (CGH) et dérivées :

2.1. CGH sur chromosomes :

En 1992, Kallioniemi et al. Décrivent une nouvelle technique de cytogénétique moléculaire appelée hybridation génomique comparative [41]. Son principe consiste à cohybrider en compétition une même quantité d'ADN d'un patient marqué par un fluorochrome (par exemple la fluorescéine émettant dans le vert) et d'un témoin contrôle, marqué par un autre fluorochrome (par exemple la rhodamine émettant dans le rouge), sur une cible. Dans la CGH classique, la cible est constituée par les chromosomes d'un sujet normal. Après lavage et coloration au DAPI, pour générer des bandes permettant l'identification des chromosomes, les préparations seront analysées sur un système d'imagerie microscopique numérisée, capable de mesurer tout le long des chromosomes le rapport entre les fluorescences verte et rouge. Un rapport de fluorescence compris entre 0,80 et 1,2 est considéré comme normal alors qu'un rapport sortant de ces limites indique soit un gain soit une perte selon le sens de la déviation[46,47].

L'hybridation en chaque point des chromosomes sera proportionnelle à la concentration de l'ADN test et de l'ADN témoin de cette région. Une région chromosomique sans anomalie quantitative dans l'ADN tumoral apparaîtra ainsi en ocre, mélange de rouge et de vert. Une perte sera révélée par une couleur rouge de la région perdue, puisque l'ADN test sera localement excédentaire. Inversement un chromosome surnuméraire sera vert. L'amplification d'une région chromosomique sera indiquée par une intense coloration verte. Les variations du rapport entre fluorescences vertes et rouges normalisées le long de chaque chromosome se traduisent par la fluctuation d'une courbe autour d'une valeur moyenne. Les déviations de cette courbe dessinent pour chaque

chromosome analysé un profil reflétant les gains et les pertes de segments chromosomiques (figure 17) [48].

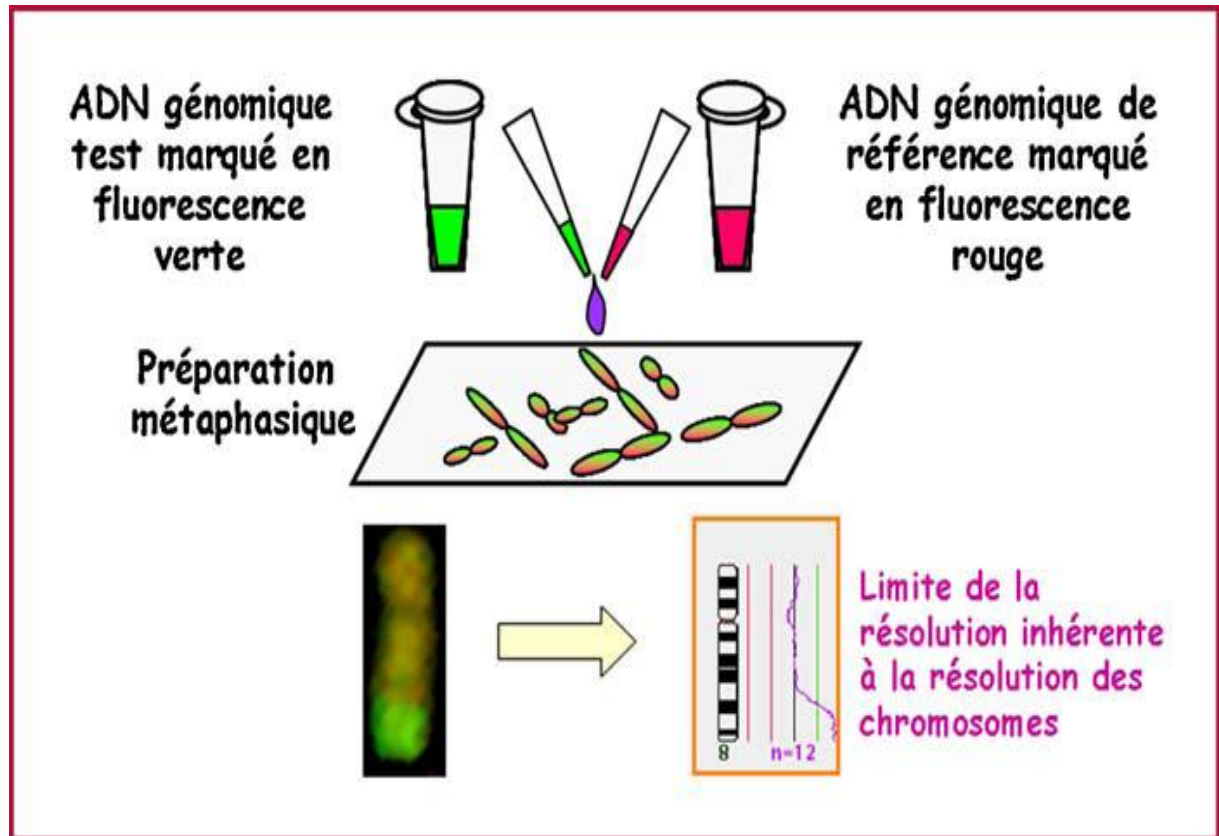


Figure 17 : principe de la CGH classique [49]

2.2. CGH array :

La CGH-array repose sur le même principe que la CGH classique, à la différence que l'hybridation n'a plus lieu sur des métaphases mais sur des séquences connues, fixé sur une lame de verre (appelé puce) [49]. Elle nécessite essentiellement trois composants : un support, en général des lames de verre, des sondes (fixées sur la lame) et des cibles (qui correspondent au matériel à étudier). Les sondes sont ici constituées de fragments d'ADN génomique

déposés sous forme de micro-réseaux sur un support. Ces fragments d'ADN génomique humain peuvent être de grande taille (50 à 200 Kb) portés par des vecteurs (BAC [Bacterial Artificial Chromosome], PAC [Phage Artificial Chromosome], fosmides ou cosmides) ou des oligonucléotides de petite taille (60 bases). Après hybridation, la fluorescence est capturée à l'aide d'un scanner laser. Contrairement à la CGH sur chromosomes, le rapport de fluorescence n'est plus calculé selon l'axe de chromosomes mais au niveau de chaque dépôt correspondant au fragment d'ADN fixé. Un logiciel permet de calculer les rapports de fluorescence entre les deux ADN, et représente les résultats sous forme graphique (Figure 18). Cette analyse est répétée pour l'ensemble des cibles présentes sur la lame. Pour chacune d'entre elles, un ratio égal à 1 correspond à un nombre de copie normal, c'est-à-dire deux, entre 1,3 et 1,4 à un gain d'une copie et entre 0,6 et 0,7 à la perte d'une copie. Pour des problèmes de représentation graphique, la plupart des auteurs utilisent le $\log_2$ de ce ratio. Sur ce graphique, la position génomique de chaque cible est donnée en Mb par rapport au télomère du chromosome étudié [46,50].

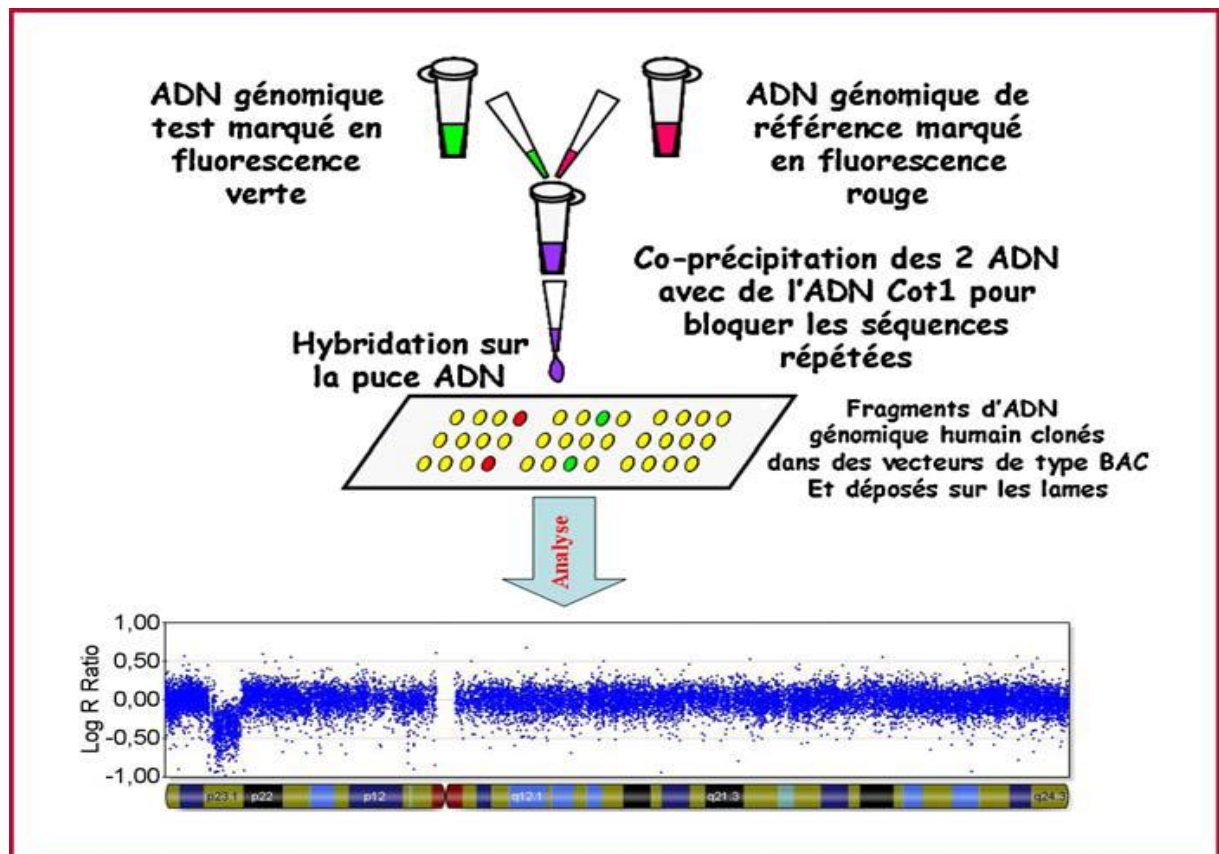


Figure 18 : principe de la CGH-array [49]

2.3. Les puces à SNPs

D'autres types de puces dites « à SNP » ont été développés. Ce sont des puces qui comprennent des oligonucléotides contenant des Single Nucléotide Polymorphism ou SNP. Ces SNP sont des variations portant sur une seule paire de base, et distribuées uniformément dans le génome humain. On estime le nombre de SNPs à plus de 10 millions avec une répartition d'un SNP tous les 100 à 1000 paires de bases (1kb). Ces puces utilisées à l'origine à des fins d'haplo-typage et d'analyse de liaison peuvent renseigner aussi sur les variations de nombre de copies d'ADN aux loci étudiés. Cette technique est aujourd'hui totalement automatisable et permet de ce fait l'étude des déséquilibres génomiques à haut débit [51].

2.4. Avantages et limites :

La CGH offre l'avantage d'être un examen rapide, sensible et automatisable permettant une meilleure fiabilité et reproductibilité des résultats ainsi qu'une étude d'un plus grand nombre de patients. Cette technique a cependant des limites car elle ne détecte pas les remaniements chromosomiques équilibrés c'est-à-dire sans perte ni gain de matériel chromosomique (tels que les translocations ou les inversions) ni les anomalies chromosomiques en faible mosaïque (inférieures à 10–20 %). En plus c'est une technique coûteuse qui nécessite un appareil d'analyse et un environnement technique onéreux, ainsi qu'un bon niveau d'expertise [52,53].

IV. Les anomalies chromosomiques :

1. Introduction :

L'étude des chromosomes humains a permis de mettre en évidence de très nombreux remaniements chromosomiques. Ces remaniements peuvent être constitutionnels ou acquis. Ils sont très nombreux, et peuvent toucher tous les chromosomes et être équilibrés ou déséquilibrés. Il est classique de distinguer les anomalies de nombre qui résultent d'une mauvaise répartition des chromosomes lors d'une division cellulaire et les anomalies de structure qui impliquent une ou plusieurs cassures chromosomiques suivies d'un recollement anormal [54].

2. Les anomalies de nombre [24, 29, 54]

Par définition, les anomalies de nombre affectent le nombre des chromosomes et non leur structure qui demeure normale. Les plus fréquentes sont les aneuploïdies c'est à dire la perte ou le gain d'un ou quelques chromosomes. Les polyploïdies désignent un nombre anormal de lots haploïdes entiers.

2.1. Aneuploïdies

2.1.1. Trisomies

Une trisomie correspond à la présence d'un chromosome supplémentaire. Le nombre de chromosomes est donc de 47 et non plus de 46.

2.1.2. Monosomies

Une monosomie correspond à la perte d'un chromosome. Le nombre de chromosome est donc de 45.

2.2. Polyploïdies

Elles correspondent à un nombre anormal de lots haploïdes entiers.

On distingue :

- Triploïdie ($3n$) : 69 chromosomes
- Tétraploïdie ($4n$) : 92 chromosomes

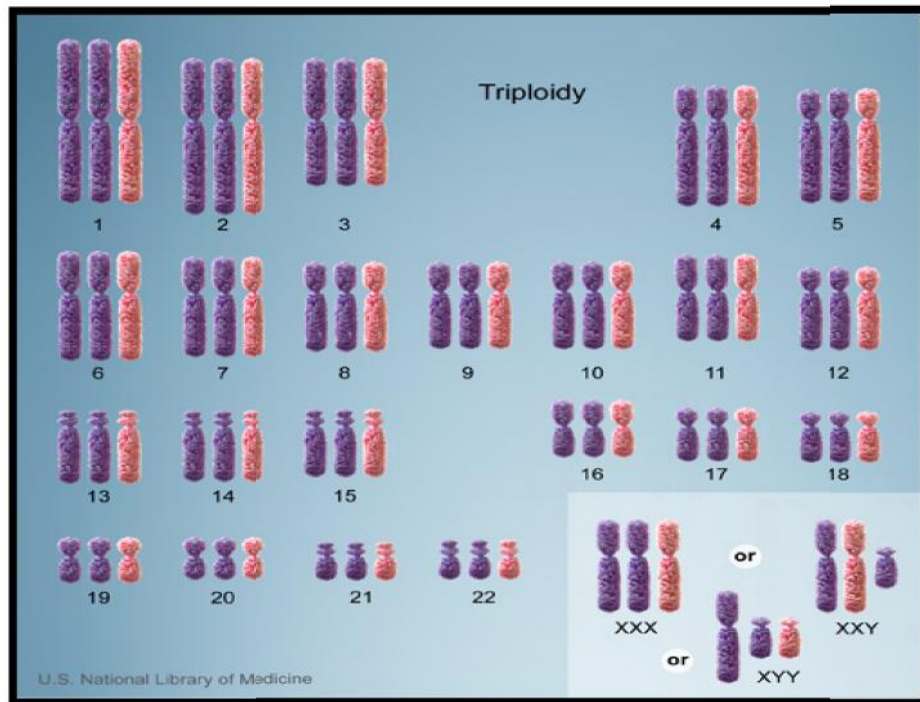


Schéma 2 : Caryotype triploïde [45]

3. Anomalies de structure

3.1. Anomalies de structure touchant 1 chromosome

3.1.1. Délétions (del)

Les délétions résultent d'une cassure chromosomique avec perte du segment distal (délétion terminale), ou de deux cassures sur un même bras chromosomique avec perte du segment intercalaire (délétion intercalaire) (schéma 3) [25,55].

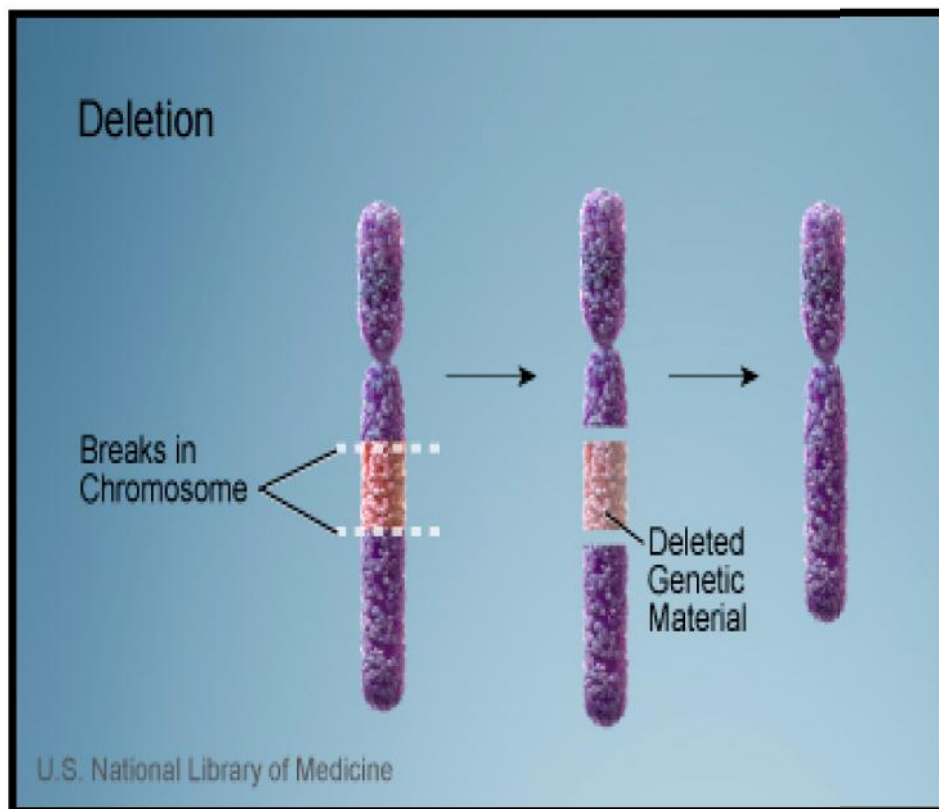


Schéma 3: Mécanisme d'une délétion [45]

3.1.2. Chromosomes en anneau (r)

Les chromosomes en anneaux sont des chromosomes refermés sur eux-mêmes par leurs bras court et long. Ils résultent d'une double cassure aux extrémités d'un chromosome suivie par un recollement avec perte des segments distaux[55,56].

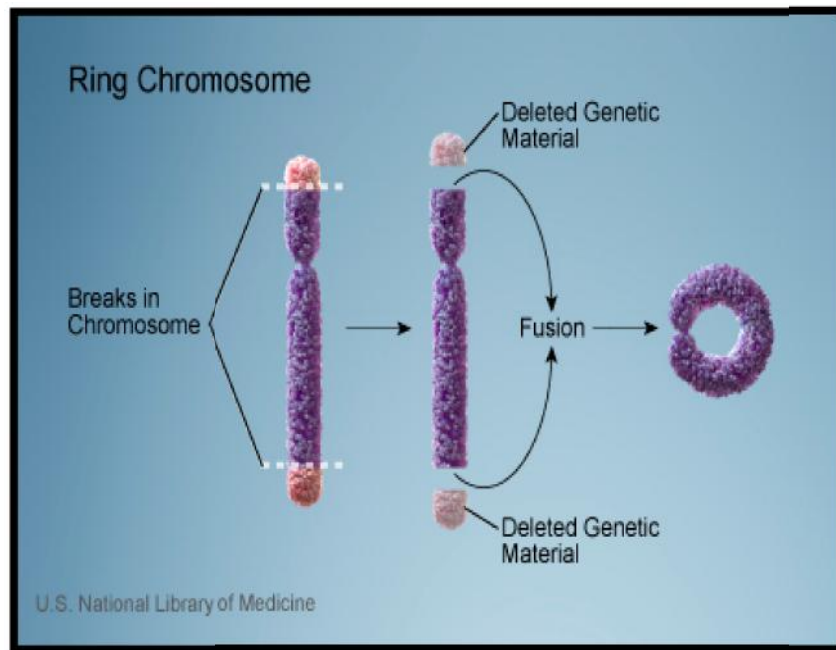


Schéma 4 : Chromosome en anneau [45]

3.1.3. Inversions (inv)

Les inversions sont dues à deux cassures sur le même chromosome, suivies de recollement après inversion du segment intermédiaire.

Elles sont dites péri-centriques si le fragment inversé inclut le centromère et para-centriques si les deux cassures se sont produites sur le même bras chromosomique (schéma 5) [55].

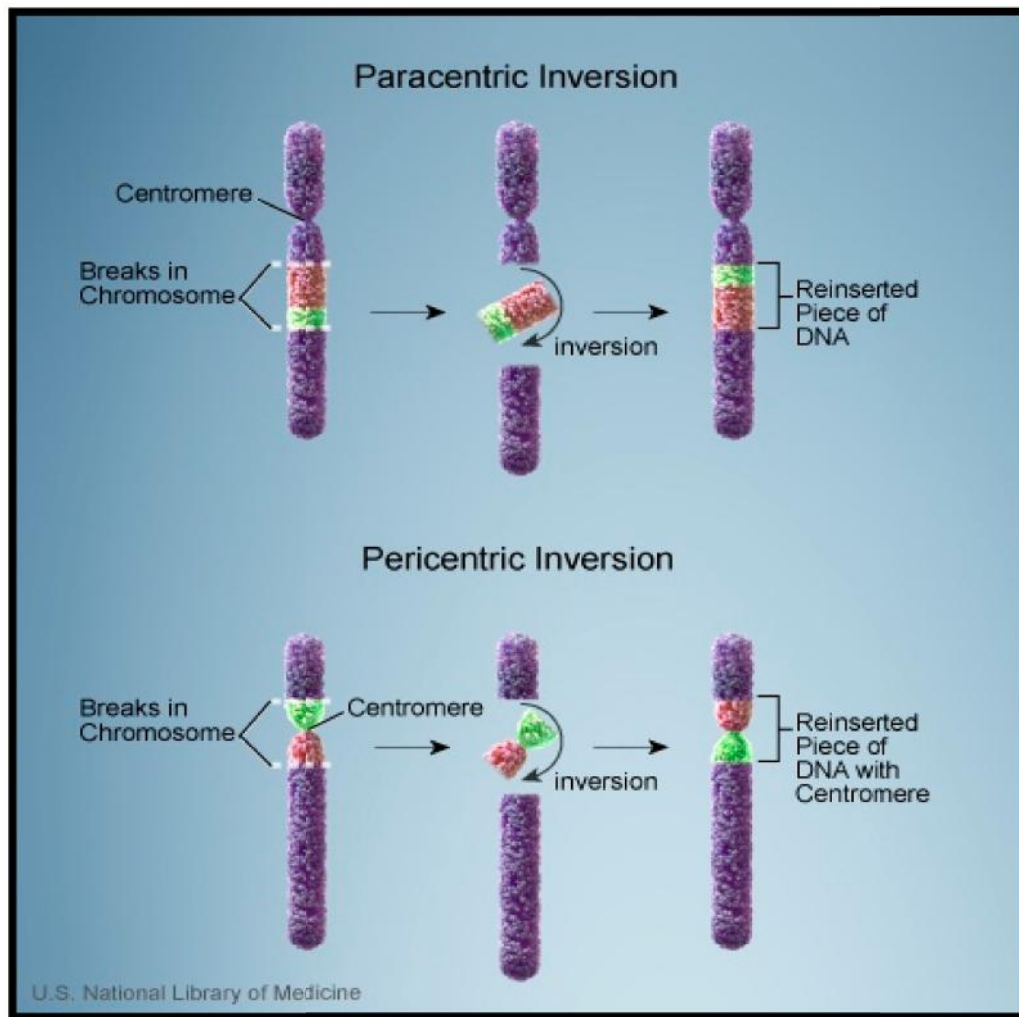


Schéma 5 : Inversion [45]

3.1.4. Iso-chromosomes (i)

Un iso-chromosome est un chromosome anormal formé de deux bras longs ou de deux bras courts d'un même chromosome avec perte de l'autre bras (schéma 6). Un iso-chromosome peut être mono-centrique ou di-centrique selon le mécanisme de formation [57].

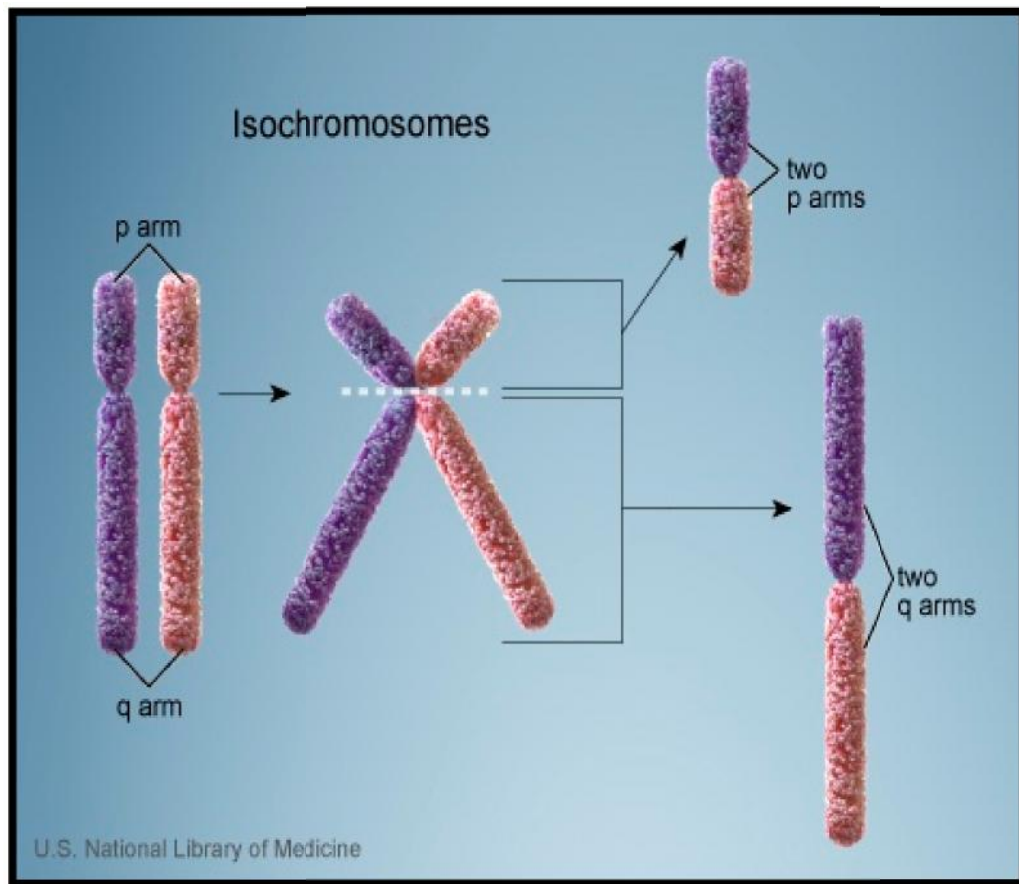


Schéma 6 : Mécanisme de formation d'un iso-chromosome [45]

3.1.5. Duplications intra-chromosomiques (dup)

Les duplications intra-chromosomiques sont des remaniements rares aboutissant à des trisomies pures. Les duplications chromosomiques peuvent se produire, soit en tandem, soit en miroir (schéma 7) [57].

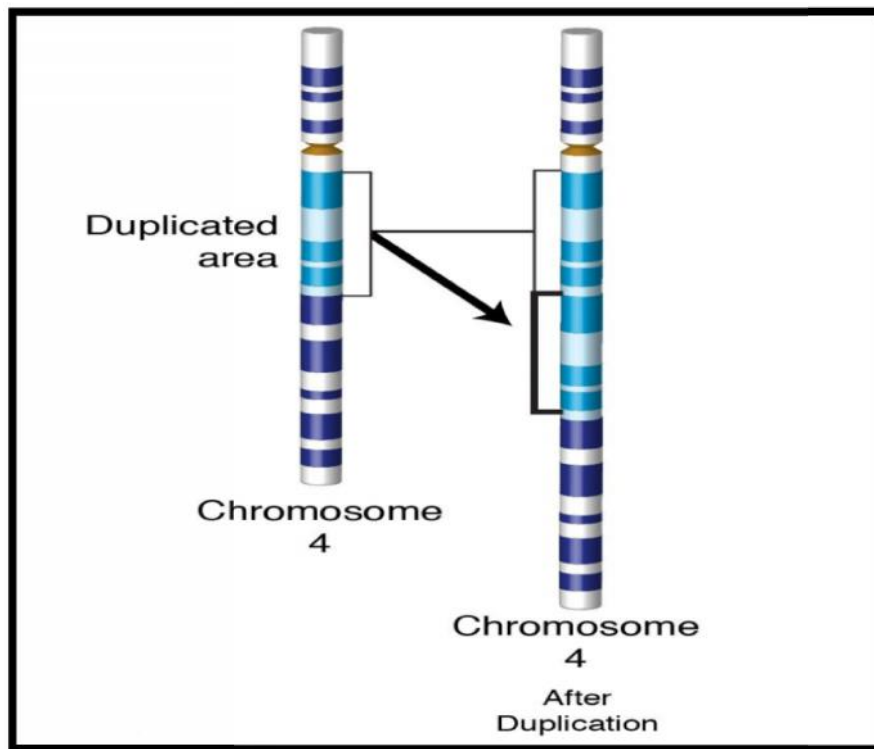


Schéma 7 : Duplication intra-chromosomique [45]

3.1.6. Petits chromosomes surnuméraires (mar)

Les marqueurs chromosomiques surnuméraires sont définis comme des chromosomes additionnels de structure anormale dont la composition ne peut être déterminée par les techniques de cytogénétique conventionnelle. Ce sont des anomalies chromosomiques dont la taille est inférieure ou égale à un chromosome 20. Il existe donc un gain de matériel chromosomique générant une trisomie partielle pour une région du génome [42].

3.2. Anomalies de structure touchant 2 chromosomes

3.2.1. Translocations robertsoniennes (rob)

Elles résultent de la fusion de deux chromosomes acrocentriques, par fusion centrique ou, le plus souvent, par cassures dans les régions juxtacentromériques[48].

3.2.2. Translocations réciproques (t)

Ces translocations sont dues à des échanges de segments entre deux chromosomes non homologues, à la suite d'une cassure sur un bras de chaque chromosome, les fragments chromosomiques distaux aux points de cassure échangent leur position (schéma 8) [25].

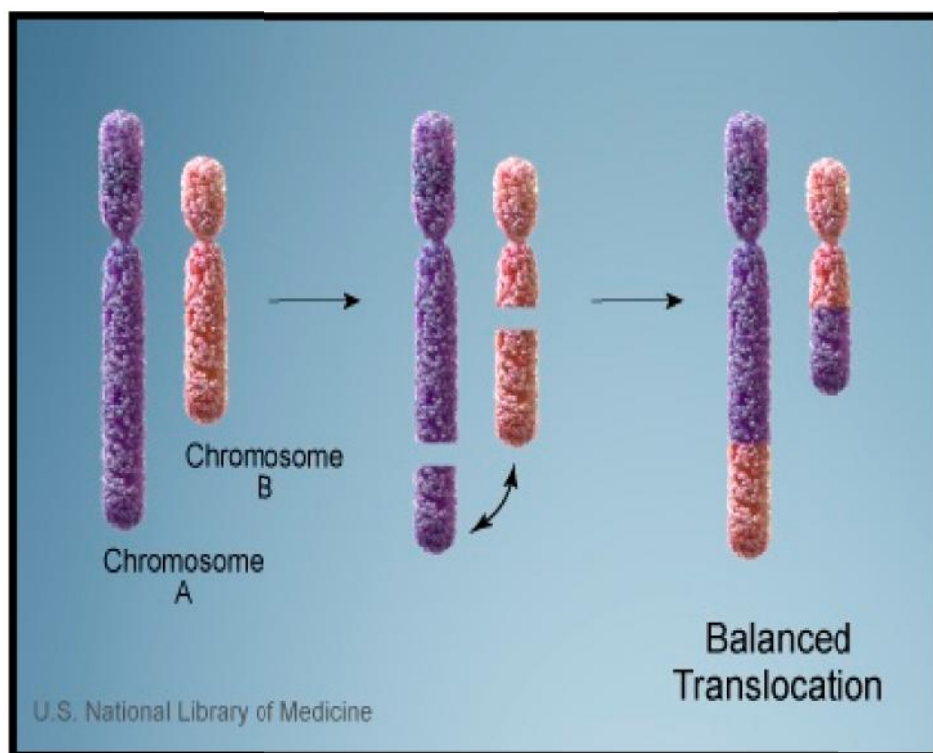


Schéma 8 : Translocation réciproque [45]

3.2.3. Les insertions (ins)

Les insertions se traduisent par le transfert d'un segment intercalaire à l'intérieur d'un autre bras chromosomique (Schéma 9). Secondaire à trois cassures, deux sur le chromosome donneur et une sur le chromosome receveur [55].

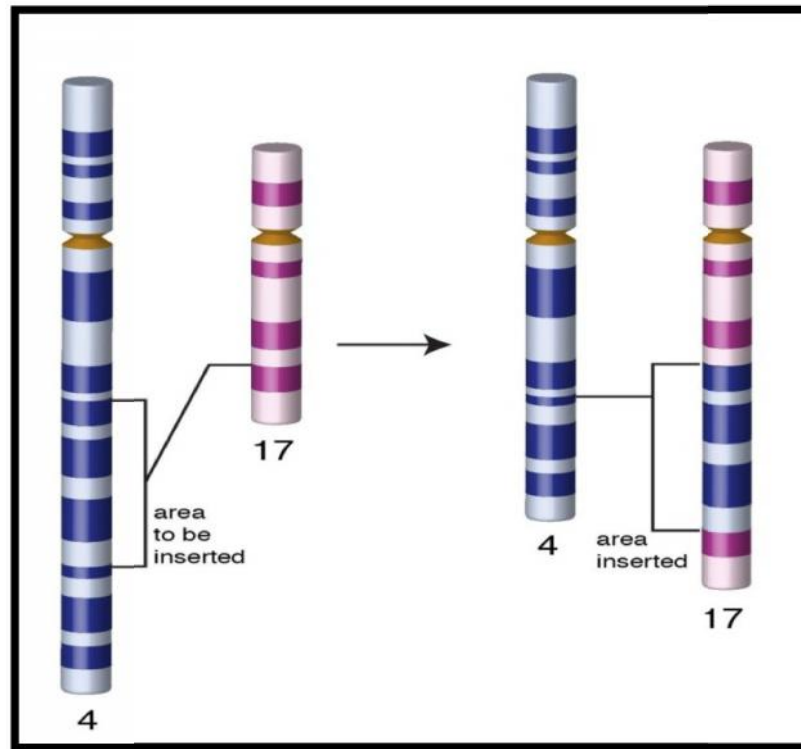


Schéma 9 : Insertion [45]

3.2.4. Chromosomes di-centriques

Ces chromosomes résultent de la fusion, souvent dans les régions télomériques, de deux chromosomes homologues ou non homologues. Lorsque les deux centromères sont suffisamment éloignés, l'un d'entre eux perd sa fonction, formant un chromosome di-centrique (Schéma 10) [57].

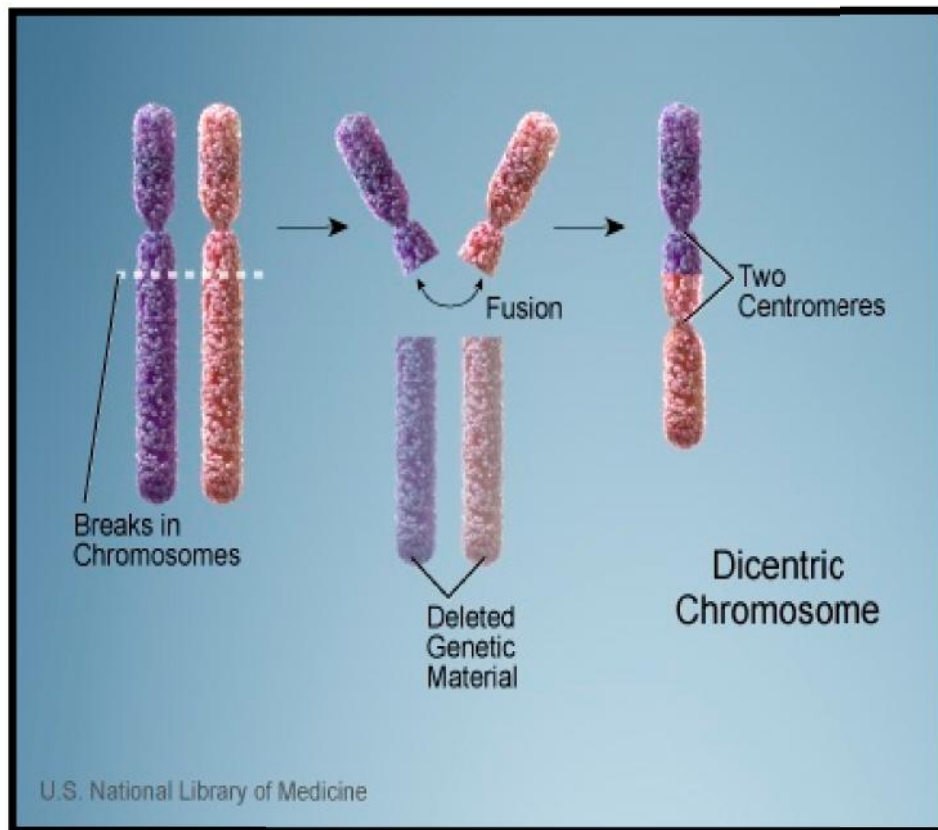


Schéma 10 : Mécanisme de formation de chromosome di-centrique [45]

3.3. Remaniements complexes

Les remaniements chromosomiques complexes sont des anomalies de structure impliquant au moins trois chromosomes et trois points de cassure ou plus [25].

3.4. Les microremaniements chromosomiques

Il s'agit de délétion ou duplication dont la taille est inférieure à 5 Mb, niveau de résolution du caryotype. Ils ne peuvent être vus en cytogénétique que grâce aux techniques de cytogénétique moléculaire de haute résolution [25, 55].

Troisième partie:

Apport de la cytogénétique au SMD

I. Apport de la cytogénétique au diagnostic des SMD

1. Diagnostique et Circonstances de découverte des SMD:

Un SMD est souvent découvert fortuitement à la suite d'un bilan de contrôle ou destiné à explorer une autre affection. Dans les autres cas, le diagnostic est suspecté devant des signes cliniques en rapport avec les cytopénies (anémie, neutropénie et thrombopénie). Une anémie arégénérative est retrouvée dans 90% des cas. Les autres cytopénies sont moins fréquentes mais elles revêtent un caractère de gravité, elles peuvent être isolées ou associées. La neutropénie pourra se révéler par un syndrome infectieux et la thrombopénie par un syndrome hémorragique. Le degré de cytopénies conditionnera leur expression clinique ainsi que leur valeur pronostique. Sur le plan biologique les anomalies qui sont évocatrices de SMD sont le caractère macrocytaire et arégénératif de l'anémie mais celle-ci peut être normocytaire, la présence d'une neutropénie et de polynucléaires dégranulés, la présence d'une thrombopénie voire dans certains cas d'une thrombocytose (syndrome 5q- ou forme frontière avec un syndrome myéloprolifératif). Sur le plan biochimique, la présence d'une élévation de la ferritine et de la bilirubine indirecte sont le témoin de la dysérythropoïèse [1].

Les manifestations extra-hématologiques sont fréquentes et appartiennent principalement au registre des manifestations auto-immunes en particulier rhumatologiques présentes chez environ 10 % des patients à type de rhumatisme inflammatoire non classé [59].

Les autres manifestations sont cutanées et touchent environ 10 à 15 % des patients, ce sont des dermatoses neutrophiliques et des vascularites [60,61].

Des cytopénies auto-immunes : thrombopénie, anémie hémolytique auto-immune et érythroblastopénie peuvent être retrouvés [62].

Le diagnostic de certitude est posé sur l'examen incontournable de la moelle osseuse. Le myélogramme montre, en général, une cellularité normale ou augmentée, des anomalies morphologiques atteignant une ou plusieurs lignées, avec une blastose inférieure à 20%. Une coloration de Perls permet de rechercher les sidéroblastes en couronne qui ne sont présents que dans certaines formes de SMD. La biopsie médullaire est utile en cas de doute diagnostique et donne des informations pronostiques par la présence éventuelle d'une fibrose médullaire. L'analyse du caryotype médullaire est primordiale. Elle permet de conforter le diagnostic dans les cas difficiles grâce à la mise en évidence d'anomalies cytogénétiques typiques (délétion 5 ou 20, monosomie 7, délétion 17, trisomie 8) et est indispensable à l'établissement du score pronostique[13,63].

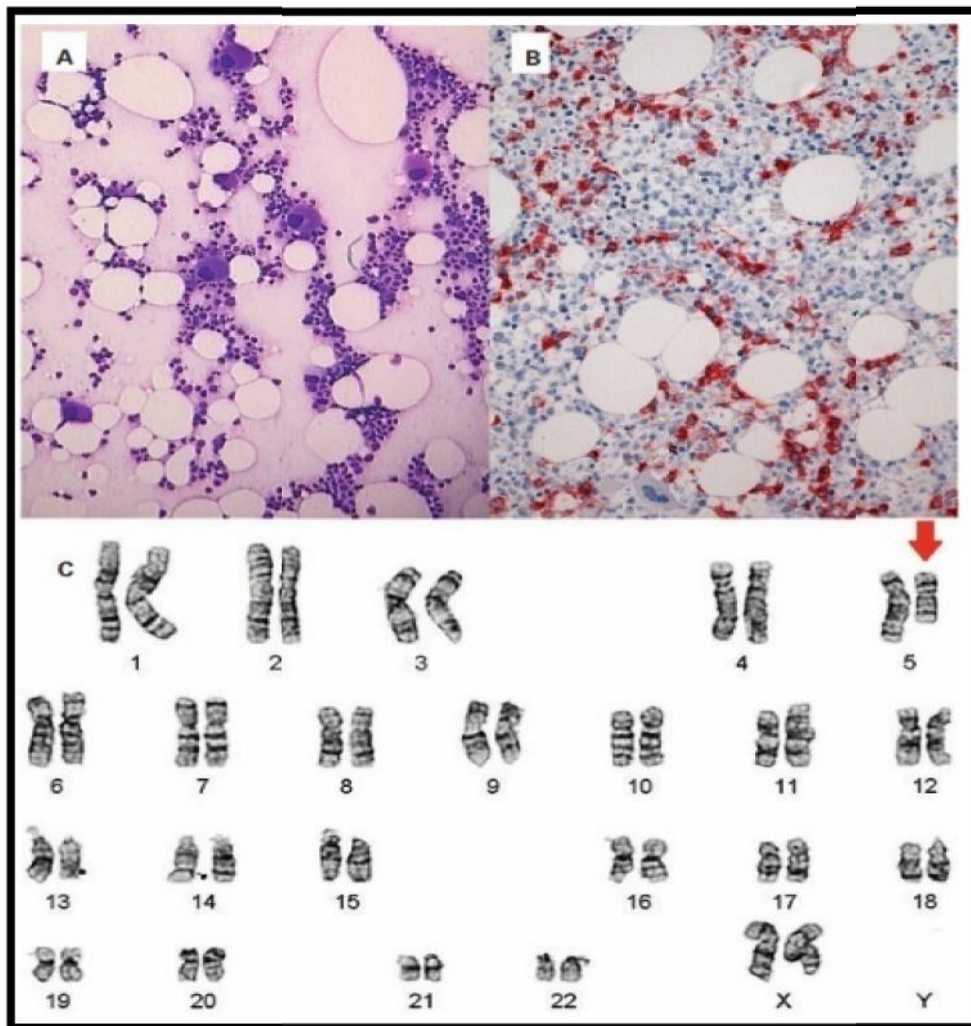


Figure 19: Illustration d'observations morphologiques (A), immunohistochimiques (B) et cytogénétiques (C) dans les SMD [64]

2. Les anomalies cytogénétiques [65, 66, 67]

L'étude du caryotype médullaire, réalisée sur 20 métaphases, permet d'identifier des anomalies chromosomiques chez environ 50 % des patients, et jusqu'à 80 % dans le cas des SMD secondaires. A la différence des leucémies aiguës myéloïdes (LAM) dans lesquelles les translocations réciproques prédominent, les SMD sont caractérisés, le plus souvent, par des déséquilibres génomiques à type de délétion. Aucune anomalie cytogénétique n'est spécifique

des SMD mais certaines d'entre elles sont impliquées plus fréquemment telles qu'une délétion partielle ou totale des chromosomes 5, 7 et 20 ou une trisomie 8. L'hybridation in situ FISH, établi en cas d'échec de la cytogénétique conventionnelle permet de trouver des anomalies pour 25 à 38 % des patients dans cette situation. La CGH (et ses variantes CGH-array et SNP-array) permettent de mettre en évidence des variations du nombre de copies (gain ou perte), mais également les pertes d'hétérozygotie avec conservation du nombre de copies (Copy Neutral-Loss Of Heterozygosity) entre les deux allèles du patient. Celles-ci peuvent être germinales ou constituer des disomies uniparentales (UPD) acquises au cours d'une recombinaison mitotique entre les deux allèles. Grâce à ces techniques à haute résolution, des micro-délétions ou de courtes duplications de séquences peuvent être retrouvées chez près de 80 % des patients atteints de SMD, et des UPD chez 20 à 47 % des patients. Les principales anomalies cytogénétiques rencontrées dans les SMD sont présentées dans le tableau (V).

Tableau V : Anomalies cytogénétiques typiques des SMD. [68]

Anomalies déséquilibrées	Anomalies équilibrées
-7 ou del(7q) -5 ou del(5q) i(17)q10 ou t(17p) -13 ou del(13q) del(11q) del(12p) ou t(12p) del(9q) idic(X)(q13)	t(11;16)(q23;p13.3) t(3;21)(q26.2;q22.1) t(1;3)(p36.3;q21.1) t(2;11)(p21;q23) inv(3)(q21q26.2) t(6;9)(p23;q34)
Caryotype complexe (au moins 3 anomalies) impliquant une ou plusieurs des anomalies ci-dessus.	

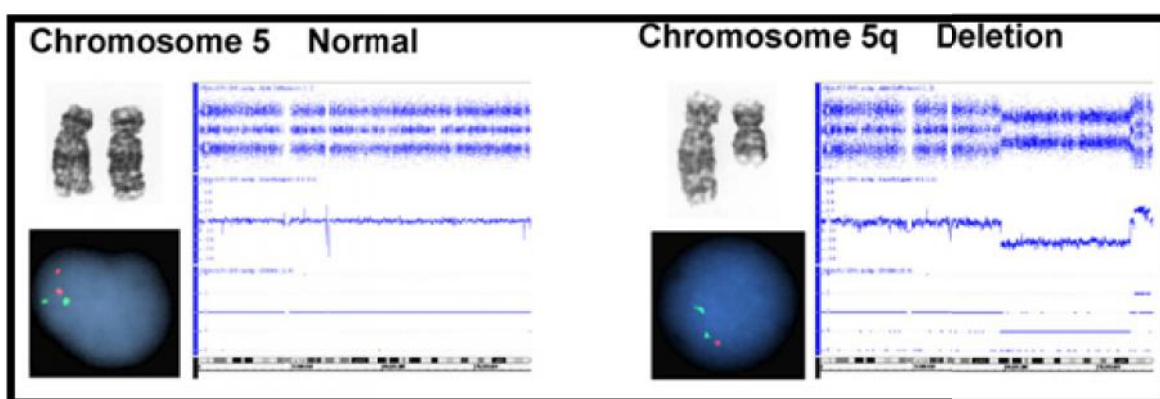


Figure 20: comparaison de résultats de caryotype, FISH et SNP de deux sujets, avec chromosome 5 normale (à gauche) et avec délétion 5q (à droite) [69]

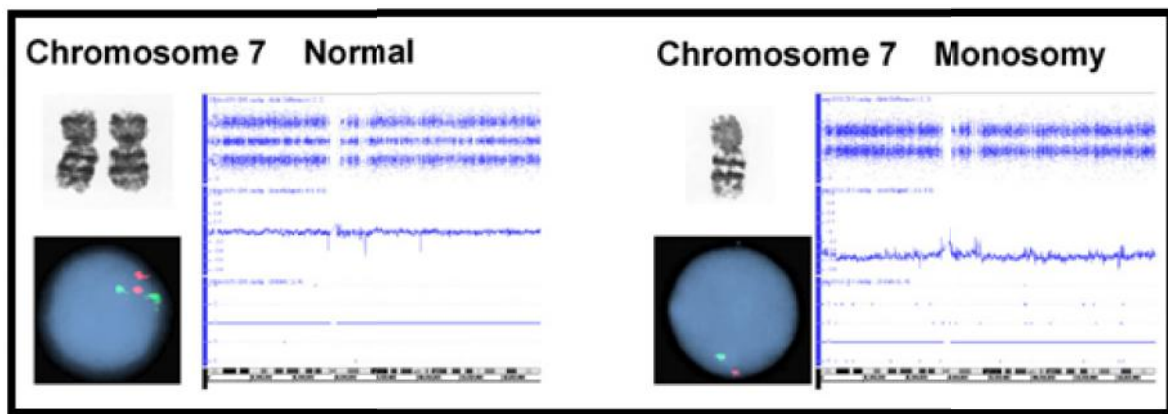


Figure 21: comparaison de résultats de caryotype, FISH et SNP de deux sujets, avec chromosome 7 normale (à gauche) et avec monosomie7 (à droite) [69]

3. Apports de la cytogénétique : [70,71]

Lorsque le diagnostic d'un SMD est ambigu ou que le myélogramme n'est pas contributif, la mise en évidence d'anomalies cytogénétiques sur le caryotype permet de suspecter une prolifération clonale. En outre, l'apparition d'anomalies chromosomiques peut aussi précéder l'apparition de la dysplasie médullaire suggérant la présence d'une forme « fruste » de SMD. Cela souligne l'importance de réaliser un caryotype à visée diagnostique devant la présence de cytopénies inexplicables et/ou en l'absence d'anomalies morphologiques sur le myélogramme.

La nécessité d'un diagnostic précis et complet s'impose afin de mieux classer les différents cas, d'en évaluer le pronostic et de prendre une décision thérapeutique raisonnée. L'avènement de traitements ciblés impose la réalisation d'analyses biologiques de plus en plus complexes. L'analyse cytogénétique est aujourd'hui indispensable à la prise en charge de ces patients et la cytogénétique moléculaire est amenée à jouer un rôle croissant dans les années qui viennent. D'ailleurs des mutations ponctuelles fréquentes (polymorphisme SNP), sont rapportées dans la moitié des cas d'une série française de patients ayant un caryotype normal en

cytogénétique conventionnelle, la détection de ces mutations pourrait être un outil supplémentaire pour le diagnostic des syndromes myélodysplasiques (SMD), surtout dans les situations de forte suspicion à caryotype normal et lorsque les anomalies morphologiques sont discrètes.

II. Apport de la cytogénétique à la classification des SMD :

1. Classification des SMD :

La multiplicité des syndromes observés a conduit à la création en 1982 d'une classification, dite Classification FAB (French-American-British), qui définit 5 catégories diagnostiques: l'anémie réfractaire (AR), l'anémie sidéroblastique idiopathique acquise (ASIA), l'anémie réfractaire avec excès de blastes (AREB), l'anémie réfractaire avec excès de blastes en transformation (AREB-t), et la leucémie myélomonocytaire chronique (LMMC) Dans cette classification, la présence d'anomalies morphologiques (dysmyélopoïèse) permet de poser le diagnostic de SMD, et les différentes catégories diagnostiques se distinguent par le décompte des différentes populations sanguines et médullaires [10].

En 2001, l'OMS a proposé une nouvelle classification des SMD (WHO classification), introduisant de nouveaux paramètres, principalement l'analyse cytogénétique. Elle définit également 5 catégories, différentes de celles du F.A.B. : l'anémie réfractaire (AR) sans ou avec sidérobastes en couronne (ARS), la cytopénie réfractaire ou syndrome myélodysplasique avec myélodysplasies touchant plusieurs lignées (CRMD), le syndrome 5q-, l'anémie réfractaire avec excès de blastes (AREB), et les SMD inclassables [9].

Cette classification, développée pour répondre aux principales critiques de la classification FAB, a permis une meilleure définition pronostique de chaque sous type surtout grâce au rôle diagnostique de la cytogénétique, définissant un nouveau sous-type, le syndrome myélodysplasique 5q- [3].

La classification en vigueur actuellement est la classification OMS 2008, qui sépare schématiquement les SMD selon la présence d'une atteinte d'une seule lignée (anémie réfractaire [AR], thrombopénie réfractaire [TR] ou neutropénie réfractaire [NR]) ou de plusieurs lignées (cytopénie réfractaire avec dysplasie

multi-lignée [CRDM]), la présence de sidéroblastes en couronne à la coloration de Perls (anémie sidéroblastique [AS] ou CRDM-S), la présence d'un excès de blastes (anémie réfractaire avec excès de blastes [AREB] 1 ou 2) ou le syndrome 5q- (défini par la cytogénétique) [68].

La classification des SMD évolue vers une plus grande prise en compte des anomalies cytogénétiques, mais les critères morphologiques restent encore les principaux critères dans cette classification [72].

2. Place de la cytogénétique dans la nouvelle classification :

La mise à jour de la classification OMS publiée en 2008 introduit des critères de cytogénétique en plus des critères morphologiques habituels. Les cytopénies chroniques sans signe de dysplasie significatif (< 10 % des cellules d'une lignée) et sans excès de blastes et présentant une des anomalies cytogénétiques « évocatrice » sont incluses dans la rubrique des « SMD inclassables ». Il est à noter cependant, que la trisomie 8, la perte de l'Y et la délétion (20q), bien que fréquentes dans ces pathologies, sont considérées comme non spécifiques et ne suffisent pas à elles seules à définir la myélodysplasie. L'évolution de ces formes « nouvellement » identifiées reste cependant à évaluer. Les études génétiques sont donc réalisées en complément de l'aspect cytologique pour confirmer l'aspect clonal des SMD mais également pour leur impact pronostique. L'étude cytogénétique la plus précise possible est maintenant demandée aux laboratoires qui doivent parfois s'appuyer sur les techniques complémentaires de cytogénétique moléculaire [73].

3. Intérêt de la cytogénétique dans les SMD avec délétion 5q [68, 73,74]

Les délétions interstitielles du bras long du chromosome 5 [del(5q)] décrit depuis 1974 par Van den Berghe, sont des anomalies cytogénétiques fréquemment rencontrées au cours des syndromes myélodysplasiques (SMD) (12 %). Le «syndrome 5q- » est une entité qui associe un type d'anémie réfractaire rencontré chez des patients âgés, le plus souvent de sexe féminin, avec une délétion partielle du bras long du chromosome 5 (del(5q)) présente de façon isolée. L'anomalie cytogénétique se caractérise par une délétion de taille variable, mais incluant au minimum une disparition de la bande 5q31 considérée comme le segment critique nécessaire et suffisant pour l'apparition du syndrome. C'est une entité clinico-biologique bien reconnue et déjà précisée dans les classifications OMS de 2001 et 2008. La FISH à l'aide d'une sonde localisée spécifiquement dans la région minimale délétée avec contrôle interne est particulièrement indiquée dans ce contexte, d'une part pour mettre en évidence le clone au diagnostic, et d'autre part, pour le quantifier lors du suivi en l'absence de méthode de biologie moléculaire.

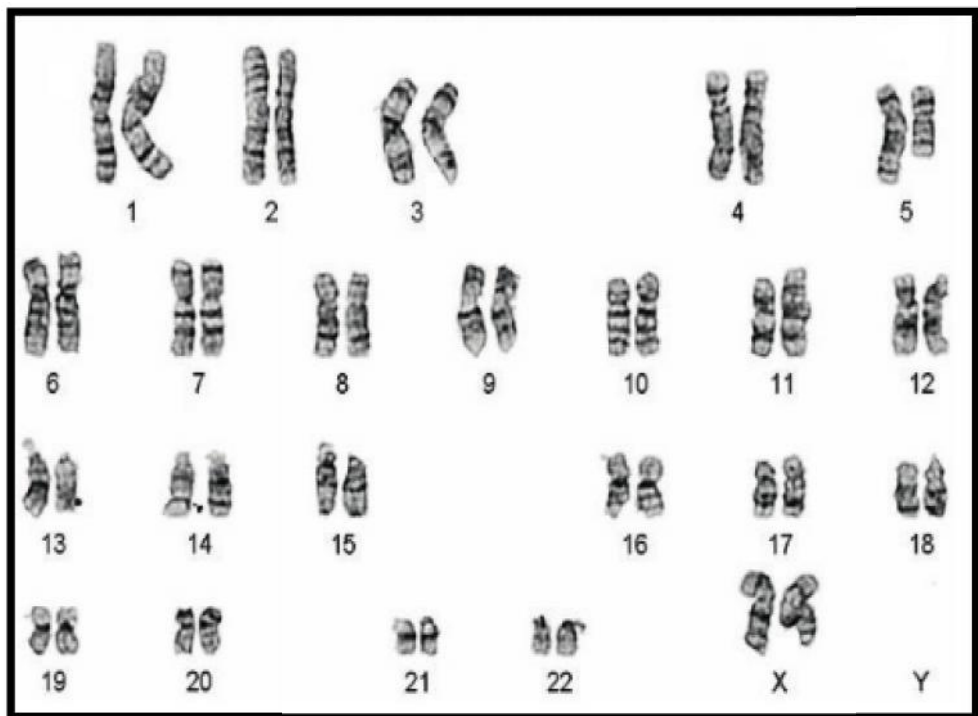


Figure 22: syndrome 5q- en caryotype (bande G) [75]

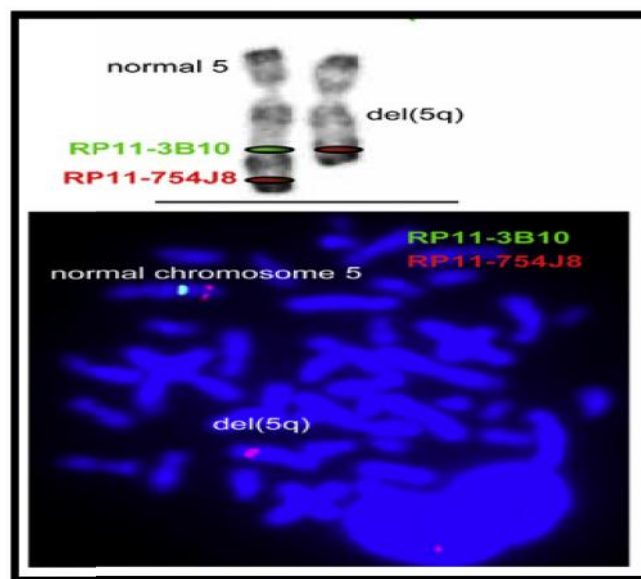


Figure 23: syndrome 5q- en FISH [76]

III. Apport de la cytogénétique à l'évaluation pronostique des SMD

1. Les principaux facteurs pronostiques :

Si de nombreux facteurs pronostiques ont pu être décrits dans les syndromes myélodysplasiques (SMD) seuls un petit nombre d'entre eux paraissent essentiels, tant pour la survie que pour l'évolution en LAM, principalement la blastose médullaire le nombre et l'importance des cytopénies, et les anomalies cytogénétiques [77].

De nombreux autres facteurs pronostiques ont été décrits (âge, sexe, caractère chimio-induit du SMD...) mais ils restent peu utilisés en routine clinique, soit parce qu'il n'existe pas de consensus sur les techniques et l'interprétation de leurs résultats, soit parce que leur valeur pronostique est discutée, soit parce qu'ils ne font que traduire le terrain sous-jacent [78].

2. Les Scores pronostiques :

Les scores pronostiques ont été construits grâce à des analyses statistiques multi-variées, à partir des différents facteurs pronostiques retrouvés dans des analyses uni-variées. Leur affinement au fil des années s'est fait grâce à l'amélioration des méthodes statistiques et surtout grâce à l'apport de l'étude cytogénétique. Le premier score (score de Bournemouth) n'incluait que la blastose médullaire et les cytopénies [79].

En 1997, Greenberg et al. ont publié un index pronostique international (International prognosis scoring system ou score IPSS) qui place les données du caryotype parmi les facteurs indispensables à l'établissement d'un score pronostique fiable. Ce score IPSS est aujourd'hui le standard pour évaluer le pronostic des patients souffrant de syndromes myélodysplasiques [78].

Depuis d'autres scores, dont le score WPSS (Tableau VI) (intégrant la classification OMS et le besoin transfusionnel en globules rouges), ont été proposés mais aucun n'a détrôné le score IPSS en pratique clinique [79].

Mais avec le large développement des techniques d'analyses cytogénétiques et les progrès réalisés dans la connaissance de la maladie ces 10 dernières années, des facteurs pronostiques additionnels ont été identifiés et il était nécessaire de revoir ce score. C'est pourquoi l'IPSS a été récemment révisé et remplacé par IPSS-R (Revised International Prognostic Scoring System) [80].

Tableau VI – score WPSS (WHO classification-based prognostic scoring system for MDS). [81]

Variable	0	1	2	3
Classification OMS	AR, ARSI, 5q-	CRDM, CRDM-RS	AREB-1	AREB-2
Caryotype	Normal, - Y, del (5q), del (20q)	Autres anomalies	≥3 anomalies, anomalies du 7	-
Besoins Transfusionnels	Aucune	Réguliers	-	-

2.1. Score IPSS :

Le score IPSS a été établi en 1997 à partir de bases de données incluant un total de 816 malades. Les données du caryotype sont parmi les facteurs indispensables à l'établissement de ce score, et les anomalies chromosomiques y sont réparties en trois groupes dits de bon, intermédiaire ou mauvais pronostic[82].

Toutefois, en raison de la grande hétérogénéité des anomalies génétiques, de la combinaison de ces anomalies entre elles et du nombre limite de patients à caryotype anormaux de la cohorte ayant permis d'établir l'IPSS, seul l'impact pronostique des anomalies chromosomiques les plus fréquentes a été établi de manière rigoureuse ; en effet, une valeur pronostique de type intermédiaire a été attribuée arbitrairement à des anomalies rares dont la faible fréquence dans la cohorte de patients ne permettait pas de connaître avec certitude l'impact sur la survie des patients [78].

Tableaux VII– score IPSS (International Prognostic Scoring System). [65]

	0	0,5	1	1,5
Cytopénies	0 ou 1	2 ou 3	-	-
Caryotype	Normal, - Y, del (5q), del (20q)	Autres anomalies	≥ 3 anomalies, anomalies du 7	-
Blastes	0-4 %	5-10 %	-	11-20 %

2.2. Valeur pronostique des anomalies cytogénétiques dans l'IPSS

La cytogénétique reste l'un des facteurs pronostiques prédominant dans les SMD, au point que certains auteurs suggèrent que son impact est sous-estimé dans l'IPSS par rapport à la blastose médullaire [83].

La valeur pronostique des anomalies cytogénétiques a été largement étudiée. Sur une grande série des SMD, les auteurs ont pu affiner la valeur pronostique des ces différentes anomalies cytogénétiques en les séparant en groupes «favorable», « intermédiaire », et « défavorable » [84].

2.2.1. Anomalies et caryotypes de bon pronostic

Le caryotype normal confirme un bon pronostic contrairement à ce qui se passe dans les LAM où un caryotype normal confère au patient un pronostic intermédiaire. Il en va de même pour la perte du chromosome Y (-Y) et les délétions 5q (5q-), et 20q (20q-) isolées. Des études ont aussi identifiées les anomalies 12p- et 11q-, t(1q), t(7q), 9p-, 12p-, t(15q), t(17q), +21, -21, -X, comme facteurs de bon pronostic. Toutefois, ces anomalies perdent leur caractère favorable si elles sont associées à plus d'une anomalie supplémentaire[85, 86].

2.2.2. Anomalies de pronostic intermédiaire

Dans cette catégorie on trouve de la trisomie 8, les anomalies du chromosome 3q, la trisomie 9, les translocations 11q et les délétions 17p. L'analyse de la survie médiane a permis de définir deux groupes de pronostic intermédiaire : les patients avec trisomie 8 et/ou 11q- ont une survie médiane comprise entre 23 et 26 mois et correspondent au groupe intermédiaire-I. Le groupe pronostique intermédiaire-II a une survie médiane allant de 14 à 20 mois. On y trouve les translocations impliquant 11q23, les anomalies 3q, la trisomie 19, les 7q-, les monosomies 7 et les caryotypes complexes associant 3 anomalies [85,86].

2.2.3. Anomalies de mauvais pronostic

La complexité du caryotype a un rôle pronostique majeur : la survie médiane des patients passe de 17 à 9 mois lorsque la complexité du caryotype passe de 3 à ≥ 4 anomalies. Une survie médiane inférieure à 10 mois est décrite chez des patients présentant un iso-chromosome 17q [85,86].

2.3. Score IPSS-R

Récemment Un groupe international piloté par Greenberg, et grâce au travail collaboratif de nombreux groupes internationaux regroupant au total les données de plus de 6 388 patients issus de 17 centres dans 12 pays, a proposé un score IPSS-R en fonction de cinq paramètres qui sont le score cytogénétique révisé, le pourcentage de blastes médullaires, le taux d'hémoglobine, le taux de polynucléaires neutrophiles et le taux de plaquettes [80].

Dans cette nouvelle classification IPSS-r, l'intégration des anomalies cytogénétiques mieux étudiées a permis de définir 5 sous-groupes pronostiques au lieu de 3 dans la version initiale, avec la définition de deux nouveaux sous-groupes aux extrémités, de « très bon » pronostic et de « très mauvais » pronostic. Il met notamment l'accent sur le très mauvais pronostic des caryotypes complexes avec plus de trois anomalies (survie globale médiane de 15,6 mois versus 5,7 mois respectivement pour plus de trois anomalies et moins de trois anomalies au caryotype). Ce score permet de mieux stratifier le groupe intermédiaire défini avec l'IPSS de 1997. Ces différents sous-groupes sont associés à des différences très significatives différentes en termes de survie globale et de transformation leucémique. Il faut cependant rappeler que ce score IPSS révisé reste établi chez des patients n'ayant pas reçu de traitement susceptible d'influer sur le cours de la maladie (hypométhylants, chimiothérapie, allogreffe) [87].

Cette nouvelle classification permet de prédire un pronostic chez des patients présentant des anomalies plus rares. Ainsi, aujourd'hui un score pronostique est établi chez 94% des patients, par comparaison au cytogenetic risk scoring de la classification IPSS qui ne permettait cette prédiction que dans 81% des cas. Pour les 6% restants, les anomalies sont si rares qu'elles nécessitent l'analyse de bases de données encore plus importantes. Cela devrait pouvoir être possible dans un avenir proche grâce à la coopération internationale des groupes de travail sur la MDS.

Tableau VIII: Paramètres du score IPSS-R. [88]

Score cytogénétique	Très bon 0 Points	Bon 2 Points	Intermédiaire 4 Points	Mauvais 6 Points	Très mauvais 8 points
% de blastes Médullaires	< 5 % 0 point	5-10 % 2 points	11-20 % 4 points	21-30 % 6 points	
Taux d'hémoglobine	≥10 0 point	< 10 2 points			
Taux de PNN	≥10 0 point	≤0,8 1 point			
Taux de Plaquettes	≥100 0 point	< 100 1 point			

Tableau IX: Groupe pronostique du score IPSS-R. [88]

Groupe pronostique	Points	Survie globale médiane (ans)	Transformation leucémique (25 %) (ans)
Très bon	0-2	9	NA
Bon	3-5	5,5	10,7
Intermédiaire	6-7	2,9	3,8
Défavorable	8-9	1,7	1,4
Très défavorable	>9	0,7	0,7

Tableau X: Nouveau score cytogénétique inclus dans l'IPSS-R. [88]

Très Bon (3,9 % des patients)	Bon (65,7 % des patients)	Intermédiaire (19,2 % des patients)	Défavorable (5,4 % des patients)	Très défavorable (5,8 % des patients)
del (13q) -Y	Caryotype normal Anomalies cytogénétiques isolées : del (5q), del (20q), del (12p) Anomalies cytogénétiques doubles : Une anomalie cytogénétique associée à une del (5q)	Anomalies cytogénétiques Isolées : del (7q), +8, i (17q), +19. Toutes les autres anomalies cytogénétiques non citées ailleurs. Anomalies cytogénétiques Doubles. Toutes anomalies cytogénétiques doubles non citées ailleurs	Anomalies cytogénétiques isolées -7, der (3q) Anomalies cytogénétiques doubles Une anomalie cytogénétique associée à une del (7q) ou -7 Caryotype complexe avec 3 anomalies cytogénétiques	Caryotype complexe : plus de 3 anomalies cytogénétiques
60,8 mois (HR 0,5)	48,6 mois (HR 1,0)	26,1 mois (HR 1,6)	15,8 mois (HR 2,6)	5,9 mois (HR 4,2)

IV. Apport de la cytogénétique au traitement des SMD (choix thérapeutique) et au suivi des malades : [26, 86,89]

L'étude des anomalies cytogénétique n'est pas seulement une composante importante du diagnostic et du pronostic des MDS mais elle est actuellement utilisée pour identifier des thérapies appropriées. En effet c'est un facteur important dans la sélection de traitement et surveillance de la réponse au traitement. Ainsi certaines thérapies ont démontré l'efficacité particulière dans des sous-groupes cytogénétiques spécifiques. Par exemple, le médicament immunomodulateur « lénalidomide » a montré des taux élevés de rémission hématologique et une indépendance transfusionnelle chez des sujets avec délétion 5q (5q-), avec une réponse significativement plus grande parmi des patients qui ont une délétion (5q31). Cependant, les patients porteurs de del 5q ayant un caryotype complexe, ou ceux ayant une del 5q mais une mutation du gène TP53 (retrouvée dans 15 à 20 % des cas) répondent mal au lénalidomide et évoluent fréquemment en LAM. D'autres approches, y compris les hypométhylants et l'allogreffe, paraissent indiquées chez eux. Récemment, il a été rapporté que les patients avec la monosomie 7 pourraient profiter principalement de la thérapie avec des agents déméthylants, et même des anomalies complexes pourraient être des futures cibles sensibles pour les agents déméthylants et les immunomodulateur comme lénalidomide.

La cytogénétique peut également être utilisée dans le suivi de la maladie, surtout la recherche d'une éventuelle évolution MDS/LAM. Dans une étude récente, 30.7 % des patients ont acquis des défauts chromosomiques supplémentaires pendant la période de suivi, 25.4 % d'entre eux avant la

progression de maladie. La fréquence de ces événements a augmenté chez des sujets au stade avancé de SMD. Ces données confirment la preuve actuelle qui suggère que l'évolution des SMD soit accompagnée par une augmentation d'instabilité chromosomique. Cette même étude confirme que la délétion del (7) (q31q34) était le seul défaut secondaire affectant significativement le risque de l'évolution MDS/AML.

Enfin, la cytogénétique peut également être utile pour le suivi des allogreffes médullaires en cas de différence de sexe entre donneur et receveur. Mais là, il faut préférer la FISH interphasique avec des sondes spécifiques des chromosomes X et Y, permettant une appréciation fine d'un éventuel chimérisme incomplet, avec une sensibilité nettement supérieure à celle de la cytogénétique conventionnelle. Dans les cas sans différence de sexe entre le donneur et le receveur, le suivi du chimérisme sanguin se fait par techniques moléculaires quantitatives.

Conclusion

Les syndromes myélodysplasiques (SMD) regroupent un ensemble de maladies clonales touchant les cellules souches hématopoïétiques induisant des anomalies qualitatives et quantitatives des lignées myéloïdes. Ces maladies touchent surtout les sujets âgés. L'analyse chromosomique est devenue un examen indispensable dans les syndromes myélodysplasique, faisant partie intégrante des bilans diagnostique, pronostic et de suivi de la maladie résiduelle. L'application en routine de ces techniques dans notre contexte va certainement améliorer la prise en charge de nos patients.

RÉSUMÉS

Résumé

Titre : application des cytogénétiques conventionnelle et moléculaire dans les syndromes myélodysplasiques.

Auteur : ABAIRROU AHMED

Mots clés : Cytogénétique, syndromes myélodysplasiques, diagnostic, suivi thérapeutique.

Les syndromes myélodysplasiques (SMD) sont un groupe hétérogène d'hémopathies qui traduisent une atteinte clonale de la cellule souche hématopoïétique. Ces affections sont associées à un risque important de transformation en leucémie aiguë myéloïde (leucémie secondaire), et qui touchent surtout les sujets âgés.

La cytogénétique qui a grandement évolué ces dernières années, bénéficiant des progrès techniques, avec le développement de l'hybridation in situ en fluorescence et d'autres techniques moléculaires comme la CGH-array et la SNP-array, est devenue un examen indispensable dans la prise en charge des syndromes myélodysplasiques, et faisant partie intégrante des bilans diagnostique, pronostique et de suivi de la maladie résiduelle.

Notre travail a pour objectif de rapporter les principales techniques cytogénétiques, et leur apport au diagnostic, à la classification, au pronostic, et au suivi des syndromes myélodysplasique.

Summary

Title: Application of the conventional and molecular cytogenetics in the myelodysplastic syndromes.

Autor: ABAIRROU AHMED

Keywords: Cytogenetics, Myelodysplastic syndromes, diagnosis, Therapeutic follow-up.

The myelodysplastic syndrome (MDS) is a heterogeneous group of hemopathies which translate a clonal infringement of the hematopoietic stem cell. These disorders are associated with an important risk of transformation in myeloid acute leukemia (secondary leukemia), and which affect especially the elderly subjects.

The cytogenetic which largely evolved these last years, benefiting from technological progress (advent of the computing in the analysis), but also techniques, with the development of the FISH (fluorescence in situ hybridization) and the other molecular techniques as the CGH-array and the SNP-array, became an indispensable examination in the coverage of the myelodysplastic syndromes, and he is a party integral of the diagnostic balance sheet. So the cytogenetic analysis became a factor forecasts middle finger allowing a therapeutic action adapted to the individual prognosis so defined, and an essential element in the establishment of the diagnosis, the follow-up, and treatment of the MDS.

Our work has for objective to report the main techniques cytogenetics, and their contribution to the diagnostic, the classification, the prognosis, the treatment of the myelodysplastic syndrome.

الخلوية التقليدية والجزئية

تطبيق:

: أبيض

, التشخيص,

الخلوية,

الأساسية:

العلاجية

هي مجموعة غير متجانسة من الأورام الخبيثة التي تعكس انخفاض قيمة نسيلي الخلية الجذعية المكونة . وترتبط هذه من الأورام مع مخاطر كبيرة (اللوكميا الثانوية) هي تؤثر بشكل رئيسي على المسنين.

تطور علم الوراثة الخلوية بشكل كبير في السنوات الأخيرة، مستفيدا من التقدم (ظهور الحواسيب في التحليل)، ولكن أيضا التقنيات، مع تطور مضان التهجين والتقنيات الجزئية الأخرى جعله يصبح (علم الوراثة الخلوية) الأساسية و يكون جزءا لا يتجزأ من التشخيص.

هكذا أصبح التحليل الوراثي الخلوي عاملا رئيسيا للتكهن مما يمكن من علاج أفضل متكيف مع تكهن هذا المريض ، هو أيضا عنصر أساسي في رصد وتشخيص

عملنا هذا يهدف إلى جرد التقنيات الوراثة الخلوية الرئيسية ومساهمتها في التشخيص والتصنيف كهن

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] **O. Beyne-Rauzy.** « Les syndromes myélodysplasiques ». *La Revue de médecine interne* 33.S2 (2012) : A21–A23
- [2] **Gardin,C., et P.Fenaux.** "Syndromes myélodysplasiques: Mise au point." *Oncologie* 8.4 (2006): 362-367.
- [3] **Beyne-Rauzy, Odile, Guy Laurent, and Daniel Adoue.** "Syndromes myélodysplasiques de l'adulte." *La Presse Médicale* 36.3 (2007): 481-491.
- [4] **Fontenay, Michaela, et al.** "Physiopathologie des syndromes myélodysplasiques." *Revue francophone des laboratoires* 2009.413 (2009): 31-37.
- [5] **V. Gelsi-Boyer, N. Vey.** « Avancées dans la prise en charge des syndromes myélodysplasiques ». *La Revue de médecine interne* 27.8 (2006) : 600–609.
- [6] **Y.-E. Claessens, M. Fontenay-Roupie.** « Physiopathologie des syndromes myélodysplasiques ». *Pathologie Biologie* 50.4 (2002): 261-267.
- [7] **MICHAEL PFEILSTOCKER et al.** «Myelodysplastic syndromes, aging, and age: Correlations, common mechanisms, and clinical implications». *Leukemia & Lymphoma*, 48.10 (2007): 1900 – 1909.
- [8] **Ayalew Tefferi, M.D., and James W. Vardiman, M.D.** «mechanisms of diseases Myelodysplastic Syndromes». *The New England journal of medicine* 361.19 (2009): 1872-1885.
- [9] **Valérie Andrieua, Blandine Benet.** « Classification des syndromes Myélodysplasiques ». *Revue francophone des laboratoires* 2009. 413 (2009): 49-57.
- [10] **Valérie Ugo.** « Nouvelle classification OMS des syndromes myélodysplasiques Ses conséquences ». *Pathologie Biologie.* 50.4 (2002): 278-282.

- [11] **Merlat A, Picard F et Dreyfus F.** « Syndromes myélodysplasiques et leucémies secondaires». *Encyclopédie Médico-chirurgicale* (2000) : 1-14 [13012-A-10]
- [12] **Pierre Fenaux.** « Une nouvelle classification des syndromes myélodysplasiques ? ». *Hématologie*. 8.1 (2002).
- [13] **J. Caers , C. Bonnet,C. Graux,B. De Prijck,Y. Beguin.** « Prise en charge actuelle des syndromes myélodysplasiques » *Revue Médicale Suisse*. 7.306 (2011): 1634-1643
- [14] **James Vardima.** «The classification of MDS: From FAB to WHO and beyond» *Leukemia Research* 36 (2012) 1453–1458.
- [15] **Pierre Fenaux, Lionel Adesa** «Traitement des syndromes myélodysplasiques » *Revue Francophone des Laboratoires* 2009. 413 (2009) :77-85
- [16] **Beyne-Rauzy, Odile.** "Les avancées thérapeutiques dans la prise en charge des syndromes myélodysplasiques." *MT. Médecine thérapeutique* 15.4 (2009): 298-303.
- [17] **Raphael Itzykson et al.** «Prognostic factors for response and overall survival in 282 patients with higher-risk myelodysplastic syndromes treated with azacitidine». *Blood* 117.2 (2011): 403-411.
- [18] **R. Berger.** « Cytogénétique humaine. De 1956 à 2006 ». *Pathologie Biologie*, 55. 1 (2007) : 1-12.
- [19] **R Berger.** « Évolution d'un agent double : la cytogénétique en hématologie » *Pathologie Biologie* 51. 6 (2003) : 305–306.

- [20] **P. Vago**, « un demi-siècle de la cytogénétique humain et médical ». *Morphologie* 93. 301 (2009) :42-50
- [21] **J.-P. SIFFROI S. CHANTOT-BASTARAUD** « L'avenir de la cytogénétique après le séquençage du génome humain » *Morphologie* 88.280 (2004) :19-23
- [22] **V. Malan, J.-M. Lapierre, M. Vekemans, S.P. Romana.** « La CGH array : un bouleversement de la pratique hospitalière en cytogénétique » *IRBM*, Volume 28. 5 (2007) :245-251
- [23] **Cédric Le Caignec**, Collège National des Enseignants et Praticiens de Génétique Médicale. « Caryotype humain : Technique –Indications » Support de Cours 2010-2011
- [24] **M. Lafage-Pochitaloff.** « Notions de base en cytogénétique conventionnelle et moléculaire : application au diagnostic des hémopathies malignes » *Pathologie Biologie* 51.6 (2003): 307–311
- [25] **N. Morichon-Delvallez.** « Cytogénétique prénatale ». *EMC Obstétrique* 2006 :1-13 [Article 5-031-A-15].
- [26] **L. Lodé, H. Avet-Loiseau.** « Anomalies chromosomiques et géniques dans les hémopathies malignes » *EMC Hématologie*. 2007. [13-000-K-10].
- [27] **Dupont JM.** « Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology» June 2008.
- [28] **D. Rabineau et JM. Dupont** « Cours de cytogénétique humain ». Faculté de Médecine Cochin-Port Royal. Université PARIS V.

- [29] **Lynn-B Jorde, John-C Carey, Michael-J Bamshad, Raymond-L White.** « Génétique médicale » édition française Paris, **2004**
- [30] **H Avet-Loiseau.** « Cytogénétique des hémopathies malignes». *Encyclopédie Médico-chirurgicale* **2000** : 1-7 [13-000-K-10].
- [31] **Marina Lafage-Pochitaloff, INSERM U.** « Apport de l'hybridation in situ en fluorescence (FISH) en cytogénétique hématologique ». *Hématologie*. 1.4 (**1995**) :313-318.
- [32] **Jean-Yves Jaffray, Michel Giollant, et al.** « Du caryotype mono-couleur au caryotype multi-couleur, applications de la M-Fish en hématologie et en oncologie » *Bulletin du Cancer*. 89. 2 (**2002**):174-180.
- [33] **N. Bouayed Abdelmoula.** « Apport de la cytogénétique moléculaire au diagnostic des anomalies chromosomiques ». *Annales de Biologie Clinique*. 62.6 (**2004**): 629-37.
- [34] **Mark A. Micale.** «Classical and Molecular Cytogenetic Analysis of Hematolymphoid Disorders». *Hematopathology* 34 (**2010**) : 39-78.
- [35] **M.C. Boffa.** «Hybridation in situ» .La Revue de Médecine Interne, 17.6 (1996) : 505-507
- [36] **P. Brousset.** « Techniques d'hybridation in situ fluorescente (FISH)». *Annales de Pathologie*, 24. 1 (**2004**) : 66-67.
- [37] **Nicolas Chevassus-au-Louis.** «FISH, la renaissance de la cytogénétique» *Biofutur*, 2000.200 (**2000**) : 18.
- [38] **S. P. Romana, P. Gosset, et al.** « Apport de la cytogénétique moléculaire au diagnostic des anomalies chromosomiques constitutionnelles ». *Médecine thérapeutique / Pédiatrie*. 4. 4 (**2001**) : 284-290.

- [39] **Andrew Read, Dian Donnai, Yves Sznajer.** «Génétique médicale: De la biologie à la pratique clinique ». (2008). Edition De boeck université Bruxelles. 467 p.
- [40] **Boris Keren, Damien Sanlaville.** « Nouveaux outils diagnostiques du retard mental ». *Mt pédiatrie (médecine thérapeutique pédiatrie)*. 11.4 (2008) : 230-241.
- [41] **Marina Lafage-Pochitaloff.** « Apport de l'hybridation in situ en fluorescence (FISH) en cytogénétique hématologique ». *Hématologie*. 1.4 (1995) : 313-318.
- [42] **N. Douet-Guilbert, et al.** « stratégies d'identification des marqueurs chromosomiques surnuméraires en cytogénétique constitutionnelle ». *Pathologie Biologie*. 56.6 (2008) : 362–367.
- [43] **Hervé Avet-Loiseau.** « Caryotype multi-couleur : quelle utilisation en hématologie ? » *Hématologie*. 10. 2 (2004) : 159-162.
- [44] **M. A. Belaud-Rotureau, et al.** «Le caryotype spectral (SKY) : principe, avantages et limites en cytogénétique constitutionnelle et tumorale ». *Annales de Biologie Clinique*. 61. 2 (2003) : 139-46.
- [45] Site du « National human genome research institute»:
<http://www.genome.gov/dmd/index.cfm?node=Photos/Graphics>
- [46] **D. Sanlaville, et al.** « La CGH microarray : principe et applications en pathologie constitutionnelle ». *Archives de pédiatrie* 12. 10 (2005) : 1515–1520.
- [47] **A. Ferrarini, S. Jacquemont, et al.** « Puce à ADN : pourquoi et pour qui ? ». *Revue Médicale Suisse* 6. 237 (2010): 390-396.

- [48] **Alain BERNHEIM et al.** « De la cytogénétique à la cytogénomique des tumeurs: le point en 2004 ». *Bull Cancer* 91.1 (2004): 29-43.
- [49] **F. Vialard, D. Molina Gomes.** « les nouvelles technologies d'analyse du génome: quelles utilisations en diagnostic prénatal ». *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 39. 1 (2011) : 32–41.
- [50] **J. Andrieux.** « Puces à ADN (CGH-array) : application pour le diagnostic de déséquilibres cytogénétiques cryptiques ». *Pathologie Biologie* 56. 6 (2008) : 368–374.
- [51] **V. Malan, S. Romana.** « Diagnostic des anomalies chromosomiques par CGH array en pathologie constitutionnelle : la fin du caryotype en première intention ». *Archives de pédiatrie* 19. 4 (2012): 437–442.
- [52] **Reena Zin, et al.** «SNP-based arrays complement classic cytogenetics in the detection of chromosomal aberrations in Wilms' tumor». *Cancer Genetics* 205. 3 (2012): 80-93.
- [53] **B. Benzacken A.-C. Tabet, et al.** « Apport de la CGH-array au diagnostic prénatal d'anomalies génomiques chez des fœtus présentant des signes malformatifs, avec un caryotype apparemment équilibré » *ITBM-RBM* 28.5 (2007): 239–244.
- [54] **Damien Sanlaville, Catherine Turleau,** Collège National des Enseignants et Praticiens de Génétique Médicale. « Types, fréquences et mécanismes de formation des anomalies chromosomiques ». Support de Cours 2010-2011.
- [55] **M.-L. Briard, N. Morichon-Delvallez.** « Anomalies chromosomiques ». EMC Pédiatrie - Maladies infectieuses 2006 [4-002-T-30].

- [56] **C. Ravel, J.-P. Siffroi.** «Anomalies de structure du chromosome Y et syndrome de Turner ». *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 37.6 (2009): 511–518.
- [57] **Gardner RJM, Sutherland GR, eds.** «Chromosome abnormalities and genetic counseling». Oxford University Press, vol 30, **1996**, 634p.
- [58] **F. Vialard, F. Pellestor.** « Intérêt de la cytogénétique des gamètes humains : résultats et perspectives ». *Pathologie Biologie* 56.6 (2008) : 388–399.
- [59] **Castro M, Conn DL, Su WP, Garton JP.** « Rheumatic manifestations in myelodysplastic syndromes ». *Journal of Rheumatology* 18.5 (1991):721–727.
- [60] **Fain O, Braun T, Stirnemann J, Fenaux P.** « Manifestations systémiques et auto-immunes des syndromes myélodysplasiques » *La Revue de médecine interne* 32.9 (2011): 552–559.
- [61] **Farah C, et al.** «Prevalence and prognostic value of cutaneous manifestations in patients with myelodysplastic syndrome». *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology* 24.10 (2010): 1171-1175.
- [62] **Hamidou MA, et al.** «Prevalence of rheumatic manifestations and antineutrophil cytoplasmic antibodies in haematological malignancies. A prospective study». *Rheumatology* 39.4 (2000): 417–420.
- [63] **Kelaidi, Charikleia, and Pierre Fenaux.** « Progrès dans les syndromes myélodysplasiques. » *Hématologie* 12.4 (2006): 2-16.
- [64] **Société Suisse d'Hématologie.** « Recommandations pour le diagnostic et le traitement des syndromes myélodysplasiques chez les patients adultes en Suisse ». *Forum Médical Suisse* 10.15 (2010): 259–265.

- [65] **Wémeau, Mathieu, et al.** « Cytogénétique des syndromes myélodysplasiques et apport des techniques pangénomiques. » *Hématologie* 16.3 (2010): 8.
- [66] **Daniel T. Starczynowski et al.** « High-resolution whole genome tiling path array CGH analysis of CD34+ cells from patients with low-risk myelodysplastic syndromes reveals cryptic copy number alterations and predicts overall and leukemia-free survival». *Blood* 112. 8 (2008): 3412-3424.
- [67] **Lukasz P. Gondek et al.** « Chromosomal lesions and uniparental disomy detected by SNP arrays in MDS, MDS/MPD, and MDS-derived AML». *Blood* 111. 3 (2008): 1534-1542.
- [68] **Vardiman JW, Thiele J, et al.** «The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes». *Blood* 114. 5 (2009): 937-951.
- [69] **Hideki Makishima, Manjot Rataul et al.** «FISH and SNP-A karyotyping in myelodysplastic syndromes: Improving cytogenetic detection of del(5q), monosomy 7, del(7q), trisomy 8 and del(20q)» . *Leukemia Research* 34.4 (2010): 447–453.
- [70] **V. Gelsi-Boyer, N. Vey.** « Avancées dans la prise en charge des syndromes myélodysplasiques ». *La Revue de médecine interne* 27.8 (2006): 600–609.
- [71] **T. Comont, et al.** « La recherche de mutations un outil de diagnostic des syndromes myélodysplasiques à cytologie normale ». *La Revue de médecine interne* 33 (2012) : A47.
- [72] **Flandrin, Georges.** "La nouvelle classification OMS des Hémopathies malignes Hémopathies myéloïdes. " *Hématologie* 7.2 (2001): 136-141.

- [73] **Sebaa, Amel, Virginie Eclache-Saudreau.** "Apport de l'hybridation in situ en fluorescence (FISH) pour la détection des anomalies cytogénétiques dans les syndromes myélodysplasiques." *Revue Francophone des Laboratoires* 2011.433 (2011): 65-72.
- [74] **Emilie Frisan, Franck Viguié, et al.** «Syndromes myélodysplasiques avec délétion du bras long du chromosome 5 ». *Hématologie*. 14.2 (2008): 112-115.
- [75] **Faramarz Naeim.** «Atlas of Hematopathology: Morphology, Immunophenotype, Cytogenetics, and Molecular Approaches». Edition 13 Decembre 2012. 756 p.
- [76] **Nathalie Douet-Guilbert.** «Three rearrangements of chromosome 5 in a patient with myelodysplastic syndrome: an atypical deletion 5q, a complex intrachromosomal rearrangement of chromosome 5, and a paracentric inversion of chromosome 5». *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 203.2 (2010): 303–308.
- [77] **Pierre Fenaux, Stéphane de Botton.** « Facteurs pronostiques dans les syndromes myélodysplasiques ». *Pathologie Biologie*. 50.4 (2002): 256-260.
- [78] **Sophie D. Raynaud.** « Avancées cytogénétiques dans les syndromes myélodysplasiques ». *Revue francophone des laboratoires -2009 – 413* (2009): 59-66.
- [79] **Seung-Won Jung, So-Young Lee.** «Cytogenetic characteristics and prognosis analysis in 231 myelodysplastic syndrome patients from a single institution». *Leukemia Research* 35.6 (2011): 735–740.
- [80] **Peter L. Greenberg.** «Revised International Prognostic Scoring System for Myelodysplastic Syndromes». *Blood* 120.12 (2012): 2454-2465.

- [81] **Fontenay Michaëla, et al.** « Syndromes myélodysplasiques: actualités clinico-biologiques». *RFL-Revue Francophone des Laboratoires* 2011.1 (2011): 13.
- [82] **Peter Greenberg et al.** «International Scoring System for Evaluating Prognosis in Myelodysplastic Syndromes». *Blood* 89.6 (1997): 2079-2088.
- [83] **Itzykson Raphaël, et Pierre Fenaux.** "Syndromes myélodysplasiques." *Hématologie* 14.2 (2008): 60.
- [84] **Pierre Fenaux.** « Syndromes myélodysplasiques ». *Hématologie*. 13.1 (2006) : 45-49, Numéro spécial : Compte rendu du 48e congrès de l'ASH.
- [85] **Solé F, Luno E, Sanzo C, et al.** «Identification of novel cytogenetic markers with prognostic significance in a series of 968 patients with primary myelodysplastic syndromes». *Haematologica*. 90.9 (2005): 1168-1178.
- [86] **Haase D, Germing U, Schanz J, et al.** «New insights into the prognostic impact of the karyotype in MDS and correlations with subtypes: evidence from a core dataset of 2124 patients». *Blood* 110.13 (2007): 4385-4395.
- [87] **T. Cluzeau, P. Fenaux.** « Nouveaux outils et traitements pour les syndromes myélodysplasiques ». *La Revue de Médecine Interne*. 34.3 (2013) : 159–167.
- [88] **Thomas Cluzeau. Pierre Fenaux.** « Actualités des syndromes Myélodysplasiques Société française d'hématologie (Paris, 2011), MDS Foundation (Edimbourg, 2011) ». *Hématologie*. 17.5 (2011): 3-15.
- [89] **Paolo Bernasconi et al.** «Does cytogenetic evolution have any prognostic relevance in myelodysplastic syndromes? A study on 153 patients from a single institution». *Annals of hematology* 89.6 (2010): 545-551.



Serment de Galien

Je jure en présence des maîtres de cette faculté :

- *D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
- *D'exercer ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la santé public, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humain.*
- *D'être fidèle dans l'exercice de la pharmacie à législation en vigueur aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- *De ne pas dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession, de ne jamais consentir à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.*
- *Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, que je sois méprisé de mes confrères si je manquais à mes engagements.*





جامعة محمد الخامس
كلية الطب والصيدلة
- الرباط -

قسم الصيدلي

بسم الله الرحمن الرحيم

وأقسم بالله العظيم

- أن أراقب الله في مهنتي
- أن أبجل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم بالجميل وأبقى دوما وفيا لتعاليمهم.
- أن أزاول مهنتي بوازع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وأن لا أقصر أبدا في مسؤوليتي وواجباتي تجاه المريض وكرامته الإنسانية.
- أن ألتزم أثناء ممارستي للصيدلة بالقوانين المعمول بها وبأدب السلوك والشرف، وكذا بالاستقامة والترفع.
- أن لا أفشي الأسرار التي قد تعهد إلى أو التي قد أطلع عليها أثناء القيام بمهامي، وأن لا أوافق على استعمال معلوماتي لإفساد الأخلاق أو تشجيع الأعمال الإجرامية.
- لأحضى بتقدير الناس إن أنا تقيدت بعهودي، أو أحتقر من طرف زملائي إن أنا لم أف بالتزاماتي.

"والله على ما أقول شهيد"



- جامعة محمد الخامس - السويسي
كلية الطب والصيدلة بالرباط

27:

2013 :

تطبيق علم الوراثة الخلوية التقليدية والجزيئية
في متلازمات خلل التنسج النقوي
أطروحة

علانية يوم:

من طرف
السيد : أبيرو أحمد
المزاد بتاريخ 14 يوليوز 1986 بكلميم

لنيل شهادة الدكتوراه في الصيدلة

لغات الأساسية : الوراثة الخلوية - الكيمياء - التشخيص - العلاجية

رئيس

يد :

يد :

علم الدم البيولوجي

يد :

الكيمياء الإحيائية

نزیه

السيد :