



كلية الطب
والصيدلة - مراكش
FACULTÉ DE MÉDECINE
ET DE PHARMACIE - MARRAKECH

Année 2022

Thèse N° 002

Apport de la biologie moléculaire dans le diagnostic et le suivi de la leucémie myéloïde chronique : expérience du laboratoire d'hématologie

THÈSE

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 17/01/2022

PAR

Mlle. Sara RADAD

Née le 02/05/1996 à Inzegane

POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MEDECINE

MOTS-CLÉS :

Leucémie myéloïde chronique- BCR-ABL

Biologie moléculaire-GeneXpert

JURY

Mme. S. CHELLAK

Professeur de Biochimie-chimie

PRESIDENT

M. M. CHAKOUR

Professeur d'Hématologie Biologique

RAPPORTEUR

M. M. AIT AMEUR

Professeur d'Hématologie Biologique

JUGE



{ قالوا سبحانك لا علم لنا إلا ما
علمتنا إنك أنت العليم الحكيم }

صدق الله العظيم
سورة البقرة " آية 32 "

Serment d'Hippocrate

Au moment d'être admis à devenir membre de la profession médicale, je m'engage solennellement à consacrer ma vie au service de l'humanité.

Je traiterai mes maîtres avec le respect et la reconnaissance qui leur sont dus.

Je pratiquerai ma profession avec conscience et dignité. La santé de mes malades sera mon premier but.

Je ne trahirai pas les secrets qui me seront confiés.

Je maintiendrai par tous les moyens en mon pouvoir l'honneur et les nobles traditions de la profession médicale.

Les médecins seront mes frères.

Aucune considération de religion, de nationalité, de race, aucune considération politique et sociale, ne s'interposera entre mon devoir et mon patient.

Je maintiendrai strictement le respect de la vie humaine dès sa conception.

Même sous la menace, je n'userai pas mes connaissances médicales d'une façon contraire aux lois de l'humanité.

Je m'y engage librement et sur mon honneur.

Déclaration Genève, 1948



LISTE DES PROFESSEURS



UNIVERSITE CADI AYYAD
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
MARRAKECH

Doyens Honoraires : Pr. Badie Azzaman MEHADJI
: Pr. Abdelhaq ALAOUI YAZIDI

ADMINISTRATION

Doyen : Pr. Mohammed BOUSKRAOUI
Vice doyen à la Recherche et la Coopération : Pr. Mohamed AMINE
Vice doyen aux Affaires Pédagogiques : Pr. Redouane EL FEZZAZI
Secrétaire Générale : Mr. Azzeddine EL HOUDAIGUI

Professeurs de l'enseignement supérieur

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABKARI Imad	Traumato- orthopédie	ESSAADOUNI Lamiaa	Médecine interne
ABOU EL HASSAN Taoufik	Anesthésie- réanimation	FADILI Wafaa	Néphrologie
ABOUCHADI Abdeljalil	Stomatologie et chir maxillo faciale	FAKHIR Bouchra	Gynécologie- obstétrique
ABOULFALAH Abderrahim	Gynécologie- obstétrique	FOURAIJI Karima	Chirurgie pédiatrique
ABOUSSAIR Nisrine	Génétique	GHANNANE Houssine	Neurochirurgie
ADALI Imane	Psychiatrie	GHOUNDALE Omar	Urologie
ADMOU Brahim	Immunologie	HACHIMI Abdelhamid	Réanimation médicale
AGHOUTANE EI Mouhtadi	Chirurgie pédiatrique	HAJJI Ibtissam	Ophtalmologie
AISSAOUI Younes	Anesthésie - réanimation	HAROU Karam	Gynécologie- obstétrique
AIT AMEUR Mustapha	Hématologie Biologique	HOCAR Ouafa	Dermatologie

AIT BENALI Said	Neurochirurgie	JALAL Hicham	Radiologie
AIT BENKADDOUR Yassir	Gynécologie- obstétrique	KAMILI El Ouafi El Aouni	Chirurgie pédiatrique
AIT-SAB Imane	Pédiatrie	KHALLOUKI Mohammed	Anesthésie- réanimation
ALJ Soumaya	Radiologie	KHATOURI Ali	Cardiologie
AMAL Said	Dermatologie	KHOUCHANI Mouna	Radiothérapie
AMINE Mohamed	Epidémiologie- clinique	KISSANI Najib	Neurologie
AMMAR Haddou	Oto-rhino-laryngologie	KRATI Khadija	Gastro- entérologie
AMRO Lamyae	Pneumo- phtisiologie	KRIET Mohamed	Ophtalmologie
ANIBA Khalid	Neurochirurgie	LAGHMARI Mehdi	Neurochirurgie
ARSALANE Lamiae	Microbiologie -Virologie	LAKMICHI Mohamed Amine	Urologie
ASMOUKI Hamid	Gynécologie- obstétrique	LAOUAD Inass	Néphrologie
ATMANE El Mehdi	Radiologie	LOUHAB Nisrine	Neurologie
BAIZRI Hicham	Endocrinologie et maladies métaboliques	LOUZI Abdelouahed	Chirurgie - générale
BASRAOUI Dounia	Radiologie	MADHAR Si Mohamed	Traumato- orthopédie
BASSIR Ahlam	Gynécologie- obstétrique	MANOUDI Fatiha	Psychiatrie
BELBARAKA Rhizlane	Oncologie médicale	MANSOURI Nadia	Stomatologie et chiru maxillo faciale
BELKHOUS Ahlam	Rhumatologie	MAOULAININE Fadl mrabih rabou	Pédiatrie (Neonatalogie)
BEN DRISS Laila	Cardiologie	MATRANE Aboubakr	Médecine nucléaire
BENALI Abdeslam	Psychiatrie	MOUAFFAK Youssef	Anesthésie - réanimation
BENCHAMKHA Yassine	Chirurgie réparatrice et plastique	MOUDOUNI Said Mohammed	Urologie
BENELKHAIAT BENOMAR Ridouan	Chirurgie - générale	MOUFID Kamal	Urologie
BENHIMA Mohamed Amine	Traumatologie - orthopédie	MOUTAJ Redouane	Parasitologie
BENJILALI Laila	Médecine interne	MOUTAOUAKIL Abdeljalil	Ophtalmologie

BENZAROUEL Dounia	Cardiologie	MSOUGGAR Yassine	Chirurgie thoracique
BOUCHENTOUF Rachid	Pneumo- phtisiologie	NAJEB Youssef	Traumato- orthopédie
BOUKHANNI Lahcen	Gynécologie- obstétrique	NARJISS Youssef	Chirurgie générale
BOUKHIRA Abderrahman	Biochimie - chimie	NEJMI Hicham	Anesthésie- réanimation
BOUMZEBRA Drissi	Chirurgie Cardio- Vasculaire	NIAMANE Radouane	Rhumatologie
BOURRAHOUE Aicha	Pédiatrie	OUALI IDRISSI Mariem	Radiologie
BOURROUS Monir	Pédiatrie	OUBAHA Sofia	Physiologie
BOUSKRAOUI Mohammed	Pédiatrie	OULAD SAIAD Mohamed	Chirurgie pédiatrique
CHAFIK Rachid	Traumato- orthopédie	QACIF Hassan	Médecine interne
CHAKOUR Mohamed	Hématologie Biologique	QAMOUSS Youssef	Anesthésie- réanimation
CHELLAK Saliha	Biochimie- chimie	RABBANI Khalid	Chirurgie générale
CHERIF IDRISSI EL GANOUNI Najat	Radiologie	RADA Noureddine	Pédiatrie
CHOULLI Mohamed Khaled	Neuro pharmacologie	RAIS Hanane	Anatomie pathologique
DAHAMI Zakaria	Urologie	RAJI Abdelaziz	Oto-rhino-laryngologie
DRAISS Ghizlane	Pédiatrie	ROCHDI Youssef	Oto-rhino- laryngologie
EL ADIB Ahmed Rhassane	Anesthésie- réanimation	SAMKAOUI Mohamed Abdenasser	Anesthésie- réanimation
EL AMRANI Moulay Driss	Anatomie	SAMLANI Zouhour	Gastro- entérologie
EL ANSARI Nawal	Endocrinologie et maladies métaboliques	SARF Ismail	Urologie
EL BARNI Rachid	Chirurgie- générale	SORAA Nabila	Microbiologie - Virologie
EL BOUCHTI Imane	Rhumatologie	SOUMMANI Abderraouf	Gynécologie- obstétrique
EL BOUIHI Mohamed	Stomatologie et chir maxillo faciale	TASSI Noura	Maladies infectieuses

EL FEZZAZI Redouane	Chirurgie pédiatrique	TAZI Mohamed Illias	Hématologie – clinique
EL HAOURY Hanane	Traumato– orthopédie	YOUNOUS Said	Anesthésie– réanimation
EL HATTAOUI Mustapha	Cardiologie	ZAHLANE Kawtar	Microbiologie – virologie
EL HOUDZI Jamila	Pédiatrie	ZAHLANE Mouna	Médecine interne
EL IDRISSI SLITINE Nadia	Pédiatrie	ZAOUI Sanaa	Pharmacologie
EL KARIMI Saloua	Cardiologie	ZIADI Amra	Anesthésie – réanimation
EL KHAYARI Mina	Réanimation médicale	ZOUHAIR Said	Microbiologie
EL MGHARI TABIB Ghizlane	Endocrinologie et maladies métaboliques	ZYANI Mohammed	Médecine interne
ELFIKRI Abdelghani	Radiologie		

Professeurs Agrégés

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABIR Badreddine	Stomatologie et Chirurgie maxillo faciale	GHAZI Mirieme	Rhumatologie
ADARMOUCH Latifa	Médecine Communautaire (médecine préventive, santé publique et hygiène)	HAZMIRI Fatima Ezzahra	Histologie–embyologie cytogénétique
AIT BATAHAR Salma	Pneumo– phtisiologie	IHBIBANE fatima	Maladies Infectieuses
ARABI Hafid	Médecine physique et réadaptation fonctionnelle	KADDOURI Said	Médecine interne
ARSALANE Adil	Chirurgie Thoracique	LAHKIM Mohammed	Chirurgie générale
BELBACHIR Anass	Anatomie– pathologique	LAKOUICHMI Mohammed	Stomatologie et Chirurgie maxillo faciale
BELHADJ Ayoub	Anesthésie –Réanimation	MARGAD Omar	Traumatologie – orthopédie
BENJELLOUN HARZIMI	Pneumo– phtisiologie	MLIHA TOUATI	Oto–Rhino –

Amine		Mohammed	Laryngologie
BOUZERDA Abdelmajid	Cardiologie	MOUHSINE Abdelilah	Radiologie
BSISS Mohamed Aziz	Biophysique	NADER Youssef	Traumatologie – orthopédie
CHRAA Mohamed	Physiologie	SALAMA Tarik	Chirurgie pédiatrique
DAROUASSI Youssef	Oto-Rhino – Laryngologie	SEDDIKI Rachid	Anesthésie – Réanimation
EL HAOUATI Rachid	Chirurgie Cardio- vasculaire	SERGHINI Issam	Anesthésie – Réanimation
EL KAMOUNI Youssef	Microbiologie Virologie	TOURABI Khalid	Chirurgie réparatrice et plastique
EL KHADER Ahmed	Chirurgie générale	ZARROUKI Youssef	Anesthésie – Réanimation
EL MEZOUARI EI Moustafa	Parasitologie Mycologie	ZEMRAOUI Nadir	Néphrologie
EL OMRANI Abdelhamid	Radiothérapie	ZIDANE Moulay Abdelfettah	Chirurgie thoracique
FAKHRI Anass	Histologie- embyologie cytogénétique		

Professeurs Assistants

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
AABBASSI Bouchra	Pédopsychiatrie	ESSADI Ismail	Oncologie Médicale
ABALLA Najoua	Chirurgie pédiatrique	FASSI FIHRI Mohamed jawad	Chirurgie générale
ABDELFETTAH Youness	Rééducation et Réhabilitation Fonctionnelle	FDIL Naima	Chimie de Coordination Bio- organique
ABDOU Abdessamad	Chiru Cardio vasculaire	FENNANE Hicham	Chirurgie Thoracique
ABOULMAKARIM Siham	Biochimie	HAJHOUI Farouk	Neurochirurgie
ACHKOUN Abdessalam	Anatomie	HAJJI Fouad	Urologie
AIT ERRAMI Adil	Gastro-entérologie	HAMMI Salah Eddine	Médecine interne
AKKA Rachid	Gastro - entérologie	Hammoune Nabil	Radiologie
ALAOUI Hassan	Anesthésie –	HAMRI Asma	Chirurgie Générale

	Réanimation		
ALJALIL Abdelfattah	Oto-rhino-laryngologie	HAZIME Raja	Immunologie
AMINE Abdellah	Cardiologie	JALLAL Hamid	Cardiologie
ARROB Adil	Chirurgie réparatrice et plastique	JANAH Hicham	Pneumo- phtisiologie
ASSERRAJI Mohammed	Néphrologie	LAFFINTI Mahmoud Amine	Psychiatrie
AZAMI Mohamed Amine	Anatomie pathologique	LAHLIMI Fatima Ezzahra	Hématologie clinique
AZIZ Zakaria	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale	LAHMINE Widad	Pédiatrie
BAALLAL Hassan	Neurochirurgie	LALYA Issam	Radiothérapie
BABA Hicham	Chirurgie générale	LAMRANI HANCH Asmae	Microbiologie-virologie
BELARBI Marouane	Néphrologie	LOQMAN Souad	Microbiologie et toxicologie environnementale
BELFQUIH Hatim	Neurochirurgie	MAOUJOURD Omar	Néphrologie
BELGHMAIDI Sarah	Ophtalmologie	MEFTAH Azzelarab	Endocrinologie et maladies métaboliques
BELLASRI Salah	Radiologie	MESSAOUDI Redouane	Ophtalmologie
BENANTAR Lamia	Neurochirurgie	MILOUDI Mohcine	Microbiologie - Virologie
BENCHAFAI Ilias	Oto-rhino-laryngologie	MOUGUI Ahmed	Rhumatologie
BENNAOUI Fatiha	Pédiatrie	NASSIH Houda	Pédiatrie
BENZALIM Meriam	Radiologie	NASSIM SABAH Taoufik	Chirurgie Réparatrice et Plastique
BOUTAKIOUTE Badr	Radiologie	OUEIAGLI NABIH Fadoua	Psychiatrie
CHAHBI Zakaria	Maladies infectieuses	OUMERZOUK Jawad	Neurologie
CHEGGOUR Mouna	Biochimie	RAGGABI Amine	Neurologie
CHETOUI Abdelkhalek	Cardiologie	RAISSI Abderrahim	Hématologie clinique
CHETTATI Mariam	Néphrologie	REBAHI Houssam	Anesthésie - Réanimation
DAMI Abdallah	Médecine Légale	RHARRASSI Isam	Anatomie-patologique
DARFAOUI Mouna	Radiothérapie	RHEZALI Manal	Anesthésie-réanimation
DOUIREK Fouzia	Anesthésie- réanimation	ROUKHSI Redouane	Radiologie
EL- AKHIRI	Oto- rhino- laryngologie	SAHRAOUI Houssam	Anesthésie-réanimation

Mohammed		Eddine	
EL AMIRI My Ahmed	Chimie de Coordination bio-organnique	SALLAHI Hicham	Traumatologie- orthopédie
EL FADLI Mohammed	Oncologie médicale	SAYAGH Sanae	Hématologie
EL FAKIRI Karima	Pédiatrie	SBAAI Mohammed	Parasitologie-mycologie
EL GAMRANI Younes	Gastro-entérologie	SBAI Asma	Informatique
EL HAKKOUNI Awatif	Parasitologie mycologie	SEBBANI Majda	Médecine Communautaire (médecine préventive, santé publique et hygiène)
EL JADI Hamza	Endocrinologie et maladies métaboliques	SIRBOU Rachid	Médecine d'urgence et de catastrophe
EL KHASSOUI Amine	Chirurgie pédiatrique	SLIOUI Badr	Radiologie
ELATIQUI Oumkeltoum	Chirurgie réparatrice et plastique	WARDA Karima	Microbiologie
ELBAZ Meriem	Pédiatrie	YAHYAOUI Hicham	Hématologie
ELJAMILI Mohammed	Cardiologie	ZBITOU Mohamed Anas	Cardiologie
ELOUARDI Youssef	Anesthésie réanimation	ZOUITA Btissam	Radiologie
EL-QADIRY Rabiyy	Pédiatrie	ZOUIZRA Zahira	Chirurgie Cardio- vasculaire

LISTE ARRÊTÉE LE 23/06/2021



DEDICACES



À l'Académie Hassan II des Sciences et Techniques :

J'ai eu l'honneur de faire partie des lauréats du concours général. Votre accompagnement et vos encouragements m'ont servi de motivation m'incitant à persévérer durant mon parcours. Votre générosité m'a permis de m'investir pleinement dans la réussite de mes études, m'a inspirée pour aider les autres et ainsi, redonner à la communauté. Je vous remercie du plus profond de mon cœur d'avoir investi dans mon avenir, je ferai en sorte de faire de mon mieux pour atteindre mes objectifs académiques et professionnels en espérant rester toujours à la hauteur de vos attentes.

À mes très chers parents :

Aucune dédicace ne pourrait exprimer la profondeur des sentiments que j'éprouve pour vous, vos sacrifices innombrables et votre dévouement firent pour moi un encouragement. Vos prières et votre bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Je vous dédie ce travail qui concrétise votre rêve le plus cher et qui n'est que le fruit de vos conseils et de vos encouragements.

Puisse Dieu, tout puissant vous combler de santé, de bonheur et vous procurer une longue vie.

À mes chers frères Abdallah et Ismaïl et ma sœur Hajjar :

L'amour que je vous porte est sans égal. Je vous souhaite une vie pleine de bonheur, beaucoup de réussite. Que Dieu vous protège et vous assure une bonne santé et une heureuse vie.

Qu'Allah nous garde à jamais unis dans la joie et la prospérité.

À la mémoire de mes grands parents

À toute ma grande famille : mes oncles et mes tantes, cousins et cousines,

Aucune dédicace ne saurait vous témoigner l'affection et la gratitude que je vous porte. Puisse Dieu vous procurer bonheur et prospérité.

À la famille Rabi Andaloussi :

Merci de m'avoir traitée comme votre propre fille. Je me suis toujours sentie chez moi en étant avec vous et je vous serais toujours reconnaissante.

*Tata Hind et oncle Mohammed, je vous souhaite une longue et heureuse vie. Que vous puissiez voir vos enfants heureux et épanouis.
Jad et Ghali, je vous souhaite tout le bonheur du monde, et beaucoup de réussite dans vos parcours respectifs.*

To the best Thelma a Louise can ask for, Jihane Rabi:

Thank you for the inside jokes, the occasional pranks and the constant support. You have always understood with no need for words, stuck around when things got hard and showed up with no questions asked. This may mark the end of a chapter but the era of the Ts still goes on. Here's to being one step closer to reaching the finish line, here's to all the laughs, the tears, and the priceless memories we have made in the past 6 years. I dedicate this work to you knowing full well that words cannot express the extent of my gratitude to you. I love you dear friend.

To my dear Rim Marcel:

You have been there through all the ups and downs, you've welcomed me with open arms, consistently encouraged me with actions that left me with no words. And through your perseverance, you've taught me to work hard and complain less, to enjoy the process, and most importantly, to value the destination. Your companionship made me a better person, and has given me a fresh opportunity to grow. You are an example of a strong independent woman that I constantly look up to, a friend I know I could always rely on, and an individual with so much to give to this world, be it intellectually or humanistically. May you always remain as focused and as kind as you are, and may you reach everything you have dreamed of and worked hard to achieve. I love you my friend.

To my lifelong friend, Abrar Zainal :

You've believed in me way before I started believing in myself, I've found growth in our conversations, inspiration in your accomplishments, and motivation in your determination. You are one of the few genuine people that called me out when I needed it and encouraged me when I earned it, your honesty and kindness have shaped my path and sharpened my edges. Thank you for being the inspiring woman that you are and thank you for being present even in your absence, I know with certainty that no matter how much life sets us apart, you'll always be the part of me I'm most proud of.

À mes amies de parcours, Ichrak Rajil, Nouhaïla Samrakandi et Laïla Raafa :

À tous les moments qu'on a passé ensemble à l'hôpital et ailleurs, à tous nos souvenirs.

Ichrak, nos fous-rires et notre taquinerie ont su faire face à toutes les épreuves imposées par ces années d'études. Ton amitié m'est très précieuse, merci pour tout ce que tu m'as apportée (toi et ton regard perçant).

Nouhaïla, ta forte personnalité, ta gentillesse et ta positivité contagieuse font de toi une personne pour qui je garderai beaucoup d'estime. Malgré nos différences, tu as toujours fait preuve d'une magnanimité sans égal.

Laïla, tu es notre Monica, ton sérieux et ton calme ont gardé notre groupe soudé. Un grand merci pour les souvenirs agréables, ton soutien inconditionnel et tes encouragements.

Je vous souhaite toutes bon courage pour la suite.

À ma chère Hajar Baali :

En souvenir des moments merveilleux que nous avons passés, surtout au cours des gardes de pédiatrie. J'ai trouvé en toi le refuge de mes secrets, je me suis confiée à toi sans avoir peur d'être jugée. Je te souhaite beaucoup de réussite et de bonheur, autant dans ta vie professionnelle que privée

« Hasta el infinito y más allá ».

À mes amies: Marwa Saïf El Islam, Meriem Gallal, Chaïmae Dahrabou, Ouafa ElHadri, Ihssan Doukkali, Imane Azenkod, Sarah Slïmani.

Je vous dédie ce travail en témoignage de ma grande affection et en souvenir des agréables moments passés ensemble.

À une femme exceptionnelle et une militante exemplaire,
Professeur Hasna Lakhal :

Vous avez réussi à m'inspirer et à me donner confiance en l'avenir. 8 années sont passées, mais je ne vous oublie jamais chère professeur. En témoignage de tous les efforts déployés non seulement à enseigner toutes ces générations mais aussi à faire face à l'oppression dans toutes ses formes, je vous dédie ce travail pour vous remercier du fond du cœur. Je vous souhaite plein de belles choses. Vous méritez ce qu'il y a de meilleur au monde.

À notre Cher maître
Professeur RAISSI Abderrahim
Professeur d'Hématologie clinique
Hôpital militaire Avicenne de Marrakech

Vos remarques toujours précises, associées à votre sagesse ont été importantes pour moi. J'ai pour vous cher maître, l'estime et l'admiration qu'imposent votre sérieux, votre dynamisme et votre gentillesse sans limite.

Les mots me manquent pour vous exprimer toute ma profonde gratitude. Veuillez toutefois accepter, cher Maître, dans ce travail mes sincères remerciements et toute la reconnaissance que je vous témoigne.

À toute l'équipe du laboratoire d'Hématologie de l'Hôpital
Militaire de Marrakech, et en particulier à Mr. Razine et à
Dr. Hind Zrikem.

À tous mes collègues et confrères de la faculté de médecine de
Marrakech

À tous les malades... Je leur souhaite prompt rétablissement

À tous ceux qui me sont chers et que j'ai involontairement
omis de citer



REMERCIEMENTS



À notre maître et Présidente de thèse

Professeur CHELLAK Salíha

Professeur de l'enseignement supérieur de Biochimie-Chimie

Hôpital militaire Avicenne de Marrakech

Nous vous remercions de l'honneur que vous nous avez fait en acceptant de présider notre jury. Nous vous remercions de votre enseignement et nous vous sommes très reconnaissants de bien vouloir porter intérêt à ce travail. Nous avons bénéficié, au cours de nos études, de votre enseignement clair et précis. Votre gentillesse, vos qualités humaines, votre modestie n'ont rien d'égal que votre compétence. Veuillez trouver ici, Professeur, l'expression de nos sincères remerciements.

À notre maître et rapporteur de thèse

Professeur CHAKOUR Mohamed

Professeur de l'enseignement supérieur d'Hématologie

biologique

Hôpital militaire Avicenne de Marrakech

Vous m'avez fait un grand honneur en acceptant de me confier ce travail. Je vous remercie de votre patience, votre disponibilité, de vos encouragements et de vos précieux conseils dans la réalisation de ce travail. Vos qualités professionnelles et humaines me servent d'exemple. Je suis très fière d'avoir appris auprès de vous et j'espère avoir été à la hauteur de votre attente. Veuillez croire à l'expression de ma profonde reconnaissance et de mon grand respect.

À notre maître et juge de thèse
Professeur AIT AMEUR Mustapha
Professeur de l'enseignement supérieur d'hématologie
biologique
Hôpital militaire Avicenne de Marrakech

Vous nous avez fait l'honneur d'accepter de faire part de cet honorable jury et nous vous remercions de la confiance que vous avez bien voulu nous accorder. Votre présence constitue pour nous un grand honneur. Nous vous prions d'accepter le témoignage de notre reconnaissance et l'assurance de nos sentiments respectueux.



ABBREVIATIONS



Liste des abréviations

Aa	:	Acide aminé
AB	:	Actin binding
ABL	:	Abelson
ACA	:	Anomalies cytogénétiques additionnelles
ADN	:	Acide désoxyribonucléique
ADNc	:	Acide désoxyribonucléique complémentaire
ADP	:	Adénopathies
AEG	:	Altération de l'état général
Akt	:	Alpha serine/threonine-protein kinase
AOMI	:	Artériopathie oblitérante du membre inférieur
ARN	:	Acide ribonucléique
ARNm	:	Acide ribonucléique messenger
ATP	:	Adénosine triphosphate
AVC	:	Accident vasculaire cérébral
Bad	:	BCL associated death
Bax	:	BCL2 Associated X
Bcl2	:	B-cell lymphoma 2
Bcl-xL	:	B-cell lymphoma-extra large
BCR	:	Breakpoint Cluster Region
CHU	:	Centre hospitalier universitaire
CNOPS	:	Caisse Nationale des Organismes de Prévoyance Sociale
CRKL	:	CRK-oncogene-like protein
Ct	:	Cycle threshold
DASISION	:	Dasatinib Versus Imatinib Study in Treatment-Naïve CML Patients
DB	:	DNA binding
ddPCR	:	Digital droplet PCR
dNTP	:	Nucléoside triphosphate
EDTA	:	Acide éthylène diamine tétra-acétique
ELN	:	European Leukemia Network
ELTS	:	European Treatment Outcome Study Long-Term Survival
EMA	:	European Medicines Agency
ENESTnd	:	Evaluating Nilotinib Efficacy and Safety in Clinical Trials-Newly Diagnosed Patients
ERK/MAPK	:	(Extracellular signal-regulated kinase/mitogen-activated protein kinase
EUTOS	:	European Treatment and Outcome Study of CML
FAK	:	Focal adhesion kinase

FAR	:	Forces Armées Royales
FC	:	Facteurs de conversion
FDA	:	Food and Drug Administration
FISH	:	Fluorescence in situ hybridization
GAP	:	GTPase activating protein
GDP	:	Guanosine diphosphate
GDP	:	Guanosine diphosphate
GIMEMA	:	Gruppo Italiano Malattie EMatologiche dell'Adulto
GRB-2	:	Growth factor receptor-boundprotein 2
GTP	:	Guanosine triphosphate
GUSB	:	Glucuronidase beta
HLA	:	Human leukocyte antigen
HMA	:	Hôpital militaire Avicenne
hOCT1	:	Human organic cation transporter 1
HPM	:	Hépatomégalie
HTA	:	Hypertension artérielle
HTAP	:	Hypertension artérielle pulmonaire
IFN-α	:	Interféron-alpha
IRIS	:	International Randomized Study of Interferon and STI571
IS	:	International scale
ITK	:	Inhibiteurs de la tyrosine kinase
JAK	:	Janus kinases
L.O.D	:	Limit of detection
L.O.Q	:	Limit of quantification
LAL	:	Leucémies aiguës lymphoblastiques
LMC	:	Leucémie myéloïde chronique
LY	:	Réactif de lyse
M-BCR	:	Major BCR
m-BCR	:	Minor BCR
Mcl1	:	Myeloid Cell Leukemia 1
MDR1	:	Multi drug resistance
MEK2	:	Mitogen-activated protein kinase kinase
mTOR	:	Mammalian target of rapamycin
Myr	:	Groupement myristoyl
NCCN	:	National Comprehensive Cancer Network
NFKB	:	Nuclear factor kappa B
NFS	:	Numération formule sanguine

NGS	:	Next Génération Sequencing
NK	:	Natural killer
NLS	:	Nuclear Localisation Signal
OMS	:	Organisation mondiale de la Santé
PA	:	Phase d'accélération
PB	:	Phase blastique
PC	:	Phase chronique
Ph1	:	Chromosome Philadelphie
PI3K	:	Phosphoinositide 3-kinase
PK	:	Protéinase K
PNB	:	Polynucléaires basophiles
PNE	:	Polynucléaires éosinophiles
PNN	:	Polynucléaires neutrophiles
Rac	:	Rho family of GTPases
RAF-1	:	Rapidly Accelerated Fibrosarcoma
Ras	:	Rat sarcoma virus
RCyC	:	Réponse cytogénétique complète
RCyM	:	Réponse cytogénétique majeure
RCyP	:	Réponse cytogénétique partielle
RHC	:	Réponse hématologique complète
RMM	:	Réponse moléculaire majeure
RMP	:	Réponses moléculaires profondes
RMPr	:	Réponse moléculaire précoce
RQ-PCR	:	Real-Time Quantitative Polymerase Chain Reaction
RST	:	Rémission sans traitement
RT-PCR	:	Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction
SH	:	SRC homology
Sos	:	Son Of Sevenless
SPM	:	Splénomégalie
SSE	:	Survie sans évènement
STAT	:	Signal Transducers and Activators of Transcription
TxRd	:	Fluorophore Texas Red
μ-BCR	:	Micro-BCR



FIGURES & TABLEAUX



Liste des figures

- Figure 1** : Automate Sysmex XT- 4000i utilisé pour effectuer la NFS dans le laboratoire de l'hématologie HMA
- Figure 2** : Les étapes de préparation de l'échantillon pour le test GeneXpert dans le laboratoire d'hématologie HMA
- Figure 3** : Image d'automate GeneXpert GX-I de service d'hématologie de l'HMA de Marrakech
- Figure 4** : Exemple de courbe tracée par le logiciel GeneXpert
- Figure 5** : Exemple de rapport du test GeneXpert
- Figure 6** : Répartition des patients selon les tranches d'âge
- Figure 7** : Répartition des patients selon le sexe
- Figure 8** : Répartition des patients selon les tranches d'âge
- Figure 9** : Circonstances de découverte de la LMC dans notre série
- Figure 10** : Caractéristiques de l'étude moléculaire chez les patients étudiés
- Figure 11** : Répartition des patients selon les phases de la maladie
- Figure 12** : Répartition des patients selon leur score pronostique (Score ELTS)
- Figure 13** : Cinétique de décroissance de la médiane du taux du transcrit BCR-ABL1 chez les patients dans notre série
- Figure 14** : Profil montrant une décroissance rapide du taux du transcrit BCR-ABL1 chez un patient dans notre série
- Figure 15** : Profil montrant une décroissance rapide du taux du transcrit BCR-ABL1 chez un patient dans notre série.

Figure 16 : Profil montrant une décroissance lente du taux de transcrit BCR-ABL chez une patiente dans notre série

Figure 17 : Profil montrant une fluctuation du taux de transcrit BCR-ABL chez un patient dans notre série

Figure 18 : Cinétique en faveur d'une résistance primaire chez un patient dans notre série

Figure 19 : Cinétique en faveur d'une résistance primaire chez un patient dans notre série

Figure 20 : Cinétique en faveur d'une résistance primaire chez un patient dans notre série

Figure 21 : Fréquences des réponses moléculaires profondes obtenues au cours du traitement par imatinib

Figure 22 : Fréquences des RMM obtenues au cours du traitement par imatinib

Figure 23 : RMM à 12 mois en fonction de la réponse précoce à 3 mois

Figure 24 : RMM à 18 mois en fonction de la réponse précoce à 3 mois

Figure 25 : RMM à 12 mois en fonction de la réponse précoce à 6 mois

Figure 26 : RMM à 18 mois en fonction de la réponse précoce à 6 mois

Figure 27 : Probabilité de survie globale et SSE chez les patients dans notre série

Figure 28 : Chromosome Ph1 résultat de la translocation réciproque t(9;22)

Figure 29 : Gène ABL

Figure 30 : Structure de la protéine ABL

Figure 31 : Structure de la protéine BCR

Figure 32 : Représentation schématique des points de cassure entre BCR et AB

Figure 33 : Principales voies de signalisation activées par l'oncoprotéine BCR-ABL et leur effet

Figure 34 : Caryotype médullaire montrant un chromosome 22 raccourcis correspondant au chromosome Philadelphie et un chromosome 9 plus long

Figure 35 : Confrontation entre les données du caryotype et de la FISH

Figure 36 : Représentation tridimensionnelle du site actif de c-abl et action de l'imatinib sur son stabilisation

Figure 37 : Mutations du domaine kinase du BCR-ABL

Figure 38 : Types de réponses moléculaires

Figure 39 : Les amorces RT-PCR et les sondes BCR-ABL et ABL

Liste des tableaux

Tableau I : Dilution pour le test GeneXpert selon le protocole du service d'hématologie de l'HMA Marrakech

Tableau II : Les résultats possibles du test GeneXpert et leur interprétation selon les instructions du fabricant

Tableau III : Caractéristiques de l'hémogramme Chez nos patients

Tableau IV : Distribution des patients en fonction des données du myélogramme

Tableau V : Caractéristiques des réponses moléculaires au traitement dans notre série

Tableau VI : Les critères définissant la phase accélérée et blastique selon l'OMS 2016

Tableau VII : Calcul des scores de risque

Tableau VIII: Définition des réponses hématologique, cytogénétique et aussi moléculaire selon les recommandations de l'ELN 2009

Tableau IX: Définition des réponses initiales au traitement par l'imatinib d'après ELN 2020

Tableau X : La distribution selon le sexe dans différentes séries

Tableau XI: Les résultats de différentes séries concernant l'âge de diagnostic

Tableau XII : Mode de révélation le plus fréquent dans différentes séries

Tableau XIII: Comparatif des données de l'hémogramme dans plusieurs séries

Tableau XIV : Les phases de la maladie lors du diagnostic selon les différentes séries

Tableau XV : Comparaison des résultats du caryotype selon les différentes séries

Tableau XVI: Fréquences des différents variant du transcrit BCR-ABL1 retrouvées dans différentes études

Tableau XVII : Résultat de l'évaluation pronostique par le score ELTS dans différentes séries

Tableau XVIII : Traitement de première ligne selon les différentes séries

Tableau XIX : L'inhibiteur de tyrosine kinase recommandé selon le type de mutation selon ELN 2020

Tableau XX : Conditions d'éligibilité à l'arrêt du traitement selon ELN 2020

Tableau XXI : Le taux de RMM rapporté dans différentes séries

Tableau XXII : Comparaison des taux de réponse sous imatinib dans les différentes séries



PLAN



INTRODUCTION	01
PATIENTS ET MÉTHODES	04
I. Patients	05
1. Critères d'inclusion	05
2. Critères d'exclusion	05
II. Méthodes	05
1. Type et durée de l'étude	05
2. Lieu de l'étude	05
3. Recueil des données	06
4. Protocole du test GeneXpert utilisé dans l'étude moléculaire	06
5. Saisie et analyse des données	16
RÉSULTATS	17
I. Profil démographique	18
1. Sexe	18
2. Âge	19
3. Couverture sanitaire	19
II. Diagnostic clinique	20
1. Antécédents	20
2. Circonstances de découverte et tableau clinique	20
III. Diagnostic biologique	21
1. Hémogramme	21
2. Myélogramme	22
3. Caryotype médullaire	23
4. Biologie moléculaire	23
IV. Phase de la maladie	24
V. Score pronostique	24
VI. Prise en charge thérapeutique	25
1. Traitement non spécifique	25
2. Traitement ciblé	26
3. Arrêt du traitement	27
VII. Suivi moléculaire	27
1. Résultats de la quantification et cinétique du transcrit BCR-ABL1	27
2. Résultats de l'évaluation qualitative de la réponse moléculaire	34

3. Déterminants de la réponse moléculaire majeure	38
4. Profil des échecs	41
5. Survies	41
DISCUSSION	43
<u>Chapitre 1 : Rappels</u>	44
I. Fréquence/incidence	45
II. Facteurs favorisants	45
III. Oncogénèse	46
1. Chromosome Philadelphie (Ph1)	46
2. Mécanisme moléculaire	47
IV. Diagnostic positif	54
1. Circonstances de découverte et tableau clinique	54
2. Diagnostic biologique	54
V. Evolution	58
VI. Evaluation pronostique au moment du diagnostic	59
VII. Prise en charge thérapeutique	61
1. Objectifs thérapeutiques	61
2. Moyens	61
3. Suivi des réponses thérapeutiques	68
<u>Chapitre 2 : Discussion des résultats</u>	73
I. Les données épidémiologiques	74
1. Sexe	74
2. Âge	75
3. Couverture sanitaire	75
II. Diagnostic clinique	76
1. Antécédents	76
2. Circonstances de découverte et tableau clinique	77
III. Diagnostic biologique	78
1. Anomalies hématologiques orientant le diagnostic	78
2. Confirmation du diagnostic	80
IV. Evaluation pronostique au moment du diagnostic	84
V. Stratégie thérapeutique	85
1. Traitement de première ligne	85
2. Traitement de deuxième ligne	87

3. Traitement de troisième ligne	88
4. Profil de toxicité des ITK	88
5. Arrêt de traitement	89
VI. Suivi moléculaire	91
1. Moyens	91
2. Evaluation des réponses moléculaires	94
3. Déterminants des réponses moléculaires majeurs	99
4. Déterminants des échecs et des survies	105
RECOMMANDATIONS	109
CONCLUSION	111
RÉSUMÉS	113
ANNEXES	120
BIBLIOGRAPHIE	128



INTRODUCTION



La leucémie myéloïde chronique (LMC) est une hémopathie maligne rare appartenant au groupe de néoplasies myéloprolifératives [1]. Elle constitue la première maladie associée à une anomalie chromosomique : le chromosome Philadelphie (Ph1). Ce dernier résulte d'une translocation réciproque t (22q ; 9q) entre les bras longs des chromosomes 9 et 22 qui conduit à la formation d'un gène de fusion *Breakpoint Cluster Region-Abelson Murine Leukemia* (BCR-ABL) puis à la traduction de la protéine de fusion BCR-ABL possédant une forte activité tyrosine kinase à l'origine de la transformation leucémique de la maladie [2].

La LMC représente ainsi un modèle de l'oncogénèse, l'identification de son marqueur moléculaire BCR-ABL a permis non seulement de développer une thérapie ciblée par les inhibiteurs de la tyrosine kinase (ITK), mais aussi de mettre en place des techniques plus performantes pour assurer son diagnostic et son suivi.

De ce fait, des nouvelles propositions de prise en charge des patients ont été élaborées [3,4] ; suite à leur sensibilité faible, les tests cytogénétiques ne sont plus considérés comme des méthodes de référence pour le diagnostic et le suivi de la LMC, cédant ainsi place aux tests biomoléculaires réalisés à partir du sang périphérique et dotés d'une haute sensibilité dans la recherche qualitative et la mesure quantitative des transcrits BCR-ABL1 [5].

Actuellement, la *reverse transcription polymerase chain reaction* (RT-PCR) qualitative multiplexe est recommandée au diagnostic afin de détecter les différents réarrangements BCR-ABL1 possibles et affirmer le diagnostic. Quant à la *real time quantitative polymerase chain reaction* (RQ-PCR), elle quantifie in vitro les transcrits de fusion BCR-ABL1 au diagnostic de manière à servir de référence pour l'évaluation de la réponse au traitement et permet au suivi, de définir des valeurs de réponse moléculaire communes à tous les laboratoires [3,4].

Néanmoins, la RQ-PCR n'est pas dépourvue des inconvénients ; sa démarche laborieuse, les difficultés de standardisation des résultats ainsi que son coût ont nécessité le recours à l'automatisation. C'est ainsi que la technique du GeneXpert a été introduite comme alternative

robuste et reproductible permettant une détection quantitative plus rapide, moins coûteuse et présentant une sensibilité dans l'intervalle nécessaire à la prise de décisions cliniques [6].

En effet, c'est en ayant recours au test GeneXpert qu'il est devenu plus facile de vérifier l'efficacité du traitement, de mettre en évidence une mauvaise compliance ou une résistance au traitement, et d'initier par la suite un changement d'ITK et une recherche du mécanisme de résistance, plus particulièrement une recherche de mutation du domaine tyrosine kinase de BCR-ABL par les techniques de la biologie moléculaire, notamment le séquençage haut débit : *next generation sequencing* (NGS) [4].

Cependant, dans notre pays, l'accès à ces moyens de diagnostic et de suivi moléculaire de la LMC reste à ce jour très insuffisant et se limite à un nombre restreint des centres hospitaliers, entravant ainsi l'instauration d'une prise en charge adéquate et conforme aux recommandations et exposant les patients au risque de progression de la maladie vers les phases avancées qui sont le plus souvent fatales.

Nous avons voulu donc à travers ce travail, mettre en valeur l'apport des techniques de biologie moléculaire, notamment la technique du GeneXpert, dans le diagnostic et le suivi de la LMC afin d'élaborer par la suite, des recommandations adaptées à notre contexte qui vont servir pour l'application optimale des techniques de biologie moléculaire et permettre non seulement l'amélioration de la stratégie de prise en charge de ces malades, mais aussi la réduction la charge socio-économique de la maladie.



PATIENTS ET METHODES



I. Patients :

1. Critères d'inclusion :

Notre étude concernait 10 patients référés par le service d'hématologie clinique au laboratoire d'hématologie de l'hôpital militaire Avicenne (HMA) – Marrakech pour le diagnostic et le suivi biologiques de leur LMC, chez qui le diagnostic a été confirmé par biologie moléculaire ou par cytogénétique et disposant d'un suivi réalisé par la technique PCR quantitative du transcrit BCR-ABL.

2. Critères d'exclusion :

Patients dont les données anamnestiques et biologiques étaient incomplètes et chez qui le suivi ne reposait pas sur la biologie moléculaire.

II. Méthodes :

1. Type et durée de l'étude :

Nous avons mené une étude descriptive, observationnelle à recueil rétrospectif étalée sur une période de 6 ans (entre Avril 2015 et Février 2021).

2. Lieu de l'étude :

Au sein des laboratoires d'analyses médicales de l'HMA-Marrakech se trouve le laboratoire d'hématologie qui se compose de trois unités : cytologie, hémostase et biologie moléculaire. La paillasse de cytologie est équipée de trois automates (Sysmex XT-4000i, Sysmex XT-1800i et Sysmex XS-1000i), celle de l'hémostase équipée de deux automates (Sysmex CA-600) et d'une centrifugeuse alors que la paillasse de biologie moléculaire est équipée d'un analyseur Cepheid|GeneXpert®.

Le personnel se compose d'un professeur d'enseignement supérieur (chef de service), un professeur assistant, une équipe de médecins résidents en formation et une équipe de techniciens.

L'activité démarre à 8 heures du matin. Les techniciens procèdent à la réception, la vérification du respect de la phase pré-analytique et à la centrifugation des prélèvements. Avant la réalisation des tests, un contrôle de qualité interne est obligatoire pour assurer une bonne fiabilité des résultats.

Notre étude s'est déroulée au niveau de l'unité de biologie moléculaire, recevant les tubes provenant du service d'hémato-oncologie médicale et aussi de la salle des prélèvements pour les patients non hospitalisés.

3. Recueil des données :

Le recueil des données cliniques s'est fait à partir des dossiers médicaux archivés au service d'hématologie clinique, celui des données biologiques à partir d'une base de données informatique du laboratoire d'hématologie.

Toutes les données ont été exploitées grâce à une fiche d'exploitation (Annexe 1) précisant les aspects sociodémographiques, cliniques, et biologiques de chaque patient, tout en se focalisant sur les informations concernant le diagnostic et le suivi par biologie moléculaire et leur impact sur la prise en charge.

4. Protocole du test GeneXpert utilisé dans l'étude moléculaire :

4.1 Phase pré-analytique :

a Le prélèvement sanguin :

Il s'agit d'un sang veineux périphérique, prélevé sur tube EDTA. La conservation se faisait à 4°C pendant 72 heures maximum.

**Apport de la biologie moléculaire dans le diagnostic et le suivi de la leucémie myéloïde chronique :
expérience du laboratoire d'hématologie**

En premier lieu, une numération formule sanguine (NFS) est réalisée afin de déterminer la numération des leucocytes. Les tubes sont analysés par l'automate SYSMEX XT 4000i (Figure 1).

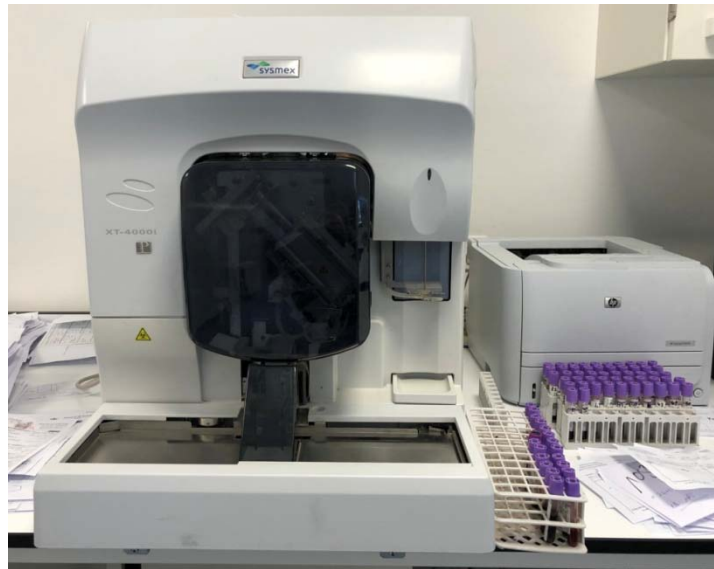


Figure 1 : Automate Sysmex XT- 4000i utilisé pour effectuer la NFS dans le laboratoire de
l'hématologie HMA

Ensuite, une dilution en fonction de la numération des leucocytes est effectuée au niveau du prélèvement sanguin réservé au test et ceci selon le protocole du service (Tableau I).

Tableau I : Dilution pour le test GeneXpert selon le protocole du service d'hématologie de l'HMA
Marrakech

Numération des leucocytes	Quantité du sang requise pour le test
<16G/L	04ml
16 à 70G/L	50µl
70 à 200G/L	20µl
200 à 400G/L	10µl
>400G/L	2µl

4.2 Réactifs et instruments (Annexe 2) :

Le kit du test Xpert BCR-ABL Ultra utilisé contient :

- Réactifs Xpert BCR-ABL Ultra :
 - Protéinase K (PK) : elle permet l'extraction des acides nucléiques en assurant l'inactivation des nucléases (DNases, RNases), elle digère également les protéines et enlève les contaminants de la préparation d'acides nucléiques.
 - Réactif de lyse (LY) : le chlorure de guanidine assure la dénaturation des protéines.
 - Réactif de lavage : le thiocyanate de guanidine dénature les protéines, il est aussi utilisé pour inhiber les nucléases qui pourraient endommager l'extrait.
- Cartouche du test Xpert BCR-ABL Ultra avec des tubes réactionnels intégrés :
 - Billes 1, 2, 3 et 4 (lyophilisées), chacune contient :
 - L'ADN polymérase (Taq polymérase), résistante à la chaleur, elle permet l'amplification de l'ADN cible.
 - Le nucléoside triphosphate (dNTP) nécessaires à la construction de nouveaux brins d'ADN.
 - Le chlorure de magnésium (MgCl₂) qui agit comme co-facteur pour l'activité de la Taq polymérase participant à l'incorporation des dNTPs lors de la polymérisation.
 - Le tampon HEPES permettant le maintien d'un pH physiologique en dépit de changement de température, permettant ainsi de préserver l'activité des différentes enzymes.
 - Réactif de rinçage et réactif d'élution permettant l'isolement des acides nucléiques et leur séparation des protéines, des débris cellulaires et toutes autres impuretés présentes dans le lysat.

- La reverse transcriptase, des amorces spécifiques et des sondes marquées.
- La cartouche comprenait également un contrôle endogène (ABL) qui normalise la cible BCR-ABL et assure qu'une quantité suffisante d'échantillon est utilisée dans le test et un contrôle de vérification de la sonde dont le rôle est de confirmer la réhydratation des réactifs, le remplissage des tubes de PCR dans la cartouche, l'intégrité de la sonde et la stabilité du colorant.

La réalisation du test nécessite également :

- Éthanol absolu de qualité réactif
- Agitateur à Vortex
- Microcentrifugeuse (1 000 x g minimum)
- Pipettes et embouts de pipettes à filtre anti-aérosol
- Tubes coniques de 50mL
- Système d'instrument GeneXpert Dx et logiciel GeneXpert (version 4.4a-4.8),
- Ordinateur
- Lecteur de code-barres
- Manuel d'utilisation
- Imprimante.

4.3 Préparation de l'échantillon :

Vingt minutes avant le démarrage du test, l'échantillon du sang ainsi que les différents réactifs sont retirés de leur lieu de stockage réfrigéré afin de s'équilibrer à température ambiante. Le réactif de la PK est ensuite mis brièvement dans une microcentrifugeuse.

Ensuite, le pipetage de 100 µL de PK est réalisé avec mise dans le fond d'un nouveau tube conique de 50 mL (Figure 2 A, B).

Après avoir mélangé l'échantillon de sang en inversant le tube de prélèvement 8 fois, un pipetage de la quantité du sang requise pour le test est réalisé avec ajout par la suite au tube contenant déjà la PK (Figure 2 C, D).

L'échantillon est mélangé ensuite dans un agitateur à vortex de façon continue et à vitesse maximale pendant 3 secondes, puis incubé à température ambiante pendant 1 minute (Figure 2 E).

L'étape suivante consistait à ajouter dans le même tube 2,5 mL de réactif LY (Figure 2 F).

L'échantillon est mélangé à nouveau dans agitateur à vortex pendant 10 secondes et puis incubé à température ambiante pendant 5 minutes. L'échantillon est mélangé encore une fois en tapotant 10 fois le fond du tube (Figure 2 G).

Le transfert de 1mL du lysat préparé dans un nouveau tube conique de 50 mL est effectué, auquel est ajouté 1,5mL du réactif LY (Figure 2 H, I).

L'échantillon est mélangé de nouveau dans un agitateur à vortex pendant 10 secondes puis incubé à température ambiante pendant 10 minutes.

Dans le même tube conique, 2 mL d'éthanol absolu sont ajoutés, puis l'échantillon est mélangé dans l'agitateur à vortex pendant 10 secondes et mis de côté (Figure 2 J).

Enfin, les réactifs PK et LY restants sont éliminés dans une poubelle destinée aux produits toxiques.

4.4 Préparation de la cartouche :

La cartouche est retirée de l'emballage en carton puis examinée afin de vérifier qu'elle n'est pas endommagée.

Le couvercle de la cartouche est ensuite ouvert pour transférer la totalité du contenu de l'ampoule du réactif de lavage dans la chambre réservée à ce réactif (Figure 2 K).

La totalité de l'échantillon préparé est pipetée afin de le transférer dans la chambre pour échantillon (Figure 2 L).

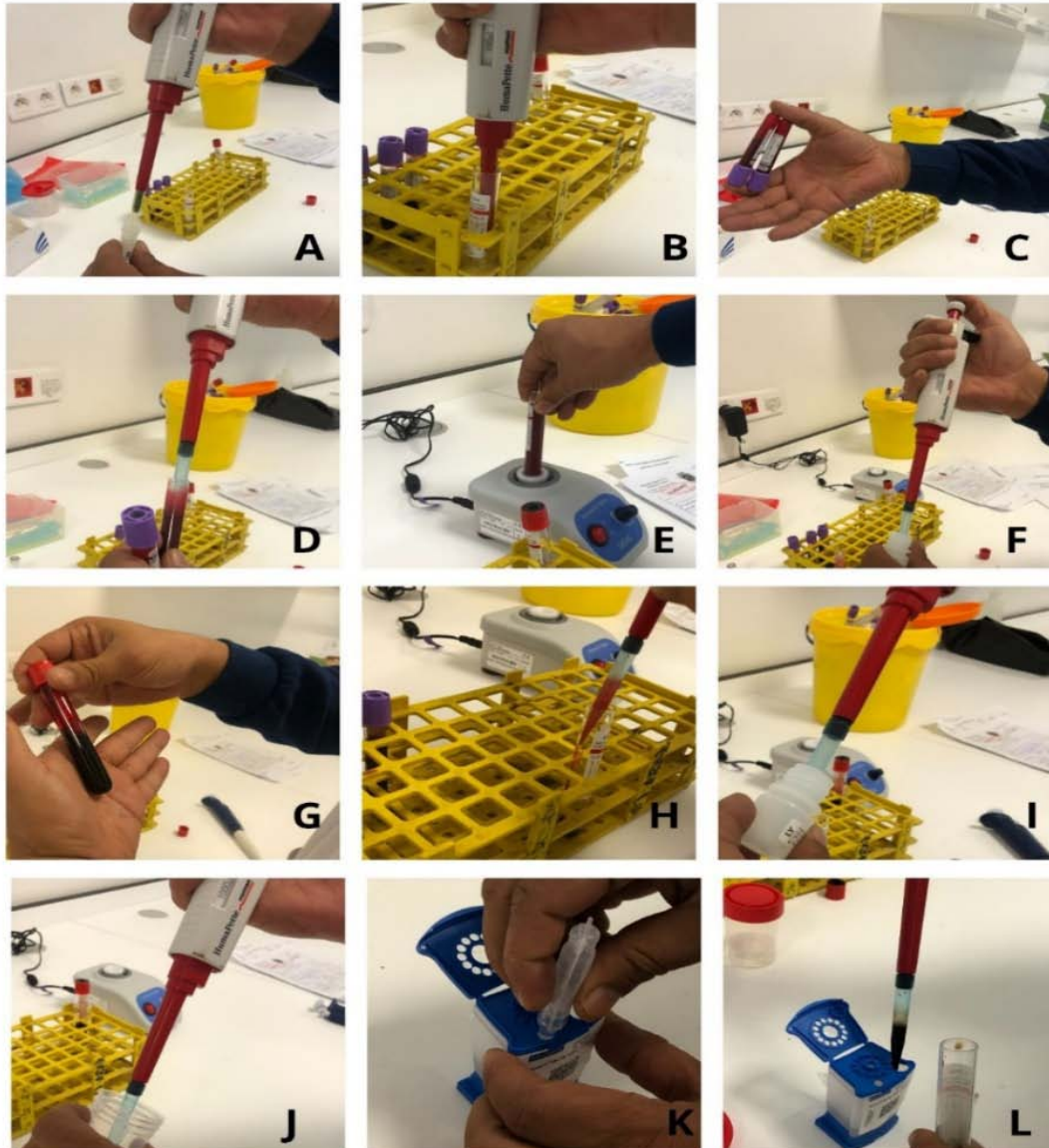


Figure 2 : Les étapes de préparation de l'échantillon pour le test GeneXpert dans le laboratoire d'hématologie HMA

A : pipetage de la PK. **B** : transfert de PK au niveau du tube. **C** : mélange de l'échantillon de sang. **D** : pipetage du sang. **E** : mélanger au vortex. **F** : réactif LY. **G** : tapotement du fond de tube pour mélanger. **H** : transfert de 1mL du lysat à un nouveau tube. **I** : ajout du réactif de lyse. **J** : pipetage de l'éthanol. **K** : ajout du réactif de lavage au niveau de la cartouche. **L** : ajout de l'échantillon préparé dans la grande ouverture de la cartouche.

4.5 Phase analytique :

L'automate GeneXpert BCR-ABL Ultra modèle GX-I développé par la société Cepheid (Figure 3) est utilisé pour l'analyse des échantillons.



Figure 3 : Image d'automate GeneXpert GX-I de service d'hématologie de l'HMA de Marrakech

Le test est démarré dans les 60 minutes suivant l'ajout de l'échantillon préparé et du réactif de lavage dans la cartouche, il dure en moyenne 1h 50 mn.

L'instrument GeneXpert est mis sous tension, l'ordinateur était par la suite allumé avec démarrage automatique du logiciel GeneXpert, après saisie du mot de passe et du nom de l'utilisateur la connexion au logiciel est établie. La fenêtre "Créer un test" (*Create test*) s'affiche après avoir cliqué sur « Créer un test », la saisie du n° ID du patient est effectuée avec scan du n° ID de l'échantillon.

À l'aide d'un lecteur code-barres la lecture de code-barres sur la cartouche du test Xpert BCR-ABL Ultra est ensuite réalisée, les informations fournies par ce dernier permettent au logiciel de remplir automatiquement les cases des champs suivants : Sélectionner un test (*Select Assay*), N° du lot de réactifs (*Reagent Lot ID*), N° de série de cartouche (*Cartridge SN*) et date d'expiration (*Expiration Date*). Par la suite, le test est démarré en cliquant sur « Démarrer le test » (*Start Test*) avec saisie du mot de passe lorsqu'il est demandé.

Enfin, la cartouche est chargée au niveau de la porte ouverte du module de l'instrument avec le voyant vert clignotant, ce voyant arrête de clignoter au moment de fermeture de la porte marquant ainsi le début du test (Annexe 3).

Après son déverrouillage par le système, la porte du module est ouverte avec retrait de la cartouche qui est éliminée par la suite dans un conteneur à déchets pour échantillons approprié.

4.6 Phase post-analytique :

Les résultats sont automatiquement interprétés et exprimé sur l'échelle internationale (IS) par le logiciel du GeneXpert à partir des signaux fluorescents mesurés et des algorithmes de calcul intégrés ; Le logiciel a permis de déterminer un seuil (modifiable) en fonction de la fluorescence de base, ce seuil définit des cycles au seuil : *cycle threshold* (Ct). Les Ct sont le nombre de cycles de PCR nécessaires pour détecter un signal fluorescent significativement plus élevé que le niveau de base. Une courbe de calibration avec les Ct en fonction de la quantité de fluorescence sont tracées permettant de déterminer la quantité de transcrit présent dans le prélèvement (Figure 4).

Apport de la biologie moléculaire dans le diagnostic et le suivi de la leucémie myéloïde chronique :
expérience du laboratoire d'hématologie

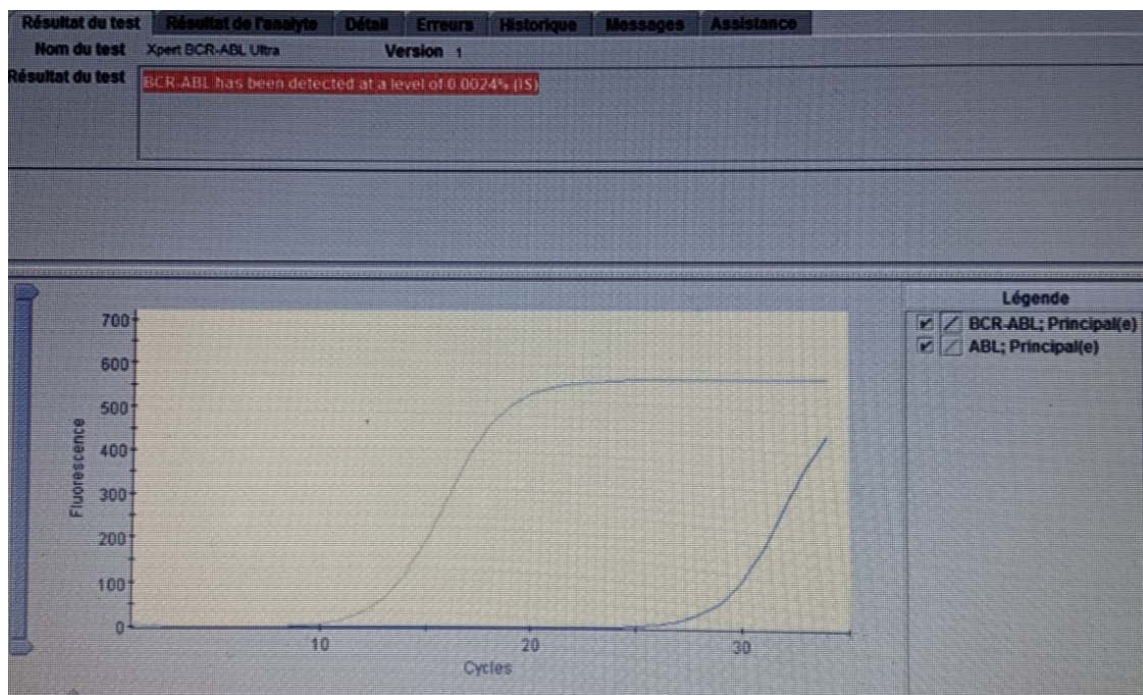


Figure 4 : Exemple de courbe tracée par le logiciel du GeneXpert

Enfin, les résultats sont clairement affichés dans la fenêtre « Afficher les résultats » (*View Results*). Un fichier de rapport au format PDF est créé et imprimé par la suite (Figure 5).

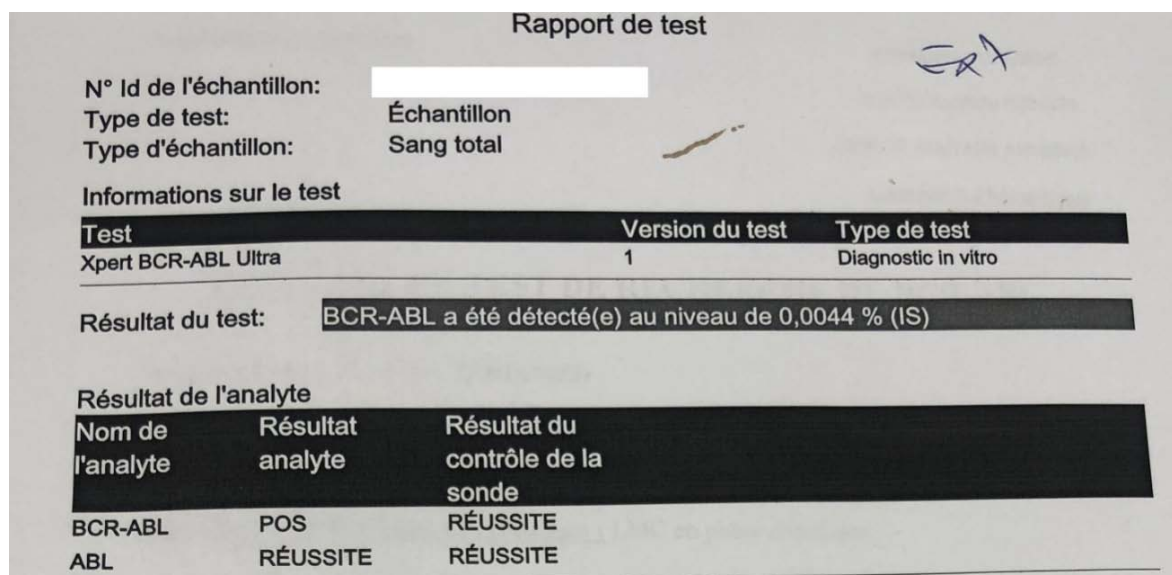


Figure 5 : Exemple de rapport du test GeneXpert avec présence d'un transcrit BCR-ABL à un
taux de 0.0044 %

Les autres résultats possibles sont décrits dans le tableau II.

**Tableau II : Les résultats possibles du test GeneXpert et leur interprétation selon les instructions
du fabricant [7]**

Résultat	Interprétation
« BCR-ABL a été détecté(e) »	Le transcrite BCR-ABL a été détecté et présente un Ct dans la plage valide et une valeur finale supérieure à la valeur du seuil.
« ABL - RÉUSSITE »	ABL - RÉUSSITE ; un transcrite ABL a été détecté et présente un Ct dans la plage valide et une valeur finale supérieure à la valeur du seuil.
« BCR-ABL n'a pas été détecté(e) »	Aucun transcrite BCR-ABL n'a été détecté dans la plage Ct valide ou au-dessus de la valeur finale du seuil.
« BCR-ABL NON VALIDE »	La détermination du niveau de transcrite est impossible car l'échantillon contient trop de transcrits BCR-ABL et/ou ABL. Le test doit être répété.
« ABL - ÉCHEC »	Le Ct ABL n'est pas dans la plage valide ou présente une valeur finale inférieure à la valeur du seuil.
ERREUR	Impossible de déterminer le niveau de transcrite BCR-ABL. Le test doit être répété.
PAS DE RÉSULTAT	Impossible de déterminer le niveau de transcrite. Les données recueillies sont insuffisantes pour produire un résultat de test. Il doit être répété.

5. Saisie et analyse des données :

Nous avons procédé à l'analyse statistique des données à l'aide du logiciel Excel 2016.

La saisie des textes et des tableaux ont été faites sur le logiciel Microsoft Word 2016, celle des graphiques sur le logiciel Excel 2016. Les résultats ont été exprimés en pourcentages ou en moyennes et médianes en fonction des variables étudiés.



RESULTATS



I. Profil démographique :

1. Sexe :

Sur les 10 patients étudiés, Les patients de sexe masculin étaient majoritaires avec 7 patients et les patients de sexe féminin ont représenté 3 patients soit un sexe ratio (H/F) de 2.3 (Figure 7).

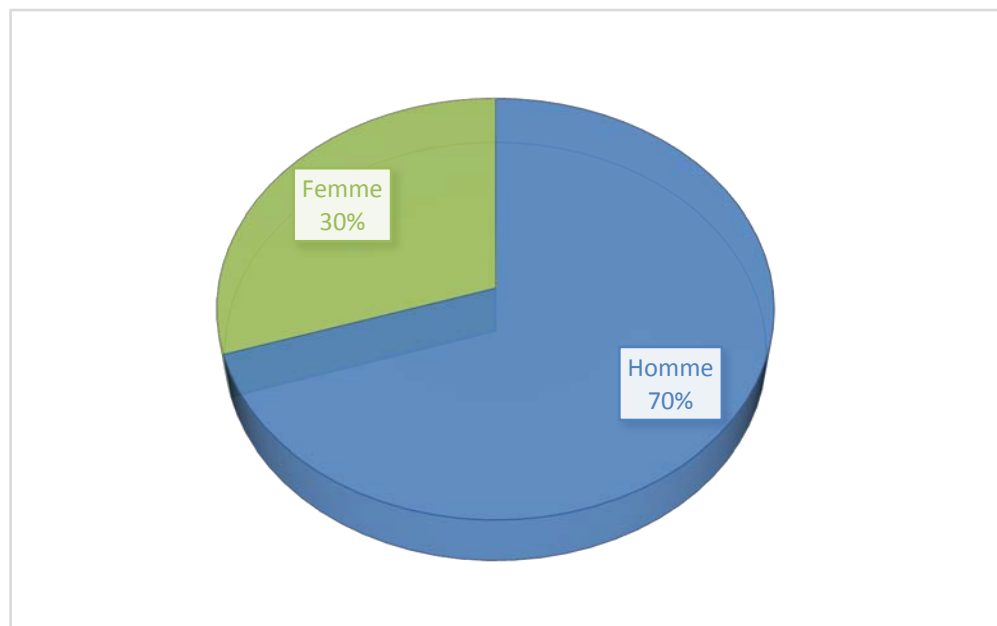


Figure 7 : Répartition des patients selon le sexe

2. Âge :

L'âge moyen était de 59,2 ans avec un écart type de 8.6 ($59,2 \pm 8.6$) et des extrêmes allant de 46 à 74 ans. Un maximum de fréquence était observé dans la tranche d'âge comprise entre 50 et 69 ans (80%) (Figure 8).

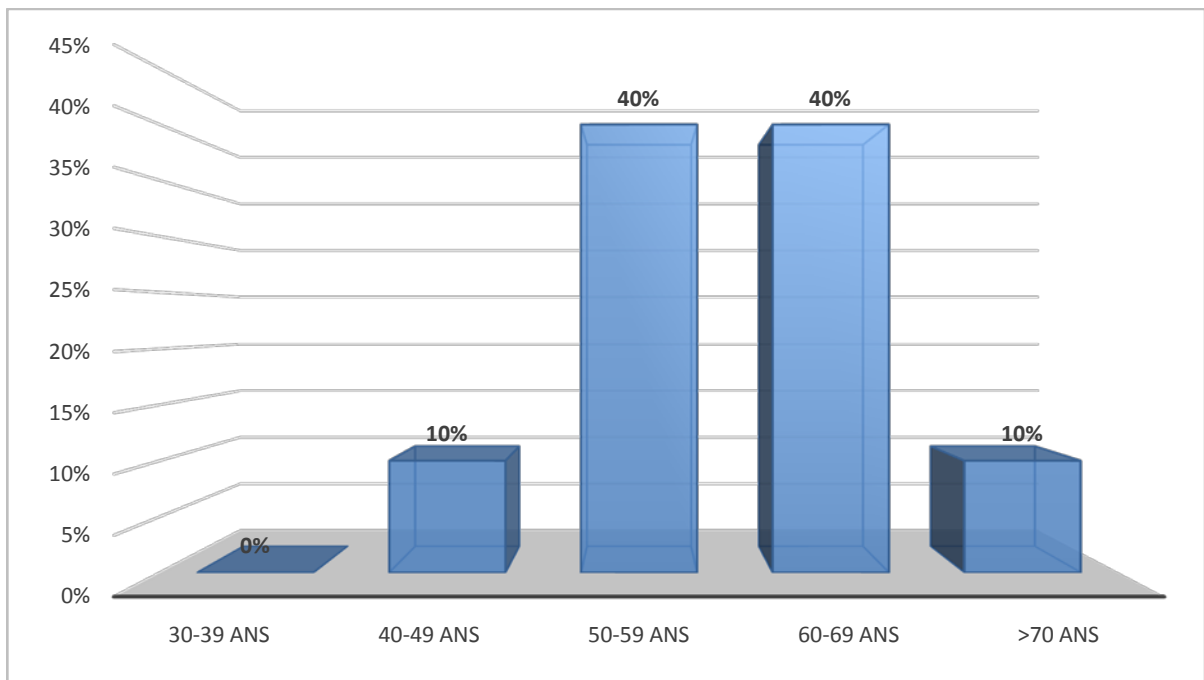


Figure 8 : Répartition des patients selon les tranches d'âge

3. Couverture sanitaire :

La totalité de nos patients bénéficiaient d'une couverture sociale, dont :

- Une mutuelle des Forces Armées Royales (FAR) chez 7 patients
- Une mutuelle de la Caisse Nationale des Organismes de Prévoyance Sociale (CNOPS) chez 2 patients
- Une mutuelle provenant d'un organisme privé d'assurance chez un seul patient.

II. Diagnostic clinique :

1. Antécédents :

Environ 50 % des malades de notre série avaient des antécédents pathologiques :

- Le tabagisme chronique était présent chez 02 patients (20%).
- Une tuberculose multifocale concomitante au diagnostic retrouvée chez un patient (10%).
- Une hypertension artérielle (HTA) présente chez 2 patients (20%).

L'exposition aux hydrocarbures et/ou radiations ionisantes n'a été rapportée chez aucun de nos patients.

2. Circonstances de découverte et tableau clinique :

Le mode de révélation le plus fréquent était représenté par un syndrome anémique présent chez 6 patients (60%), suivi par la pesanteur de l'hypochondre gauche chez 4 cas (Figure 9).

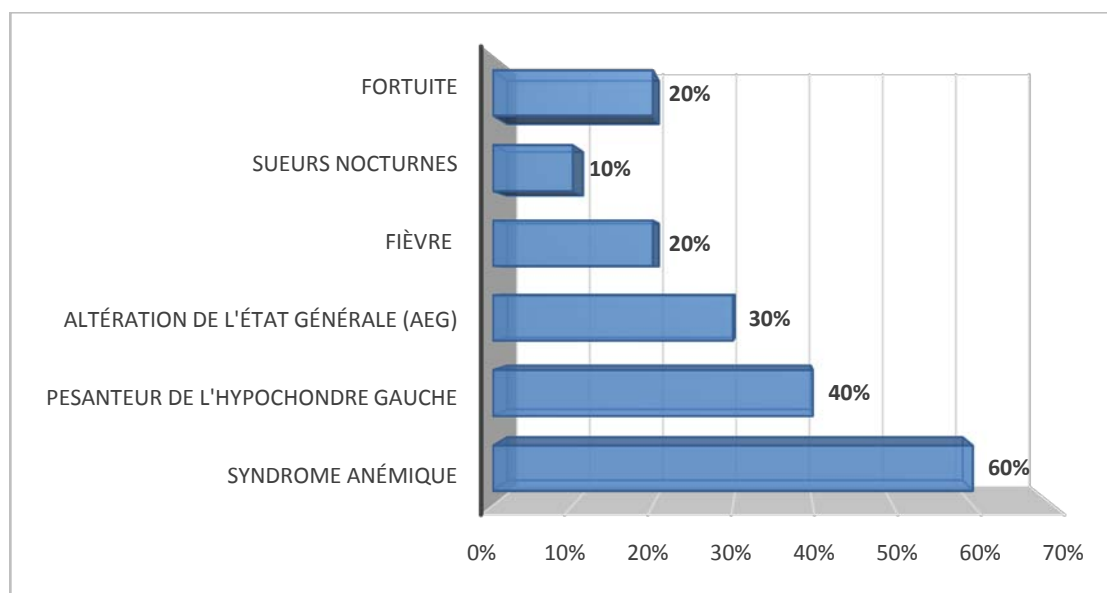


Figure 9 : Circonstances de découverte de la LMC dans notre série

Les signes physiques constatés chez les patients dans notre série étaient caractérisés par la prédominance de la splénomégalie (SPM) présente chez 50% des cas, la pâleur cutanéomuqueuse isolée était objectivée chez 20% des patients. Enfin, le syndrome d'épanchement liquidien était retrouvé chez un seul patient.

III. Diagnostic biologique :

1. Hémogramme :

L'hémogramme réalisé au moment du diagnostic a montré des résultats pathologiques dans 100% des cas étudiés.

Le nombre de leucocytes était le paramètre le plus perturbé : l'hyperleucocytose était observée chez la totalité des patients avec une moyenne de 166,9 G/L et des extrêmes allant de 57,9 à 270 G/L (Tableau III).

Une thrombocytose était objectivée chez 8 patients (80%) avec une moyenne de 482,2 G/L et des extrêmes allant de 168 à 1607 G/L.

Nous avons constaté la présence d'une anémie normochrome normocytaire chez 80% des patients avec une valeur moyenne de l'hémoglobine de 10.9 g/dl et des extrêmes allant de 13 à 7 g/dl.

La totalité des patients avaient également présenté une myélémie objectivée sur le frottis sanguin, avec une moyenne de 36%. La présence des blastes sanguins était mise en évidence chez 90% des patients (Tableau III).

Tableau III : Caractéristiques de l'hémogramme Chez nos patients

		Valeur moyenne	Intervalle	Limites	Nombre et pourcentage
Leucocytes	PNN	78,7G/L	[9,2G/L-158,7 G/L]	≤10 000/mm ³	n= 1 10%
				10 000 - 100 000/mm ³	n= 6 60%
				100 000 - 200 000/mm ³	n= 3 30%
				> 200 000/mm ³	n=0 0%
	PNB	9,43 G/L	[1,93G/L-26,37 G/L]	≤ 5 000/mm ³	n= 6 60%
				5000 - 10 000/mm ³	n= 1 10%
				>10 000/mm ³	n= 4 40%
PNE	3,55 G/L	[0-17,09 G/L]	≤5 000/mm ³	n= 8 80%	
			>10 000/mm ³	n= 2 20%	
Myélémie	36.3%	[14%-64%]	< 30%	n= 4 40%	
			≥ 30%	n= 6 60%	

2. Myélogramme :

Le myélogramme objectivait la présence des blastes médullaires chez 90% de nos patients avec des extrêmes allant de 0 à 12% (Tableau IV).

Tableau IV : Distribution des patients en fonction des données du myélogramme

	Caractéristiques	Nombre	Pourcentage
Taux de blastes	<10%	9	90%
	10 -19%	1	10%
	≥ 20%	0	0

3. Caryotype médullaire :

Le caryotype médullaire objectivait la présence de la translocation t (9,22) avec absence des anomalies cytogénétiques additionnelles (ACA) chez la totalité des patients.

4. Biologie moléculaire (Figure 10):

L'étude moléculaire par RT-PCR multiplexe a été réalisée à titre externe chez 20% des patients (2 patients), objectivant la co-expression des deux types du transcrite e13a2 et e14a2 (b2a2 et b3a2) dans la totalité des échantillons analysés avec absence d'autres types du transcrite notamment e19a2 et e1a2.

Au moment du diagnostic, la quantification de transcrite de fusion BCR-ABL1 par le test GeneXpert a été effectuée chez 80% des patients chez qui les résultats étaient positifs avec une médiane du ratio BCR-ABL1 / ABL1 de 68 % et des extrêmes allant de 36 à 159,6 %.

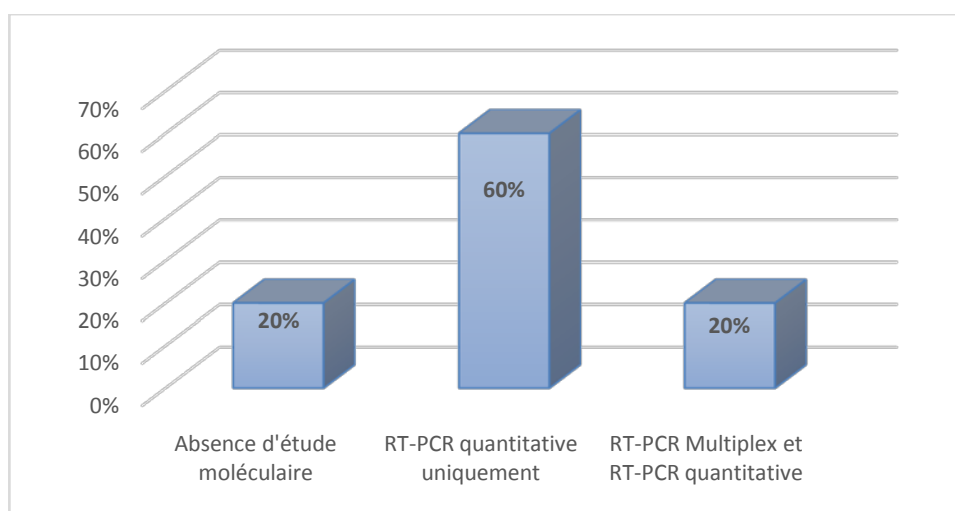


Figure 10 : Caractéristiques de l'étude moléculaire chez les patients étudiés

IV. Phase de la maladie :

Parmi les 10 patients inclus dans notre étude, 9 patients étaient en phase chronique de la maladie avec un seul patient en phase accélérée au moment du diagnostic (Figure 11).

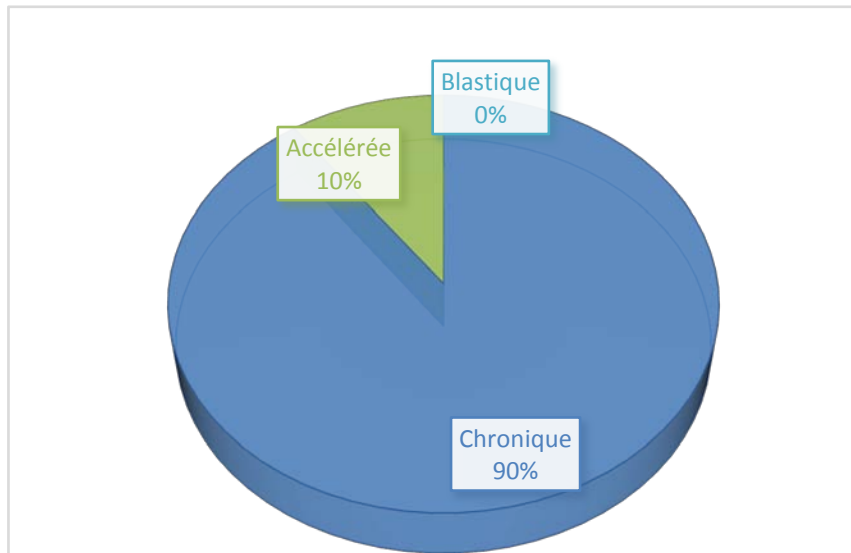


Figure 11 : Répartition des patients selon les phases de la maladie

V. Score pronostique :

Nous avons classé les patients selon le score pronostique de l'*European Treatment Outcome Study Long-Term Survival (ELTS)*, qui nous a permis de les répartir en 3 groupes (Figure 12) :

- Groupe à faible risque avec un score ≤ 1.5680 , comportant 4 patients;
- Groupe à risque intermédiaire avec un score > 1.5680 et ≤ 2.2185 , comportant 3 patients ;
- Groupe à haut risque avec un score > 2.2185 , comportant de 3 patients.

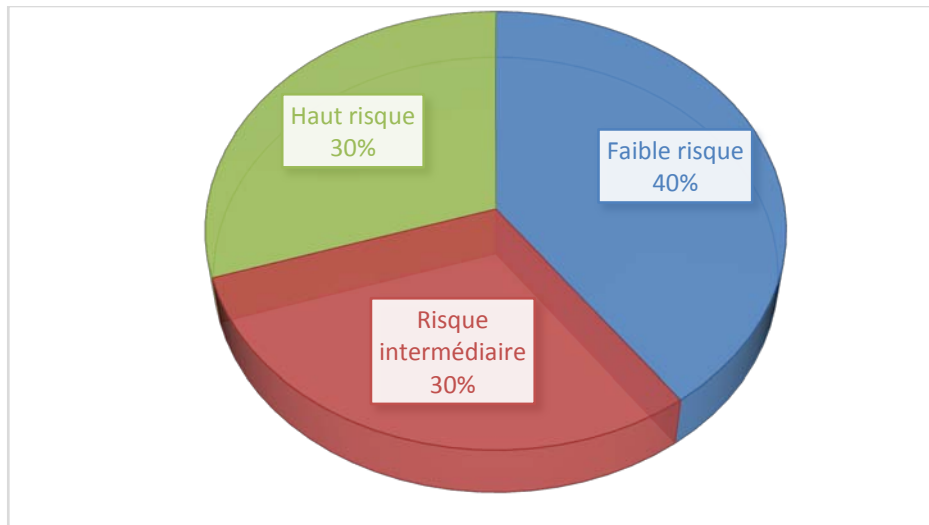


Figure 12 : Répartition des patients selon leur score pronostique (Score ELTS)

VI. Prise en charge thérapeutique :

1. Traitement non spécifique :

1.1. Traitement symptomatique :

La totalité des patients avaient bénéficié d'une hospitalisation initiale avec hyperhydratation par voie veineuse périphérique au sérum salé isotonique 9% (500 ml/6h).

Un seul patient a été transfusé par 2 culots globulaires suite à une anémie mal tolérée.

1.2. Traitement préventif :

Trois patients (30%) ont été mis sous traitement anticoagulant par héparine de bas poids moléculaire à une dose de 0.4 ml/j.

1.3. Chimiothérapie:

Huit de nos patients (80%) ont été mis sous hydroxyurée en préphase en attendant la confirmation du diagnostic à la dose de 2g/j pour une période moyenne de 6,75 jours avec des extrêmes allant de 3 à 14 jours.

1.4. Allogreffe :

Aucun de nos patients n'a été greffé.

1.5. Autres :

Un seul patient (10%) a bénéficié d'une antibiothérapie par anti bacillaires (ERIPK4 : 4cp/j) suite au diagnostic concomitant d'une tuberculose pulmonaire.

2. Traitement ciblé :

2.1. ITK de première ligne :

La totalité des patients dans notre étude ont été mis initialement sous imatinib 400mg/j pour une durée moyenne de 18 mois et des extrêmes allant de 3 à 47 mois.

Au cours de ce traitement, 50% des patients avaient présenté des effets indésirables faits de crampes musculaires (10%), œdème des paupières (10%), neutropénie fébrile avec myocardite (10%) et une toxidermie médicamenteuse chez 2 patients. Un traitement symptomatique avec réduction des doses a été entretenu dans la majorité des cas, la patiente présentant la myocardite a été hospitalisée avec arrêt du traitement pendant un mois, un seul patient avait bénéficié d'un changement thérapeutique.

2.2. ITK de deuxième ligne :

Le passage au traitement par nilotinib avec une dose de 400mg x2/j a été effectué chez 4 patients (40%), pour une intolérance à l'imatinib chez 1 patient et suite à un échec thérapeutique chez 3 patients. La durée médiane de mise sous nilotinib était de 18 mois avec des extrêmes allant de 3 à 24 mois.

2.3. ITK de troisième ligne :

Suite à un échec du nilotinib, 2 patients ont été mis sous dasatinib à une dose de 140mg/j pour une durée moyenne de 34 mois,

Nous avons noté une mauvaise observance thérapeutique chez les deux patients suite à des difficultés d'approvisionnement du traitement.

La réintroduction du nilotinib a été mise en place chez une patiente suite à l'apparition des effets indésirables sous dasatinib, notamment une thrombopénie et une neutropénie fébrile jugulées à 3 mois avec la survenue d'un épanchement pleural à 25 mois.

3. Arrêt du traitement :

Dans notre série, aucun patient n'a bénéficié d'un arrêt de traitement.

VII. Suivi Moléculaire :

Le suivi de la réponse au traitement par ITK reposait sur la biologie moléculaire et a été effectué selon les critères définis par les recommandations de l'*European Leukemia Network* (ELN) [4] avec surveillance concomitante des réponses hématologiques. Il a été effectué pour une durée moyenne de 3 ans avec des extrêmes allant de 1.5 à 6 ans.

1. Résultats de la quantification et cinétique du transcrit BCR-ABL1 :

1.1. Résultats de la quantification du transcrit BCR-ABL1 (Tableau V) :

Une évaluation moléculaire a été effectuée chez la totalité des patients à différents points de leur suivi moléculaire.

Les 2 patients dont le transcrit majeur a pu être identifié étaient soit :

- En réponse optimale au traitement (n=1) défini par une diminution du taux de BCR-ABL1 $\leq 10\%$ à trois mois, $\leq 1\%$ à six mois, et $\leq 0.1\%$ à douze mois. Chez ce patient, nous avons constaté également l'obtention d'une réponse moléculaire majeure (RMM) qui correspond à une réduction de 3 log ($\leq 0.1\%$) du taux de transcrit BCR-ABL1 au bout de 6 mois, RM4 au bout de 9 mois, une RM4,5 à 12 mois et une RM5 à 15 mois du traitement.
- En échec thérapeutique (n=1), défini par un taux de BCR-ABL1 $> 10\%$ à trois et à six mois et $> 1\%$ justifiant le recours à un traitement de deuxième ligne sous lequel nous avons noté une persistance de l'échec.

**Apport de la biologie moléculaire dans le diagnostic et le suivi de la leucémie myéloïde chronique :
expérience du laboratoire d'hématologie**

Les 8 patients dont le transcrit n'a pas été identifié étaient soit en :

- Réponse optimale au traitement (n=6) avec réponse moléculaire précoce (RMPr) défini par une diminution du taux de BCR-ABL1 $\leq 10\%$ à trois mois, $\leq 1\%$ à six mois, nous avons noté chez la totalité de ces patients l'obtention d'une RMM, avec par la suite :
 - RM4 (n=2), qui correspond à une réduction de plus de 4 log ($\leq 0.01\%$ IS) du taux de transcrit BCR-ABL ;
 - RM4.5 (n=2), qui correspond à une réduction de plus de 4.5 log ($\leq 0.0032\%$ IS) du taux de transcrit BCR-ABL ;
 - RM5 (n=2), qui correspond à une réduction de plus de 5 log ($\leq 0.001\%$ IS) du taux de transcrit BCR-ABL.
- Échec thérapeutique avec résistance primaire à l'imatinib (n=2).

Tableau V : Caractéristiques des réponses moléculaires au traitement dans notre série

		Réponse Moléculaire				
		RMPr	RMM	RMP		
				RM4	RM4.5	RM5
Pourcentage		70%	70%	30%	20%	20%
Délai d'obtention	3 mois	n=6	-	-	-	-
	6 mois	n= 1	n= 3	-	-	-
	9 mois	-	n= 1	n= 1	-	-
	12 mois	-	-	-	n= 2	-
	15 mois	-	n= 1	n= 1	-	n= 1
	18 mois	-	n= 2	-	-	-
	24 mois	-	-	n= 1	-	-
	45 mois	-	-	-	-	n= 1
Délai moyen		3 mois	9 mois	15 mois		

1.2. Cinétique de décroissance du taux de transcrit (Figure 13) :

Chez les patients suivis au cours du traitement de 1^{ère} ligne (imatinib) le ratio BCR-ABL1/ABL1 passait d'une médiane de 68.00 IS au diagnostic à une médiane de 5.5 IS après seulement 3 mois de suivi, puis à une médiane de 0.26 IS après 12 mois de traitement pour atteindre ensuite des taux médians de 0.02 à 18mois.

Par ailleurs, l'étude moléculaire chez les patients mis sous traitement de deuxième ligne (nilotinib) a objectivé une décroissance moins importante du ratio BCR-ABL1/ABL1, avec une réduction du taux de transcrit de 22,9% à 3 mois par rapport à la médiane au début du traitement puis une réduction de 9,28% après 12 mois.

Enfin, chez les patients mis sous traitement de 3^{ème} ligne (dasatinib), nous avons noté une réduction de la médiane du ratio BCR-ABL de 17.2% à 6 mois de traitement par rapport à la médiane au début du traitement, puis une réduction de 9.6% à 12 mois du traitement.

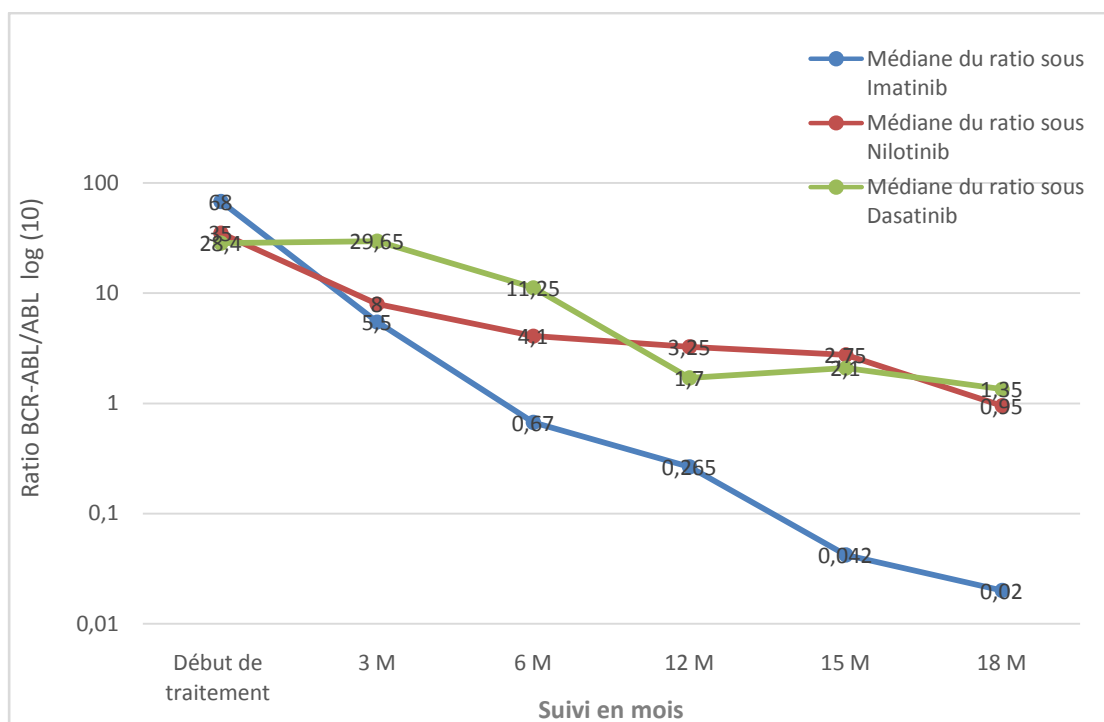


Figure 13 : Cinétique de décroissance de la médiane du taux du transcrit BCR-ABL1 chez les patients dans notre série

1.3. Profils de décroissance du ratio BCR-ABL1/ABL1 :

Selon la cinétique de décroissance, nous avons noté la présence de plusieurs types de profils.

a. Décroissance rapide :

Nous avons retrouvé ce profil chez des patients qui ont atteint très rapidement des réponses moléculaires profondes (RMP) (Figure 14, Figure 15).

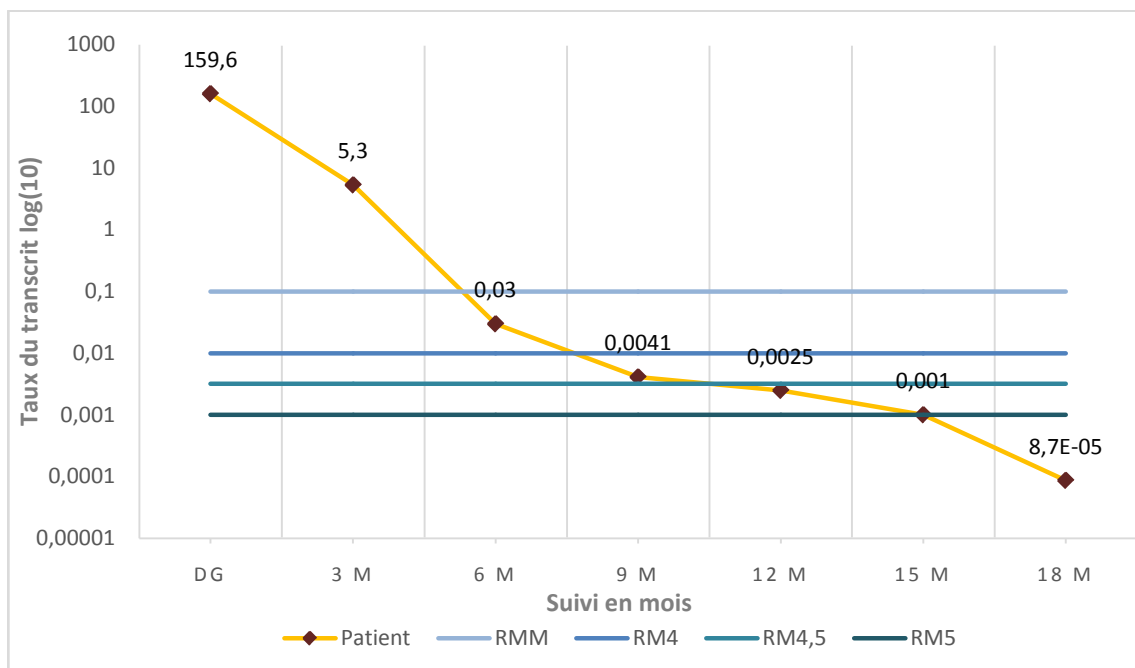


Figure 14 : Profil montrant une décroissance rapide du taux du transcrite BCR-ABL1 chez un patient dans notre série, atteignant après 6 mois de traitement une RMM

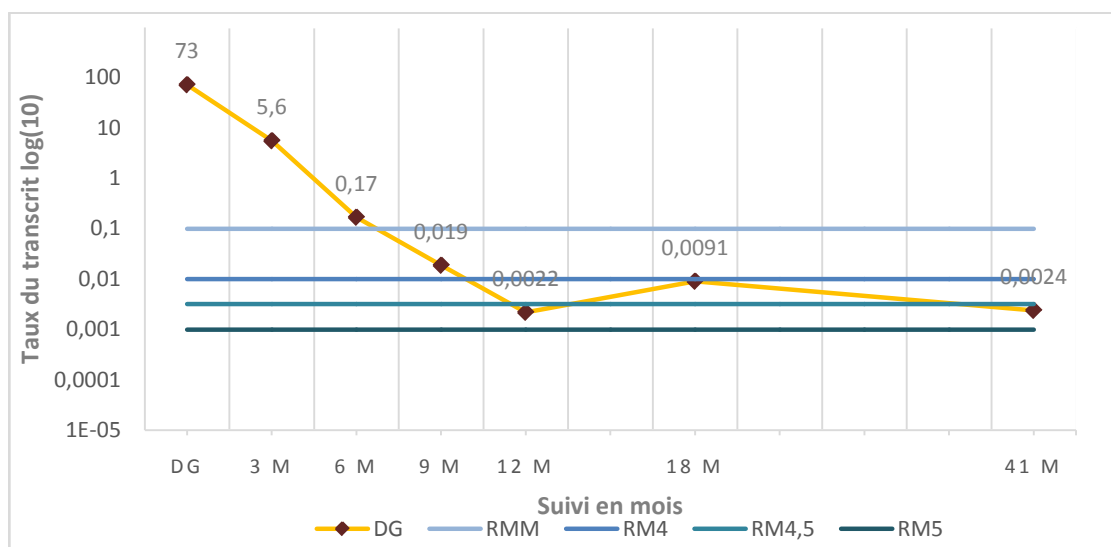


Figure 15 : Profil montrant une décroissance rapide du taux du transcrite BCR-ABL1 chez un patient dans notre série, atteignant après 9 mois de traitement une RMM

Ces deux patients ont eu des réponses moléculaires de type RMM dans un délai de 6 mois et 9 mois. Ils sont de sexe masculin avec un âge de 74 ans pour le patient chez qui la RMM a été notée à 6 mois et de 55 ans pour l'autre patient, les deux ont eu ultérieurement des réponses moléculaires profondes maintenues tout au cours du traitement par imatinib.

b. Décroissance lente :

Chez une patiente qui a obtenu une RMM tardive, nous avons retrouvé ce profil (Figure 16). Il s'agit d'une patiente de sexe féminin, âgée de 50 ans, mise sous imatinib son évolution ultérieure est marquée par la ré-ascension du taux du transcrite et la survenue d'une alerte au bout de 2 ans du traitement.

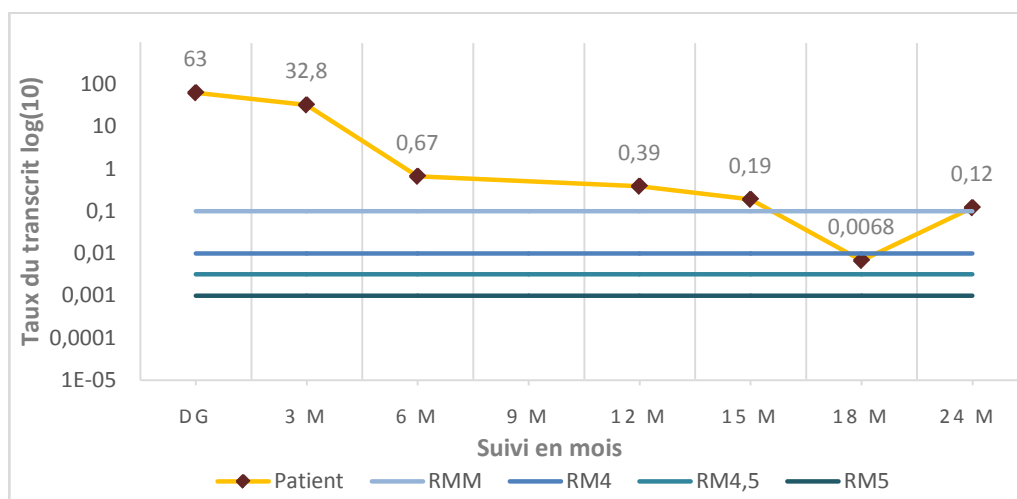


Figure 16 : Profil montrant une décroissance lente du taux de transcrit BCR-ABL chez une patiente dans notre série, atteignant après 18 mois de traitement une RMP

c. Décroissance fluctuante :

Chez un patient qui a eu une ré-ascension intermittente de son ratio BCR-ABL1 au cours de son suivi moléculaire, nous avons retrouvé ce profil (Figure 17). Ce patient est de sexe masculin, âgé de 60 ans, son évolution ultérieure était caractérisée par le maintien d'une RMM tout au court du traitement par imatinib.

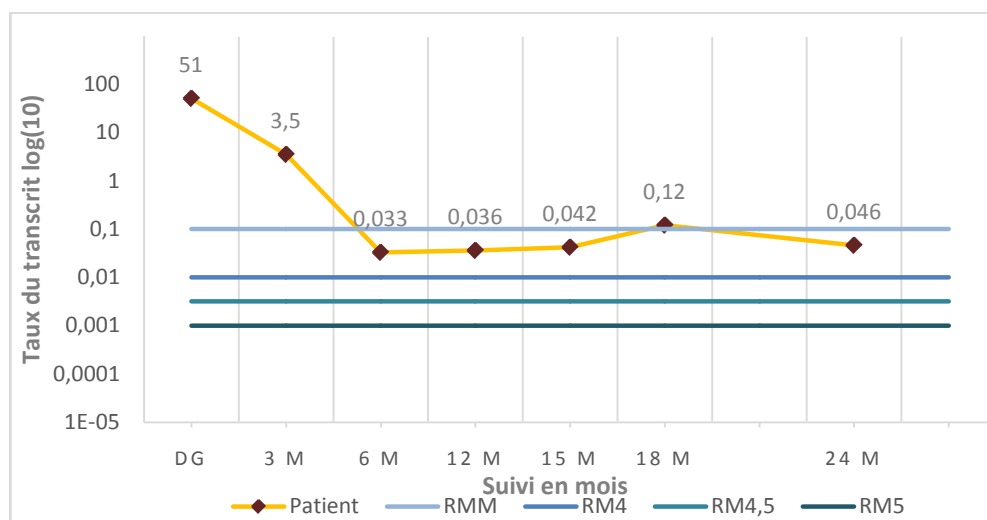


Figure 17 : Profil montrant une fluctuation du taux de transcrit BCR-ABL chez un patient dans notre série

d. Profils correspondant aux échecs thérapeutiques :

Dans notre série, nous avons noté la présence de ce profil chez les patients ayant une résistance primaire au traitement (Figure 18, Figure 19, Figure 20).

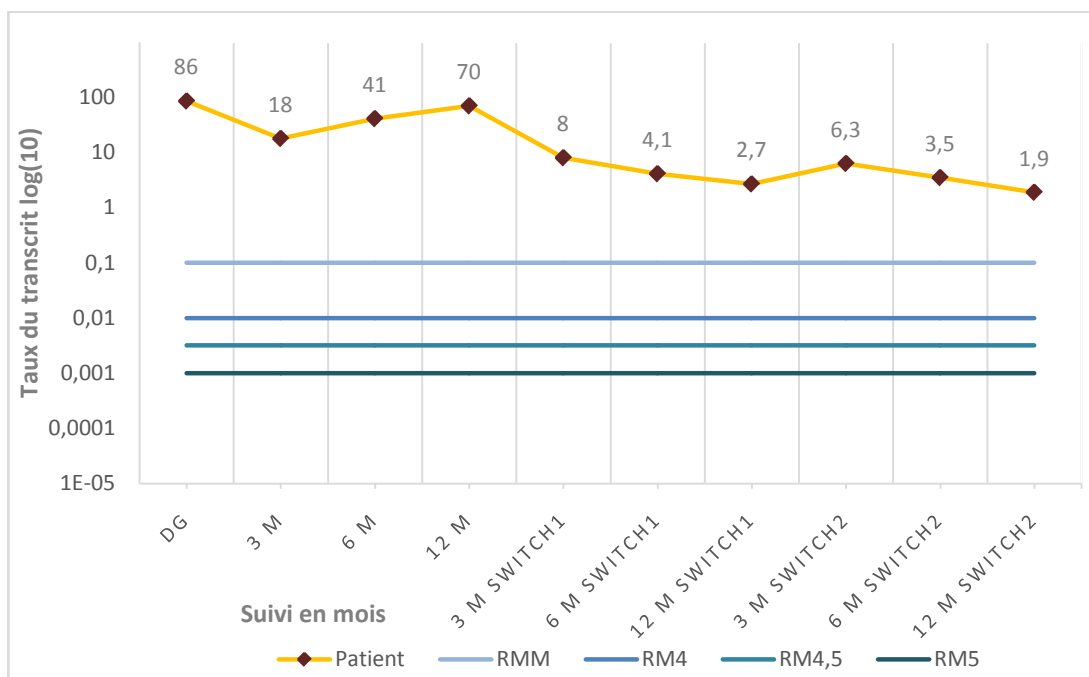


Figure 18 : Cinétique en faveur d'une résistance primaire chez un patient dans notre série

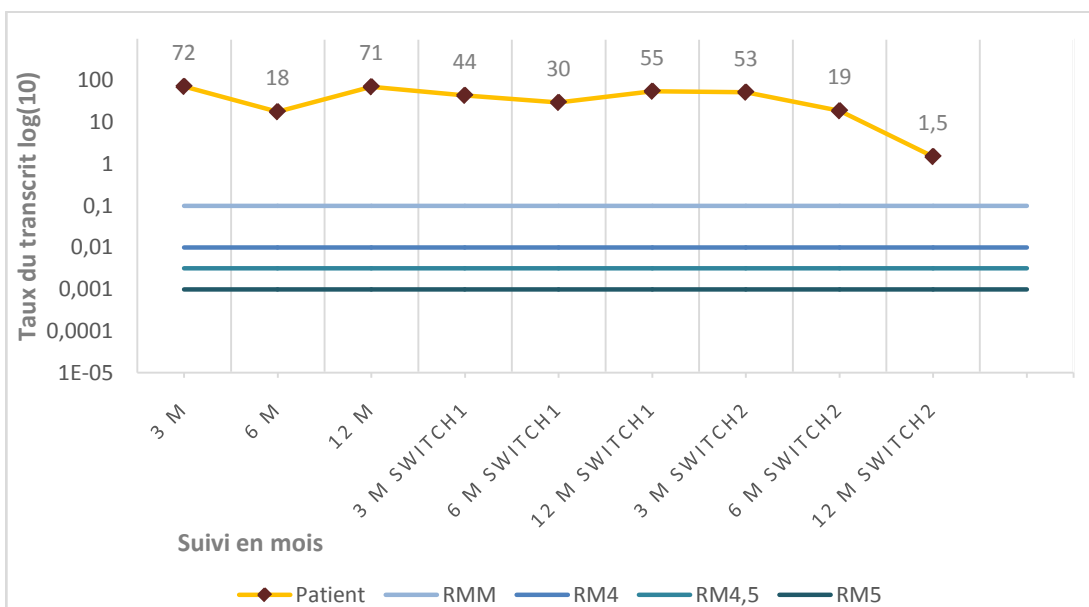


Figure 19 : Cinétique en faveur d'une résistance primaire chez un patient dans notre série

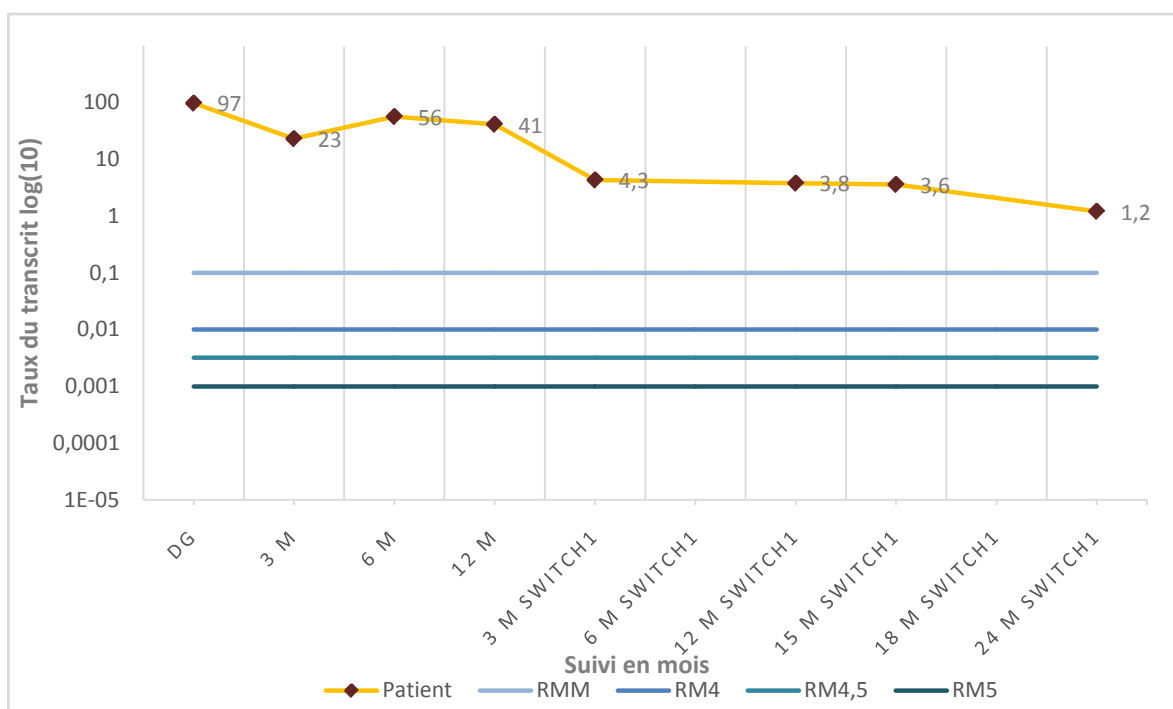


Figure 20 : Cinétique en faveur d'une résistance primaire chez un patient dans notre série

2. Résultats de l'évaluation qualitative de la réponse moléculaire :

2.1. Réponse sous traitement de 1^{ère} ligne :

Le temps d'obtention de la RMM était variable entre 6 mois à 18 mois avec une moyenne de 9 mois.

À trois mois de traitement : 10 patients ont été évalués

- Six patients (60%) étaient en réponse optimale avec une réduction de 1 log(10) ($\leq 10\%$ IS), un patient a été mis sous traitement de deuxième ligne suite à la survenue d'une toxidermie médicamenteuse.
- Un patient était en situation d'alerte avec un taux de transcrit $> 10\%$ IS.
- Trois patients (30%) étaient en échec.

À six mois de traitement : 9 patients ont été évalués

- Six patients (66,7%) étaient en réponse optimale avec une réduction de 2 log (10) ($\leq 1\%$ IS) dont un patient qui était en alerte lors du 3^{ème} mois. Parmi ces 6 patients, deux étaient en RMM.
- Trois patients (33.3%) étaient encore en échec thérapeutique ($< 1 \log(10)$).

À douze mois de traitement : 9 patients ont été évalués

- Trois patients (33.3%) ont obtenu une réponse optimale, deux avaient une RMP et un patient était encore en RMM.
- Trois patients sont passés en situation d'alerte
- Trois patients n'ont pas atteint un niveau de réduction de minimum 2 log(10) et sont considérés en échec thérapeutique. Ces patients sont passés au traitement de deuxième ligne.

À dix-huit mois de traitement : 6 patients ont été évalués

- La proportion de patient ayant obtenu une réponse optimale était à 83.3% ; à ce stade 30% des patients avaient une RMM et un patient avait une RMP.
- Une alerte était notée chez une patiente.

À vingt-quatre mois de traitement : 4 patients ont été évalués.

- Trois patients avaient une réponse optimale avec une réponse moléculaire profonde.
- Une patiente était en alerte.

La répartition des patients ayant obtenus la RMM et les RMP à différents points de leur suivi sont représentés dans la Figure 21 et la Figure 22.

**Apport de la biologie moléculaire dans le diagnostic et le suivi de la leucémie myéloïde chronique :
expérience du laboratoire d'hématologie**

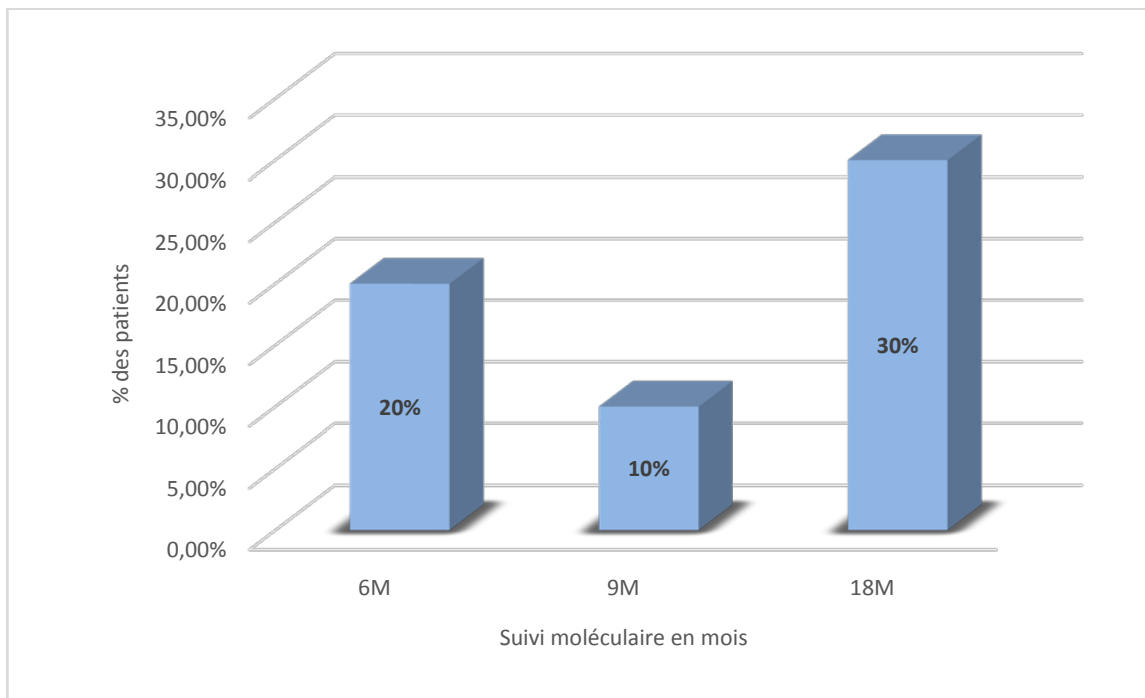
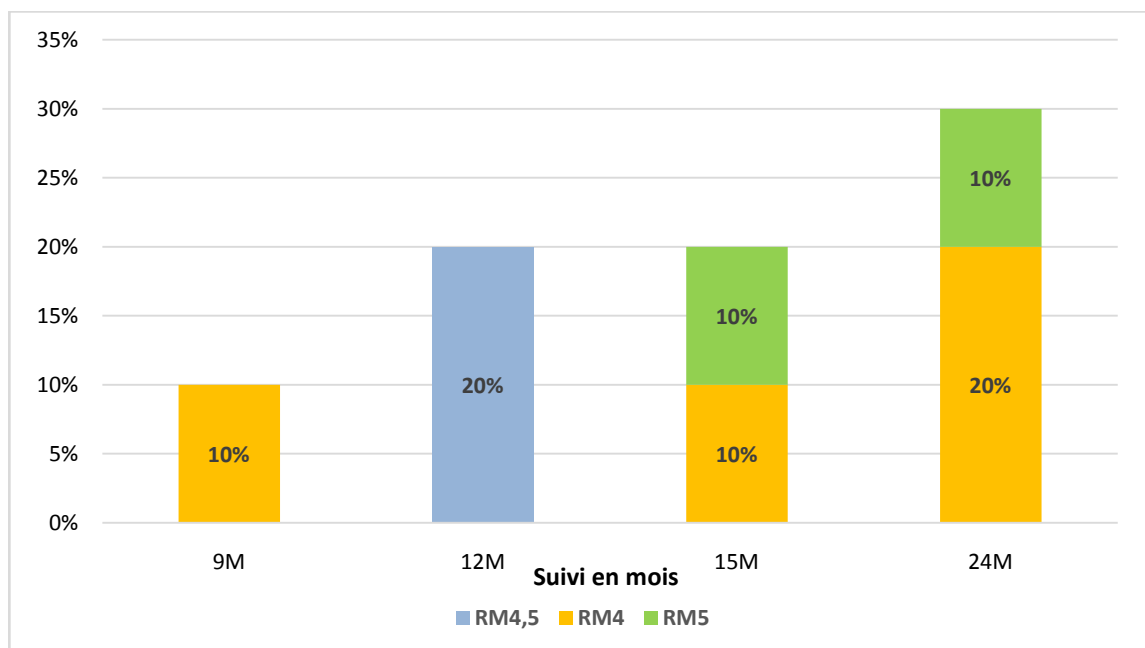


Figure 21 : Fréquences des RMM obtenues au cours du traitement par imatinib



**Figure 22 : Fréquences des réponses moléculaires profondes obtenues au cours du traitement
par imatinib**

2.2. Réponse sous traitement de 2^{ème} ligne :

Réponse à 3 mois : 4 patients ont été évalués

- Une réponse optimale chez 3 patients (soit 75%).
- Avertissement chez 1 patient (soit 25%).

Réponse à 6 mois : 4 patients ont été évalués

- Un patient (25%) en réponse optimale avec RMM.
- Deux patients (soit 50%) en avertissement.
- Un patient (soit 25%) en échec thérapeutique, nous avons noté un arrêt de traitement chez ce patient au cours du 4^{ème} et 5^{ème} mois suite à une difficulté d'approvisionnement.

Réponse à 12 mois : 4 patients ont été évalués

- Réponse optimale chez 1 patient (soit 25%).
- Un échec thérapeutique chez 3 patients (soit 75%). Un patient a été mis sous traitement de troisième ligne.

Réponse à 18 mois : 3 patients étaient à 18 mois du traitement

- Un patient était en réponse optimale (soit 33.3%).
- Deux patients étaient toujours en échec (soit 66.6%).

Réponse à 24 mois : 2 patients étaient à 24 mois du traitement

- Les 2 patients étaient toujours en échec. Le changement par un traitement de 3^{ème} ligne a été décidé.

2.3. Réponse sous traitement de 3^{ème} ligne :

Réponse à 3 mois du traitement : 2 patients étaient évalués

- Une réponse optimale chez 1 patient (50%).

- Un avertissement chez l'autre patient (soit 50%).

Réponse à 6 mois du traitement :

- Un avertissement chez 1 patient (50%).
- Un échec thérapeutique chez l'autre patient (soit 50%).

Réponse à 12 mois du traitement : Les 2 patients étaient en échec

Réponse à 18 mois du traitement : Les 2 patients étaient toujours en échec

3. Déterminants de la réponse moléculaire majeure :

3.1. Sexe :

Parmi les 7 patients ayant obtenu une RMM nous avons noté une prédominance masculine avec un sexe ratio (H/F) de 2.5.

3.2. Âge :

La médiane d'âge des patients ayant obtenu une RMM était de 55 ans avec des extrêmes allant de 46 à 74 ans.

3.3. Score pronostique ELTS :

Nous avons noté une proportion plus élevée de l'obtention d'une RMM chez les patients à risque faible (100%) par rapport aux patients à risque intermédiaire ou élevé (50%). Ce résultat n'est cependant pas conclusif : Odds ratio = 1.25 (IC 95% : [0.07–22.68]).

3.4. Réponses moléculaires précoces à 3 et 6 mois :

Les patients qui étaient en réponse optimale à 3 mois avaient obtenu des RMM de 66,6% et 83.3% respectivement à 12 et 18 mois. Les patients qui étaient en réponse optimale à 6 mois avaient une RMM à 12 et 18 mois pour respectivement 57.1 et 85.7% (Figure 23, Figure 24, Figure 25, Figure 26).

Par contre, aucun patient qui était en échec à 6 mois n'avait obtenu de RMM.

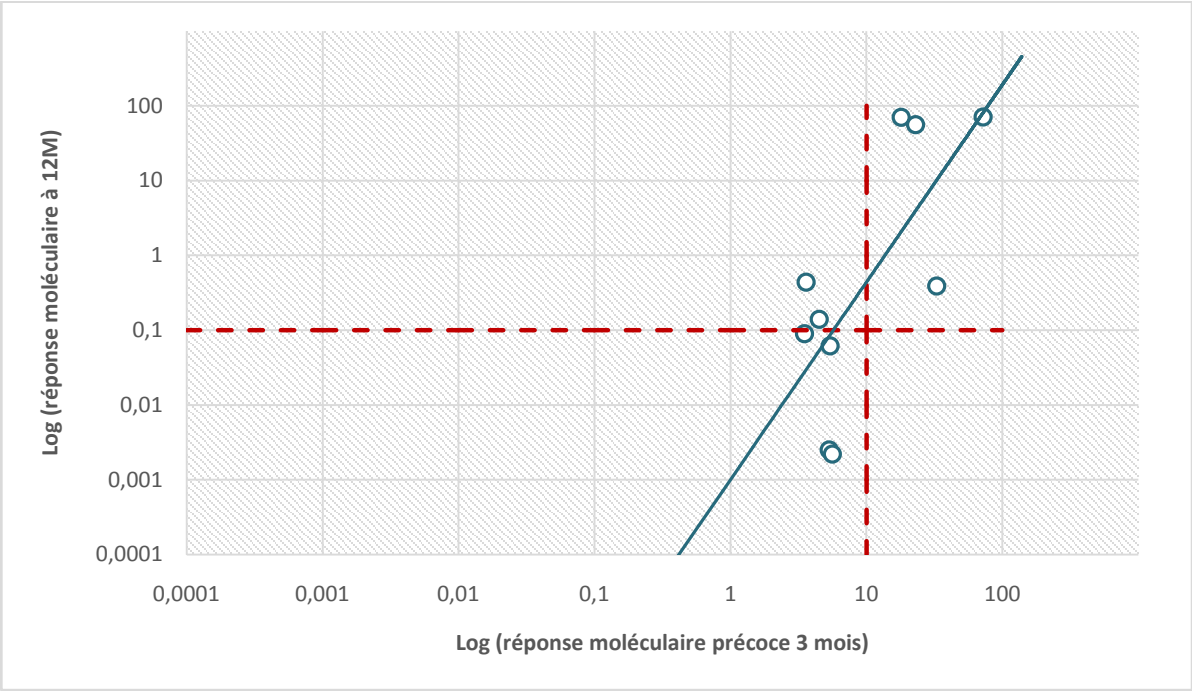


Figure 23 : RMM à 12 mois en fonction de la réponse précoce à 3 mois

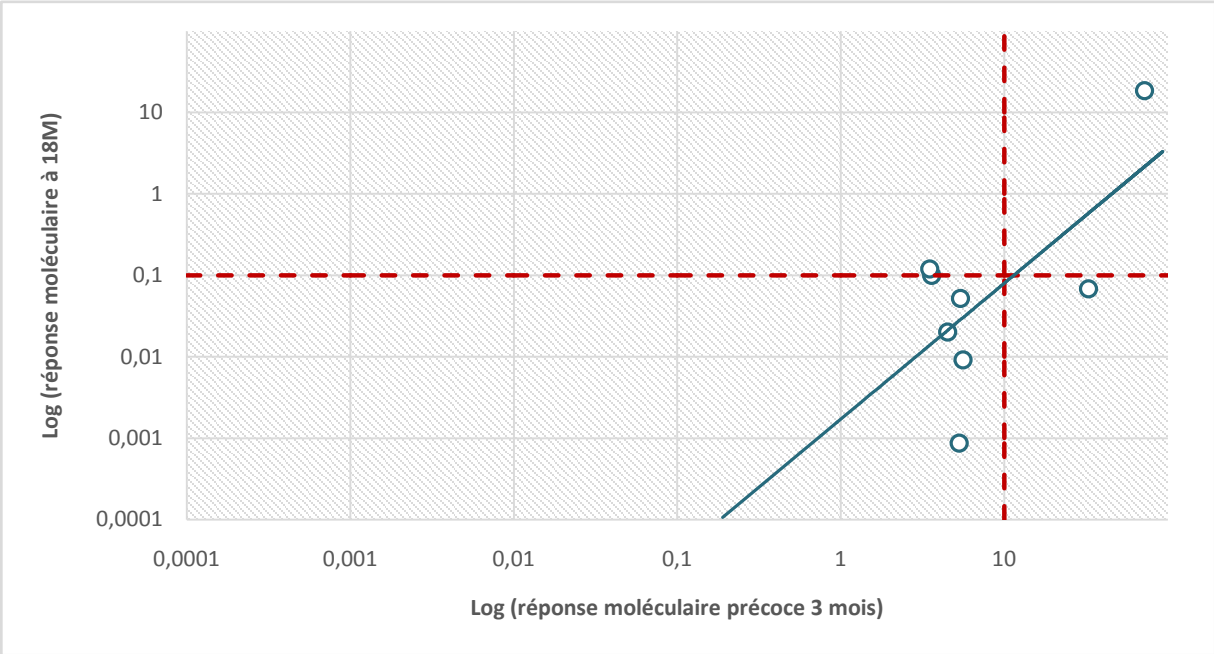


Figure 24 : RMM à 18 mois en fonction de la réponse précoce à 3 mois

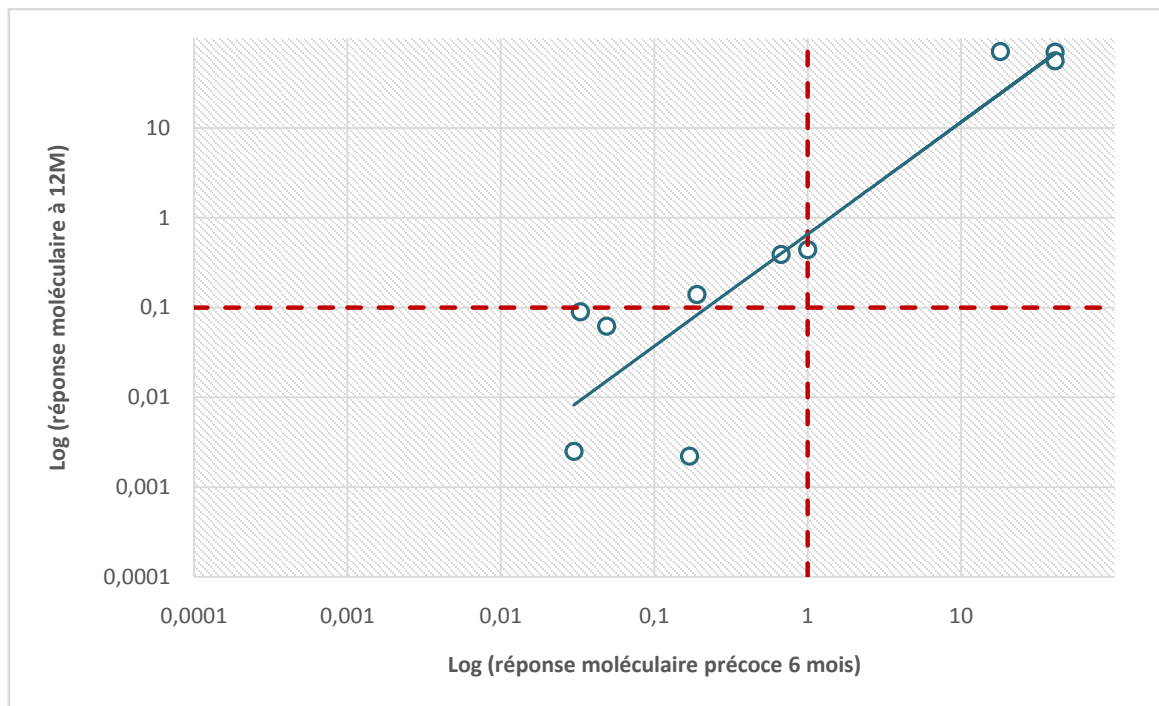


Figure 25 : RMM à 12 mois en fonction de la réponse précoce à 6 mois

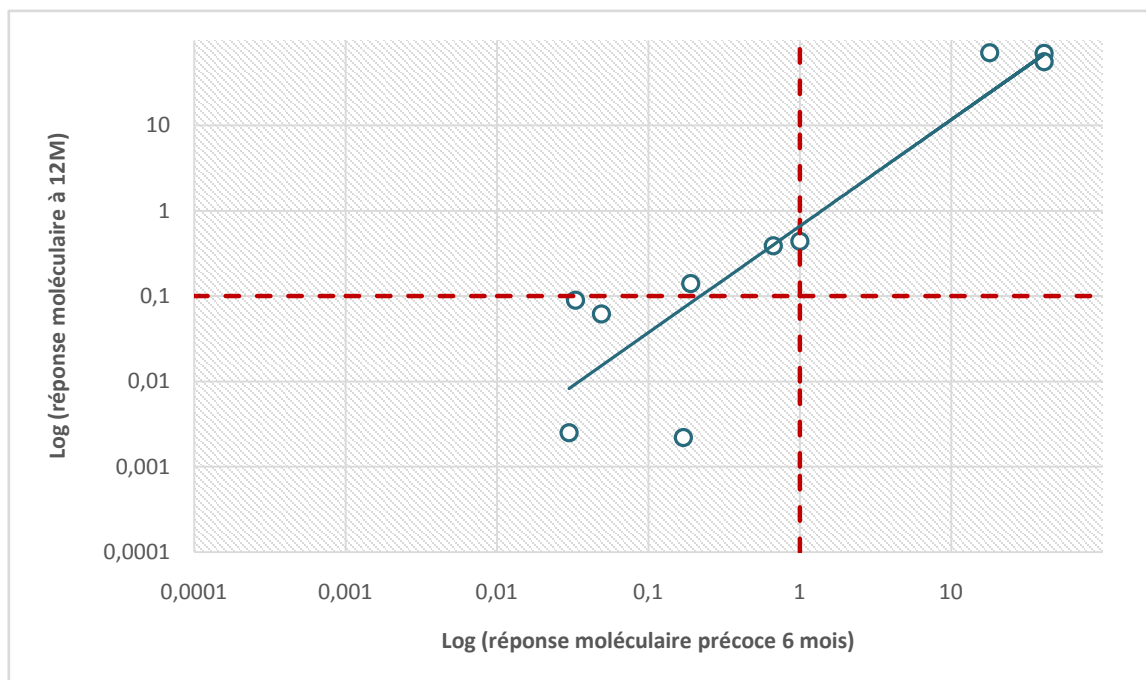


Figure 26 : RMM à 18 mois en fonction de la réponse précoce à 6 mois

4. Profil des échecs :

4.1. Profil clinico-biologique des patients en échec :

Durant les 12 premiers mois de traitement, 3 patients (30%) avaient un échec thérapeutique, il s'agit de 2 hommes (66.6%) et une femme (33.3%) d'âge moyen 63 ans. La détermination du type du transcrit était réalisée chez une seule patiente objectivant les deux types b2a2 et b3a2. Un seul patient était en phase d'accélération au moment du diagnostic, les 2 autres étaient en phase chronique. Deux patients avaient un risque intermédiaire évalué par le score ELTS (66.6%), tandis que l'autre patiente était à haut risque (33.3%).

La recherche de mutation du domaine tyrosine kinase de l'ABL était effectuée chez 2 patients à l'étranger par séquençage direct se révélant négative pour la mutation T315I dans l'ensemble des échantillons analysés. L'analyse du caryotype n'a pas révélé la présence d'ACA dans notre série.

4.2. Évolution des réponses thérapeutiques :

Chez les 3 patients l'échec a été observé dès le 3^{ème} mois du traitement de première ligne avec une perte de la réponse hématologique et passage à la phase d'accélération chez 2 patients (soit 66.6%) et une conservation de la réponse hématologique chez l'autre patient. L'instauration d'un changement thérapeutique se faisait après un délai moyen de 16 mois.

Ces patients avaient une persistance de l'échec avec une mauvaise réponse moléculaire sous traitement de deuxième et de troisième ligne qui était respectivement à base de nilotinib et du dasatinib. Nous avons noté également, la présence d'une mauvaise observance thérapeutique chez l'ensemble des patients sous dasatinib et chez un patient sous nilotinib.

5. Survies :

5.1. Survie globale :

Au cours du suivi (72 Mois), aucun décès n'a été enregistré. La probabilité de survie sans décès estimée à 72 mois est donc de 100% (Figure 27).

5.2. Survie sans évènements :

Les évènements pris en considération sont les suivant : perte de réponse moléculaire, décès et transformation en phase accélérée ou blastique. La probabilité de survie sans évènements (SSE) est de 70% (Figure 27).

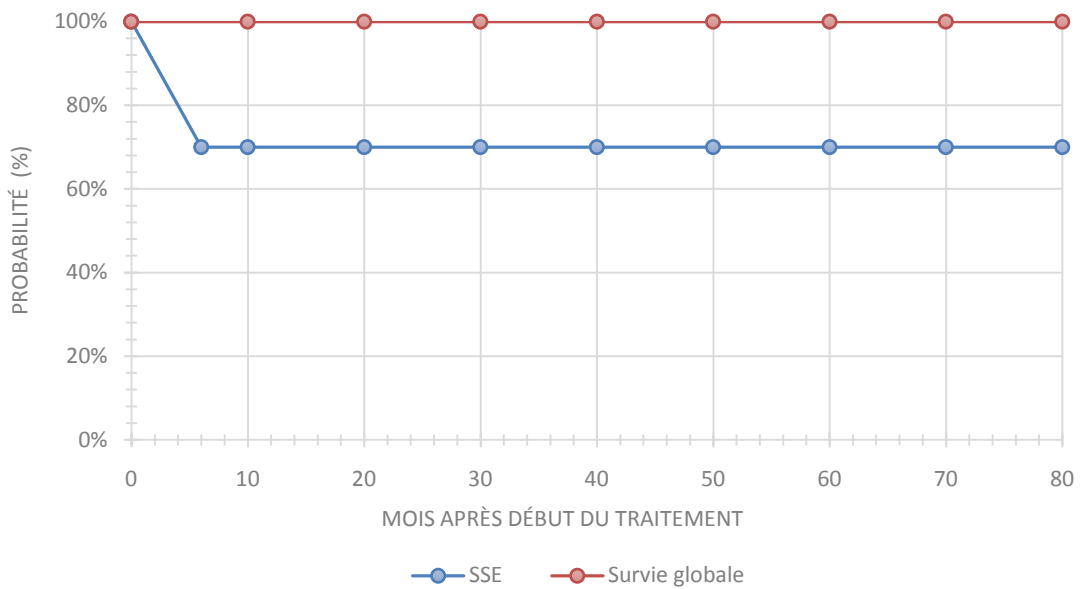


Figure 27 : Probabilité de survie globale et SSE chez les patients dans notre série



DISCUSSION



Chapitre 1 : Rappels

I. Fréquence/Incidence :

La LMC est une hémopathie maligne rare, constituant environ 15% des leucémies nouvellement diagnostiquées de l'adulte [2].

Son incidence est variable dans le monde, aux Etats Unis elle est estimée à 1.9/ 100 000 habitants/an entre 2013–2017 avec une estimation de 9110 nouveaux cas en 2021 [8]. En Europe, le registre suédois indique une incidence estimée à 2.06 pour 100 000 habitants en 2018 [9] avec en Finlande 1,09 pour 100 000 habitants en 2018 [10]. En France, l'incidence de la LMC est estimée entre 1 et 2 nouveaux cas par an pour 100 000 habitants par an [11].

L'incidence globale de cette affection dans la population Algérienne oscille entre 0,41 et 0,51 /100 000 habitants entre 2010 et 2018 [12].

Au Maroc, il n'y a pas de chiffres officiels du fait de l'absence d'un registre national des hémopathies malignes en général et des LMC en particulier. Les données sur la LMC sont limitées par conséquent aux informations fournies par le corps médical dans les grands centres de Casablanca et Rabat. Selon le registre des cancers du grand Casablanca un nombre total de 326 cas de leucémies myéloïdes a été enregistré entre 2008 et 2012, soit une incidence brute de 1,6 pour 100 000 habitants [13]. Le registre des cancers de Rabat note 25.7% des LMC parmi les cas leucémies enregistrés dans la période s'étalant entre 2009–2012 [14].

II. Facteurs favorisants :

Les étiologies de la LMC sont peu connues. L'exposition aux radiations ionisantes est identifiée comme facteur influençant son incidence. En effet, le rôle des radiations ionisantes dans l'apparition des leucémies a été le premier à être décrit à partir de la cohorte des survivants de Hiroshima et Nagasaki [15], [16]. Une méta-analyse portant sur 14 études publiées entre 1984 et 2004 a permis à son tour d'établir une association possible entre l'exposition aux pesticides et le développement d'une LMC chez les agriculteurs ou fermiers [17].

La prédisposition génétique joue également un rôle dans la leucémogénèse. Les patients ayant une LMC ont une plus grande fréquence de HLA-CW3 alors que ceux ayant une HLA-A3 exprimée de façon concomitante avec HLA-B8 ont un risque plus faible de développer cette maladie [18].

III. Oncogénèse :

1. Chromosome Ph1 :

La LMC est liée à la survenue dans une cellule souche hématopoïétique d'une anomalie génétique acquise : une translocation réciproque et équilibrée entre les bras longs des chromosomes 9 et 22 : $t(9;22)(q34; q11)$. Le chromosome 22 raccourci par échange de matériel est appelé chromosome Ph1, il est retrouvé dans près de 95% des LMC (Figure 28) [19], [20]

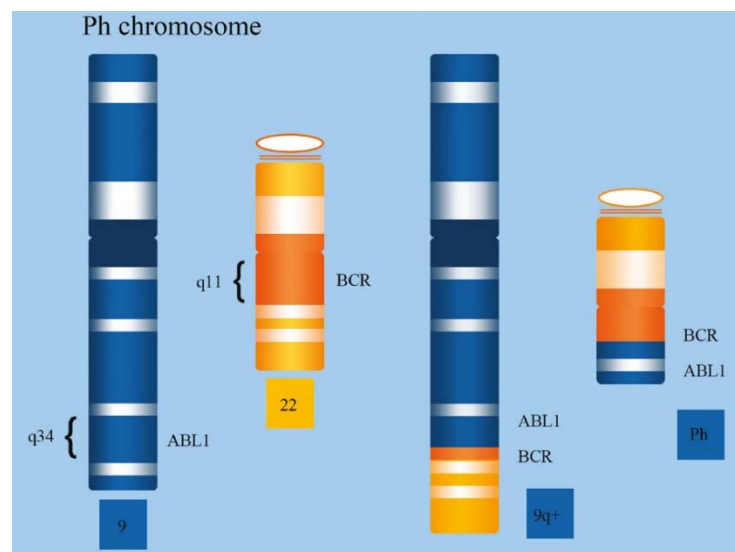


Figure 28 : Chromosome Ph1 résultat de la translocation réciproque $t(9;22)$ [19]

Les mécanismes induisant cette translocation sont peu connus. Cependant, des séquences répétées localisées au niveau des loci ABL et BCR peuvent être impliquées dans l'alignement des chromosomes 9 et 22, les cassures chromosomiques spontanées ainsi que le réarrangement BCR-ABL1. Dans moins de 10% des cas de LMC, il peut y avoir des translocations complexes impliquant d'autres chromosomes partenaires [21].

2. Mécanisme moléculaire :

2.1. Gène ABL et sa protéine :

L'oncogène ABL est localisé en position 9q34 sur le chromosome 9. Il comprend 11 exons, dont deux exons alternatifs (1a et 1b), les introns situés entre les exons 1b et 1a et les introns situés entre 1a et 2a constituent les points de cassures lors de la LMC (Figure 29) [22], leur transcription résulte en deux ARN messagers mesurant respectivement 6 et 7 kb dont la traduction aboutit à la formation de deux isoformes protéiques d'environ 145 kDa [2], [23].



Figure 29 : Gène ABL. L'emplacement des deux points de cassure (breakpoints) possibles : au niveau de l'intron séparant les exons 1a et 1b ou entre les exons 1a et a2 [24]

Ces isoformes se distinguent par leurs localisations. La myristoylation de la protéine provenant de l'exon 1b, permet sa localisation à la membrane cytoplasmique, tandis que l'absence du résidu glycine dans la forme majoritaire 1a entraîne sa localisation nucléaire [2].

À l'instar de la protéine Src, la protéine ABL comporte également des domaines d'homologie SH (Src homology) au niveau de sa région N-terminale (Figure 30):

- Le domaine SH3 stabilise ABL sous sa forme inactive, il est régulateur négatif de l'activité du domaine SH2. La délétion de la région codant pour le domaine SH3 résulte en l'activation de l'oncogène [24].
- Le domaine SH2 permet la reconnaissance de motifs contenant une tyrosine phosphorylée participant ainsi à la transmission du signal [24], il est à son tour un régulateur positif du domaine catalytique SH1.
- Le domaine SH1 constitue le support de l'activité tyrosine kinase de la protéine ABL [25].

Au niveau de la partie C-terminale de la protéine ABL, se trouve un domaine de liaison à l'ADN (D-B pour *DNA binding*), trois signaux de localisation nucléaire (NLS : *Nuclear Localisation Signal*) et un site de liaison à l'actine (domaine A-B pour *actin binding*) (Figure 30) [26].

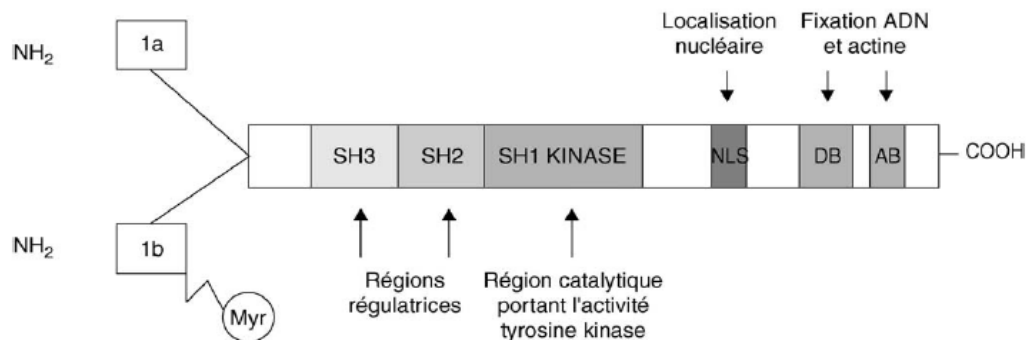


Figure 30 : Structure de la protéine ABL [2]

Cette protéine a un rôle clé dans la transmission des signaux provenant de l'extérieur de la cellule vers une cible intracellulaire, sa fixation à l'ADN suggère qu'elle joue également un rôle dans la transcription, la réplication de l'ADN et la régulation du cycle cellulaire [24]. En effet, lorsqu'elle est localisée au niveau du noyau elle peut induire l'apoptose en stabilisant la protéine p73 et/ou la protéine p53. Au niveau cytoplasmique, cette protéine permet la réorganisation du cytosquelette via des interactions avec les intégrines [27], [28].

2.2. Gène BCR et sa protéine :

Au niveau du bras long du chromosome 22 on trouve le gène BCR qui s'étend sur 130kb et comprend 23 exons. Ce gène est transcrit en deux ARNm de 6,7 et de 4,5kb traduits respectivement en deux protéines de 160 et de 130 kDa [2].

La protéine BCR est ubiquitaire mais elle se localise surtout au niveau du cytoplasme, sa partie N-terminale comprend plusieurs domaines dont 1B nécessaire pour la dimérisation de la protéine BCR-ABL et indispensable à l'activation de l'activité tyrosine kinase de l'ABL au niveau de la protéine hybride. Le domaine 2B, comprend deux sites de liaison aux domaines SH2. Au niveau de la région centrale se situe un domaine d'homologie avec les protéines Dbl : facteur

d'échange GTP (guanosine triphosphate) /GDP (guanosine diphosphate). Enfin, la partie C-terminale a une homologie structurale avec les protéines GAP (*GTPase activating protein*) ayant un rôle dans l'activité bactéricide des PNN, au niveau de la protéine de fusion, cette partie est absente (Figure 31) [2].

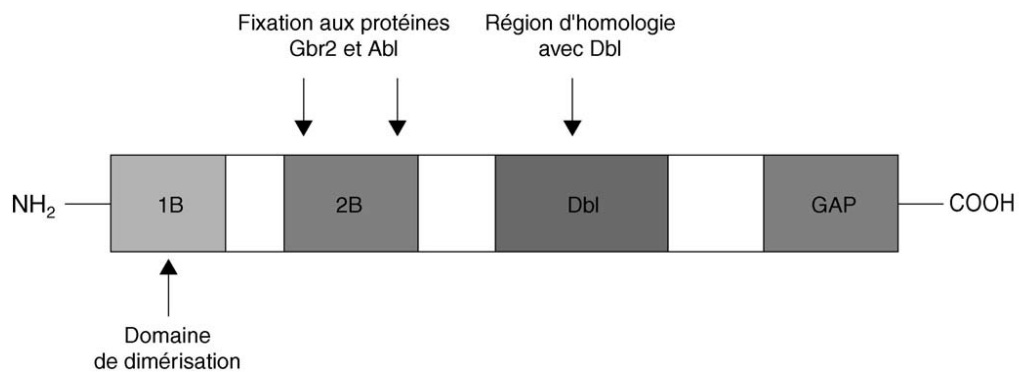


Figure 31 : Structure de la protéine BCR [2]

2.3. Gène de fusion BCR-ABL et sa protéine:

La formation du gène hybride BCR-ABL est la résultante de la fusion des exons du gène ABL avec différentes régions du gène BCR. En effet, les points de cassure permettent de distinguer trois régions (Figure 32) :

- La région M BCR (pour *major BCR*) : majoritairement impliquée dans la LMC, ses transcrits sont b3a2 (e14a2) (60% des cas) ou b2a2 (e13a2) (35% des cas), ils produisent la protéine p210 dont l'expression augmente avec l'âge;
- La région m BCR (pour *minor BCR*) : impliquée dans 0.4 % des LMC et environ 65% des LAL Ph+, son transcrit est e1a2, il produit la protéine p190 ;
- La région μ BCR (pour *micro BCR*) : impliquée dans < 0.1 % des LMC son transcrit est e19a2, il code pour la protéine p230 ;
- Dans 2% des cas on trouve des transcrits atypiques, notamment les transcrits e8a2, e6a2, e19a2, e1a3, b2a3 et b3a3. Leur incidence est plus élevée chez les femmes et diminue avec l'âge [29]-[32].

Apport de la biologie moléculaire dans le diagnostic et le suivi de la leucémie myéloïde chronique : expérience du laboratoire d'hématologie

Les ARN messagers hybrides sont caractérisés par des séquences BCR en 5' et ABL en 3', leur traduction résulte en une protéine ayant une activité tyrosine kinase constitutive. La protéine p210 incriminée dans la majorité des LMC est une protéine cytoplasmique, elle a un poids moléculaire de 210 kDa, elle comprend la partie N-terminale de BCR (domaines 1B et 2B) et la totalité de c-ABL sauf la zone variable de myristoylation N-terminale. La conservation du motif de dimérisation du BCR permet l'auto-activation de la protéine BCR/ABL par transphosphorylation, la perte de la partie N-terminale d'ABL sera à l'origine de la perte de sa capacité d'auto-inhibition, expliquant ainsi l'activation permanente de la tyrosine kinase de BCR/ABL [2].

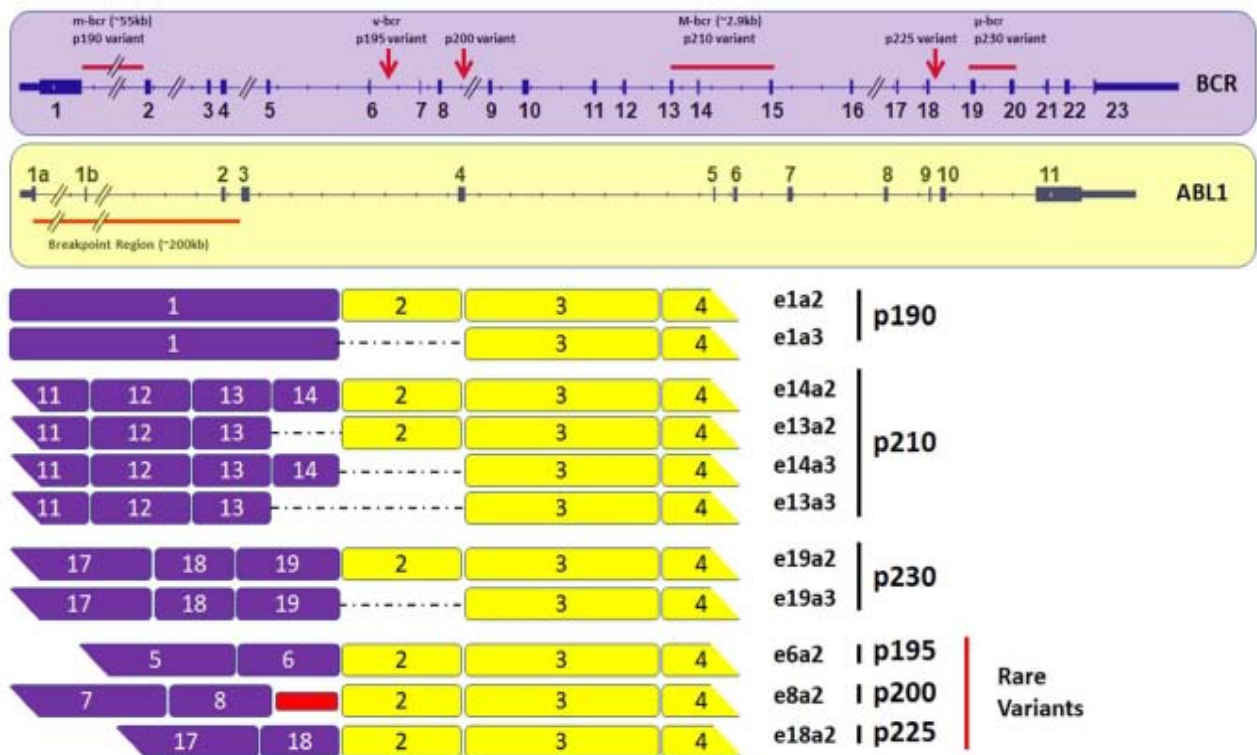


Figure 32 : Représentation schématique des points de cassure entre BCR et ABL conduisant aux différentes protéines de fusion [31]

2.4. Conséquences cellulaires de l'activation de la protéine de fusion BCR-ABL :

Le gène ABL code une protéine à activité tyrosine kinase qui est délocalisée du noyau vers le cytoplasme et dont l'activité devient permanente par la fusion avec le gène BCR. On parle d'activation constitutive de la kinase, qui interagit avec de nombreuses voies de signalisation cellulaire en induisant la phosphorylation excessive de substrats impliquées dans les processus de prolifération, d'apoptose, de différenciation et d'adhésion cellulaire [26] (Figure 33).

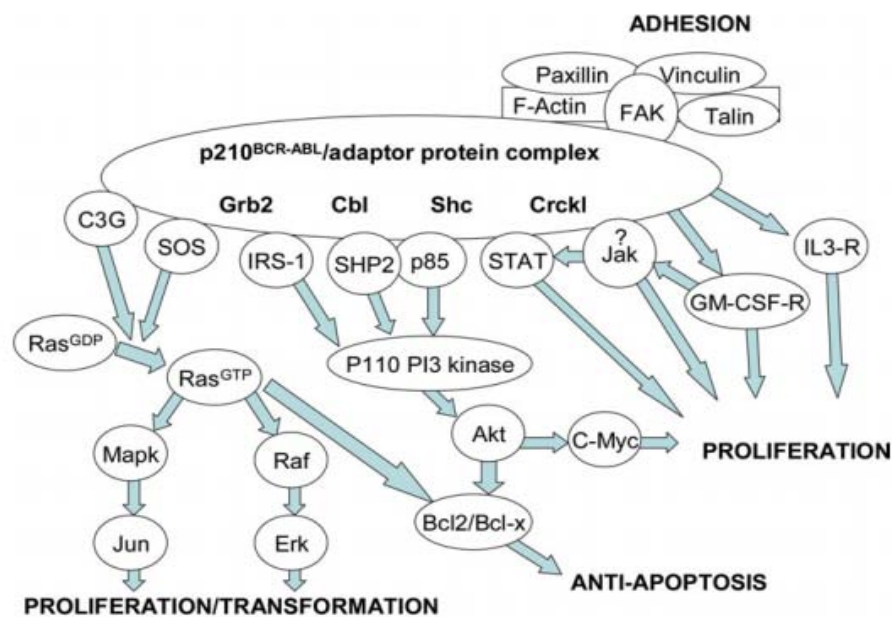


Figure 33 : Principales voies de signalisation activées par BCR-ABL et leur effet [26]

a. Prolifération cellulaire :

Elle concerne toutes les cellules d'origine myéloïdes granuleuses, érythroblastiques, mégacaryocytaires, ainsi que les lymphocytes B et les cellules *natural killer* (NK). Les lymphocytes T4 par contre, sont généralement Ph⁻. En effet, l'implication des lymphocytes T reste exceptionnelle [33] deux théories ont été proposées pour expliquer cette atteinte inconstante :

- La cellule souche subit la translocation à un stade précoce de son évolution incluant ou pas la lignée lymphoïde ;

- La durée de vie plus longues des lymphocytes par rapport aux autres lignées fait en sorte que les lymphocytes périphériques présents au moment du diagnostic sont antérieurs à la transformation néoplasique [2].

b. Activation des signaux mitotiques :

Suite à l'autophosphorylation du résidu tyrosine 177 de la protéine BCR-ABL le domaine SH2 fixe la protéine GRB-2 qui, liée à *Son Of Sevenless* (SOS), stabilise la forme activée de RAS responsable de l'activation de la protéine Raf-1 qui induit à son tour l'expression anormalement élevée des gènes codant pour les facteurs de transcription (c-Fos, c-Myc ou c-Jun) et ceci par le biais de la voie ERK/MAPK [26]. Cependant, deux autres protéines, substrats de BCR-ABL, peuvent aussi activer RAS : SHC se liant à SH2 et CRKL se liant à SH3 [34], [35]

Une autre voie, celle de JAK (Janus kinases), joue à son tour un rôle important. L'activation de la JAK2 par BCR-ABL résulte en l'activation du cycle cellulaire par son action sur les protéines STAT (*signal transducers and activators of transcription*), notamment la STAT3 qui permet avec la STAT5 l'expression accrue du gène c-Myc et des cyclines D1 /D2 [26], [27].

De même, la GRB-2 assure l'activation de la voie des PI3 kinases [36], induisant ainsi un signal prolifératif et anti-apoptotique par l'intermédiaire de la protéine AKT qui assure ce rôle par son action sur la mTORC1 [26].

c. Inhibition de l'apoptose :

Les protéines de la famille BCL2 (*B Cell Lymphoma*) sont fortement impliquées dans ce processus. En effet, plusieurs voies de signalisation agissent en induisant la synthèse des protéines antiapoptotiques (Bcl2, Bcl-xL et Mcl1) et en inhibant celles ayant une activité proapoptotique (Bad et Bax), notamment les voies RAS ou PI3 kinases dépendantes.

D'autres partenaires moléculaires, telles la protéine STAT5 ou encore la voie NFkB interviennent également dans l'inhibition d'apoptose induite par BCR-ABL [26].

d. Altération des propriétés d'adhésion :

Au cours de la différenciation, les cellules immatures doivent avoir un contact direct avec les cellules stromales afin d'assurer leur régulation négative. Lors de la LMC, les cellules tumorales immatures sont caractérisées par la diminution de ce contact suite à la perte de leur capacité d'adhésion au stroma médullaire et à la matrice extracellulaire [37].

En effet, au cours de la LMC, BCR-ABL active les différentes protéines de la voie Rac en formant des complexes, cette action fait intervenir également la Fak Kinase (*Focal adhesion kinase*) renforcée par la paxilline, résultant ainsi en un déficit de fonctionnement des intégrines, en particulier l'intégrine beta-1 au niveau des cellules BCR-ABL positives [26].

e. Instabilité génétique et apparition d'une activité mutationnelle intense :

La production accrue des espèces réactives de l'oxygène est liée à l'activation de la voie PI3K/mTOR par BCR-ABL, ceci à comme conséquence la survenue des dommages d'ADN spontanés avec des anomalies génomiques additionnelles marquant ainsi une instabilité génomique des cellules BCR-ABL+.

De plus, au cours de la LMC les systèmes de réparation de l'ADN sont fortement perturbés par l'action de BCR-ABL notamment par la dégradation des protéines via le protéasome des protéines Abl-1 et Abl-2, favorisant ainsi la survie et l'émergence de cellules leucémiques portant des mutations [26].

IV. Diagnostic positif :

1. Circonstances de découverte et tableau clinique :

La LMC s'installe de façon insidieuse, sa découverte est donc le plus souvent fortuite à l'occasion d'une NFS de routine. Elle peut aussi se révéler par une SPM retrouvée dans plus de 50% de LMC en phase chronique ou par d'autres signes généraux non spécifiques à la maladie (fièvre, AEG...) [2].

La découverte de la maladie au stade de complications quoique rare reste possible, il s'agit le plus fréquemment des complications à type de goutte, et rarement des complications liées à la thrombopénie [38].

2. Diagnostic biologique :

2.1. Hémogramme :

Les anomalies mises en évidence sur l'hémogramme, peuvent être comme suit :

- Hyperleucocytose franche, supérieure à 100 G/l dans 50% des cas, majoritairement composée de PNN, associée à une basophilie et à une éosinophilie ;
- Myélémie constante et harmonieuse sans hiatus de différenciation avec présence de blastes ;
- Anémie normocytaire, normochrome et arégénérative peu courante et modérée ;
- Thrombocytose souvent supérieure à 500 000/mm³. Parfois très élevée, elle est rarement responsable d'incidents thrombotiques par thrombopathie associée [2].

2.2. Myélogramme :

Il objective une augmentation de la richesse médullaire avec une hyperplasie granuleuse marquée, une basophilie, une éosinophilie ainsi qu'une présence de blastes dont le pourcentage varie selon la phase de la maladie. La lignée mégacaryocytaire est riche et de petite taille [2].

2.3. Étude cytogénétique :

a Cytogénétique conventionnelle : caryotype médullaire :

Cet examen est indispensable, il se fait sur biopsie ou aspiration de la moelle osseuse et permet une analyse morphologique par blocage des cellules cultivées en mitose et l'individualisation des chromosomes après coloration et marquage [20]. Il permet la détection et la quantification de pourcentage des cellules Ph⁺ porteuses de la translocation t (9;22) (q34 ; q11) chez 90% des patients atteints de la LMC au moment du diagnostic [39] (Figure 34).

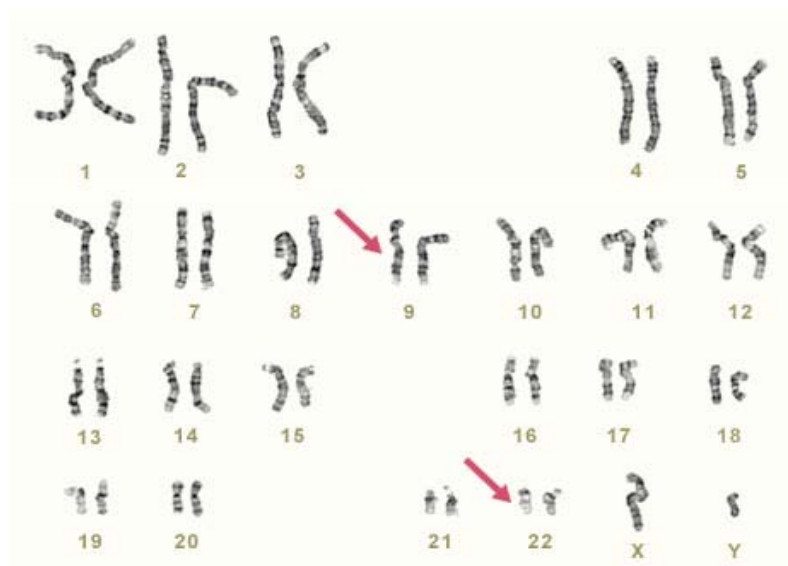


Figure 34 : Caryotype médullaire montrant un chromosome 22 raccourcis correspondant au chromosome Philadelphie et un chromosome 9 plus long [39]

b Hybridation in situ :

La recherche de gène de fusion BCR-ABL peut être effectuée à l'aide de la cytogénétique moléculaire notamment par l'hybridation in situ (*fluorescence in situ hybridization : FISH*). Elle visualise directement le gène de fusion BCR-ABL sur les noyaux et repose sur l'utilisation des sondes marquées au fluorochrome qui s'hybrident avec les gènes correspondants. Les sondes de première génération spécifiques des gènes BCR et ABL sont marquées par deux fluorochrome (vert et rouge) à l'origine d'un spot de fusion jaune détecté en présence de la translocation sur le dérivé 22q- [40].

Cette analyse peut se faire sur prélèvement sanguin, elle permet la détection de 95% des cellules portant le réarrangement BCR-ABL, elle est privilégiée en cas de difficultés ou d'impossibilité de réalisation d'analyse sur la moelle osseuse ainsi qu'elle trouve tout son intérêt dans les cas présentant des translocations masquées avec un caryotype normal (Figure 35) [20], [41], [42].

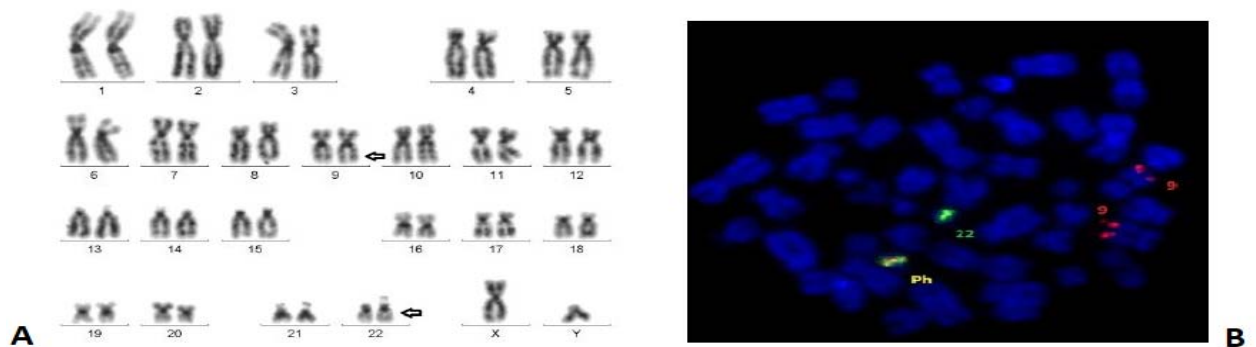


Figure 35 : Confrontation entre les données du caryotype et de la FISH; le caryotype est normal (A), cependant, la FISH montre bien une fusion de BCR et ABL (B) : il s'agit d'un chromosome de Philadelphie masqué par une translocation déséquilibrée [40]

2.4. Biologie moléculaire : RT-PCR

a. Principe :

La RT-PCR repose sur l'amplification par PCR de l'ADN complémentaire (ADNc) obtenu à partir de l'ARN de la séquence ADN cible grâce à une enzyme d'origine rétrovirale ; la transcriptase inverse.

L'extraction d'ARN utilisé dans cette réaction constitue une étape complexe du fait de la grande sensibilité de ces molécules à la dégradation par les ribonucléases (RNases). Trois étapes sont nécessaires pour obtenir des ARN purs. Une première étape de lyse cellulaire permet de libérer les ARN, le lysat est ensuite déprotéinisé par la technique du phénol-chloroforme. Cette technique très longue est le plus souvent remplacée par des trousse d'extraction rapide.

Il est recommandé par la suite d'inhiber la réaction de transcription inverse et de détruire ou dénaturer l'hybride ARN/ADNc afin de procéder à la réaction d'amplification enzymatique qui est catalysée par la Taq polymérase en utilisant deux amorces, l'une complémentaire de la séquence BCR, l'autre complémentaire de la séquence c-ABL. Une deuxième amplification de l'amplicon à l'aide d'un couple d'amorces situé dans la partie interne de la séquence précédemment amplifiée permet à la fois d'augmenter la sensibilité et la spécificité de la méthode, il s'agit de la PCR emboîtée ou PCR nichée (*nested PCR*) [43]-[45].

L'analyse des produits de PCR peut s'effectuer soit directement sur gel d'agarose après coloration au bromure d'éthidium soit après transfert par la méthode de Southern et hybridation avec un oligonucléotide spécifique de chacune des jonctions BCR et ABL. Le marquage de ces sondes oligonucléotidiques peut être isotopique (phosphore 32) ou non [43].

b. Intérêt dans le diagnostic de la LMC:

L'étude par biologie moléculaire est devenue indispensable au diagnostic de la LMC, elle repose une technique de RT-PCR caractérisée par sa rapidité, sa réalisation simple sur prélèvement du sang périphérique ainsi que sa capacité de détection d'une cellule leucémique parmi plus de 10^6 . Ceci lui confère une plus grande sensibilité pour la mise en évidence du gène BCR-ABL par rapport aux autres techniques [21].

De plus, elle permet de définir l'isoforme moléculaire produit en fonction du point de cassure sur le gène BCR, permettant ainsi un suivi fiable par quantification du taux résiduel de transcrit au cours du temps [46].

V. Evolution :

La LMC se caractérise par l'enchaînement de 3 phases au cours de son évolution naturelle. La définition de chaque phase répond à plusieurs critères (Tableau VI).

- La phase chronique (LMC-PC) : progressive, pauci-symptomatique, de durée moyenne de 4 à 5 ans. Plus de 90% des patients sont diagnostiqués au cours de cette phase,
- La phase accélérée (LMC-PA) : phase de transition, peut être inexistante. Elle se caractérise par une thrombopénie, une blastose sanguine et médullaire avec l'acquisition des ACA. Sans traitement, la survie médiane au cours de cette phase est de 12-24 mois [38].
- La phase blastique (LMC-PB) : survient avec un délai médian de 4 ans, elle est caractérisée par l'apparition des signes marquant le passage à une leucémie aigüe [2]. Cette phase est rapidement fatale et réfractaire à la chimiothérapie classique, la survie médiane sans traitement est de 3-12 mois [47].

Tableau VI : Les critères définissant les phases accélérée et blastique selon l'OMS 2016 [1]

	Phase accélérée	Phase blastique
Clinique	Persistance ou augmentation de la SPM ne répondant pas au traitement	
NFS	GB (> 10 G/L) ne répondant pas au traitement Plq > 1000 G/L ne répondant pas au traitement. Plq < 100 G/L, sans lien avec le traitement Basophiles ≥ 20% Blastés 10 - 19%	Blastés ≥ 20%
Myélogramme	Blastés 10 - 19%	Blastés ≥ 20% Prolifération blastique extramédullaire (sauf rate) Grands amas blastiques à la BOM
Cytogénétique	Présence d'ACA au Ph1 (duplication du Phi, +8, i(17q), trisomie 19...), ou un caryotype complexe, ou des anomalies en 3q26.2. ACA sur les cellules Ph+ au cours du traitement	

VI. Evaluation pronostique au moment du diagnostic :

Plusieurs scores étaient élaborés afin de pouvoir classer les patients selon leur probabilité de réponse thérapeutique et de survie, parmi ces scores les plus utilisés sont (Tableau VII) :

- Score de Sokal : le plus populaire, il permet de stratifier les patients en 3 niveaux de risques dont la médiane de survie est significativement différente [48].
- Score de Hasford : permet de discriminer mieux les patients traités par les interférons α (INF- α) en terme de survie [49].

**Apport de la biologie moléculaire dans le diagnostic et le suivi de la leucémie myéloïde chronique :
expérience du laboratoire d'hématologie**

- Score de l'ELTS : permet de considérer le risque spécifiquement lié à la LMC, il est recommandé actuellement par l'ELN ainsi que par la NCCN (*National Comprehensive Cancer Network*) lors de l'identification de sous-groupes pronostiques avant l'initiation du traitement par ITK [3], [4].

Tableau VII : Calcul des scores de risque

Score	Calcul	Niveau de risque
Score de Sokal [48]	$\text{Exp } 0.0016(\text{Age} - 43.4) + 0.0345(\text{taille de la rate en cm} - 7.51) + 0.188[(\text{plaquettes}/700)^2 - 0.563] + 0.0887(\text{blastés} - 2.10)$	Faible <0.8 Intermédiaire 0.8-1.2 Haut >1.2
Score de Hasford (Euroscore) [50]	$[(0.6666 \times \text{âge [0 si âge} < 50 \text{ ans; sinon 1]}) + (0.0420 \times \text{taille de la rate [cm]}) + (0.0584 \times \text{blastés [\%]}) + (0.0413 \times \text{éosinophiles [\%]}) + (0.2039 \times \text{basophiles [0 si basophiles} < 3\% \text{ ; sinon 1]}) + (1.0956 \times \text{taux de plaquettes [0 si plaquettes} < 1500 \times 10^9/\text{L ; sinon 1]}) \times 1000]$	Faible ≤ 780 Intermédiaire 781-1480 Haut risque > 1480
Score ELTS [49]	$0.0025 \times (\text{âge}/10)^3 + 0.0615 \times \text{taille de la rate} + 0.1052 \times \text{blastés sanguins} + 0.4104 \times (\text{taux de plaquettes}/1000) - 0.5$	Faible ≤ 1.568 Intermédiaire 1.568-2.2185 Haut risque > 2.2185

VII. Prise en charge thérapeutique :

1. Objectifs thérapeutiques :

Avec l'avènement des ITK et le développement des techniques de monitoring de réponse thérapeutique, les objectifs de traitement de la LMC sont en perpétuelle évolution.

Actuellement, la rémission clinique, hématologique, et surtout l'éradication la plus complète possible des cellules porteuses du chromosome Ph1 ne constituent plus les seuls objectifs, l'arrêt de traitement par ITK et l'obtention d'une rémission sans traitement (RST) en fait également partie [4].

Cependant, il est important de prendre en considération le profil du patient, son âge, les tares associées, son score pronostique ainsi que sa tolérance au traitement et son accessibilité afin de pouvoir personnaliser les objectifs thérapeutiques. De plus, il faut noter que l'instauration de RST reste difficile dans les pays sous-développés suite à la non disponibilité des traitements et à l'accès restreint aux moyens de surveillance adéquats, l'objectif du traitement est donc la survie en premier lieu [4].

2. Moyens :

2.1. Traitement symptomatique :

Le traitement et la prévention des complications nécessitent le recours tout au long de la prise en charge à des mesures symptomatiques, notamment :

- Les boissons alcalines et un traitement hypouricémiant (allopurinol) doivent être associés, tant que la leucocytose est élevée, pour éviter la survenue d'une crise de goutte, ou d'une lithiase urique, voire d'un syndrome de lyse tumoral.
- La transfusion en cas d'anémie sévère ou de thrombopénie.
- L'utilisation des antibiotiques justifiée par la fréquence élevée des infections.

- Les antalgiques et les anti-inflammatoires en cas de douleurs osseuses.

2.2. Thérapies non ciblées :

a. Chimiothérapies :

L'hydroxyurée (Hydréa) a remplacé à partir des années 70 le busulfan. Dans 70% des cas, une réponse hématologique complète a été obtenue avec des réponses cytogénétiques rares. L'avantage que ce traitement procure est l'effet rapide et moins durable rendant ainsi le risque d'aplasie faible [26].

Actuellement, le recours à l'hydroxyurée reste réservé pour la normalisation du taux des leucocytes, le Busulfan reste utilisé dans le cadre de la préparation des patients à une éventuelle allogreffe [27].

b. INF- α :

Avant l'ère des ITK, l'INF- α constituait le traitement de choix, il permettait d'obtenir 80% des réponses hématologiques avec des rémissions cytogénétiques chez 10 à 20% des patients. L'INF- α reste le traitement de référence chez les patients qui ne sont pas candidats à une greffe de moelle allogénique [26].

Des études ont suggéré la possibilité de réémergence de cette molécule surtout sous sa forme pégylé comme option thérapeutique d'autant plus que son association avec l'imatinib a permis l'obtention rapide des réponses moléculaires profondes [4].

c. Allogreffe :

L'allogreffe conventionnelle ou à conditionnement atténué, reste toujours le seul traitement curatif démontré de la LMC. Cependant, malgré les progrès qui ont permis de réduire la toxicité et la mortalité liées à la greffe, elle s'accompagne toujours d'un taux de mortalité non négligeable qui limite ses indications.

Ses indications sont donc restreintes aux patients âgés moins de 45 ans et en cas de présence de donneur HLA compatible dans la fratrie. Par contre, en phase avancée, l'allogreffe

conserve toute sa place en cas de non-réponse ou d'échappement aux ITK notamment en absence de réponse à un traitement par le ponatinib pendant 3 mois, ou en cas de mutation BCR-ABL T315I. Le choix de l'allogreffe reste également possible dans les pays où l'accès aux ITK est limité [4], [26].

2.3. Thérapies ciblées :

a. ITK de première génération : imatinib (GLIVEC®)

a.1. Mécanisme d'action :

Le site actif de c-abl est formé de trois boucles fonctionnelles ; une boucle C, correspondant au site catalytique de la tyrosine kinase, une boucle P (*phosphate binding loop*), qui structure le site de fixation de l'ATP, et une boucle d'activation A, dont la conformation joue un rôle clé dans l'affinité de la tyrosine kinase pour son substrat, cette conformation dépend de son statut de phosphorylation, lorsqu'elle est déphosphorylée, elle rend l'accès du site catalytique aux substrats difficile [51].

L'imatinib a une activité très spécifique pour l'ABL ; c'est un inhibiteur de la 2-phénylamino-pyrimidine tyrosine kinase qui n'agit qu'après reconnaissance spécifique de la conformation inactive de la boucle A, son action repose sur l'inhibition compétitive de l'ATP en se fixant sur son site de fixation au niveau de la boucle P (Figure 36) [26], [27]. Ce processus aboutit à l'inhibition de l'autophosphorylation, de la prolifération et induction de l'apoptose [2].

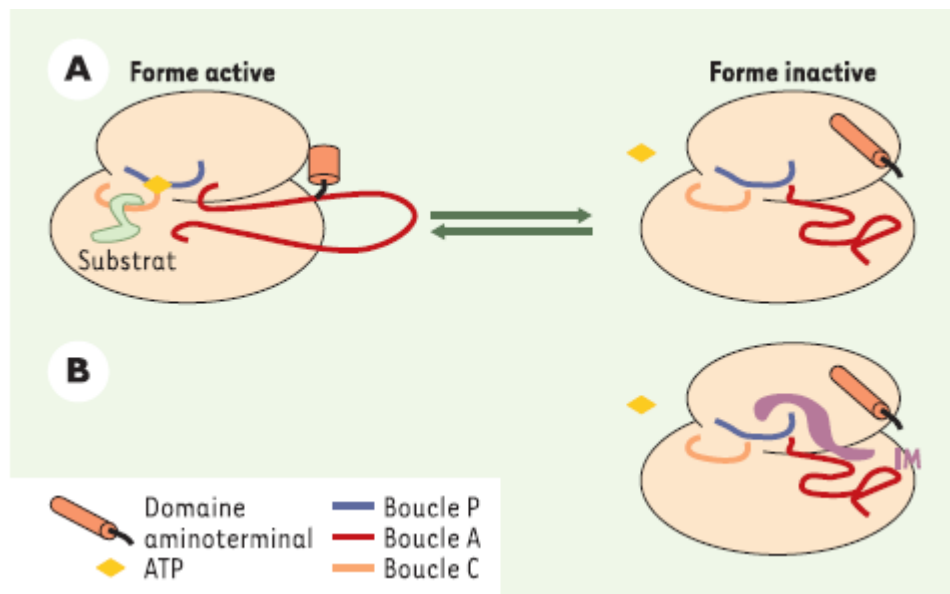


Figure 36 : Représentation tridimensionnelle du site actif de c-abl et action de l'Imatinib sur son stabilisation [51]

a.2. Posologie :

La dose standard est de 400 mg/j en prise unique. En cas de mauvaise de tolérance, une réduction de dose à 300 mg peut être envisagée si une réponse optimale est maintenue. En phase d'accélération, une dose de 800 mg en deux prises est proposée et un recours aux molécules de deuxième génération est recommandé [52].

a.3. Mécanismes de résistance :

Il faut distinguer entre, d'une part, la résistance primaire se définissant comme étant une absence de réponse au traitement dès son instauration, et d'autre part, la perte de réponse initiale résultant en une résistance secondaire acquise. Les mécanismes de résistances sont identifiés dans 70% des cas, ils peuvent être intriqués entre eux et ils concernent les différents compartiments cellulaires hématopoïétiques [26], [53], [54].

Les mutations du domaine kinase de l'ABL constituent le mécanisme le plus fréquent, elles peuvent survenir dans le domaine tyrosine kinase d'ABL ou dans les domaines SH2 ou SH3

de l'oncogène. Plus de 100 mutations ponctuelles sont décrites à ce jour, dont les plus fréquentes et les plus graves sont les mutations T315I et celles affectant la boucle de phosphorylation de BCR-ABL (Figure 37) [53], [21], [54].

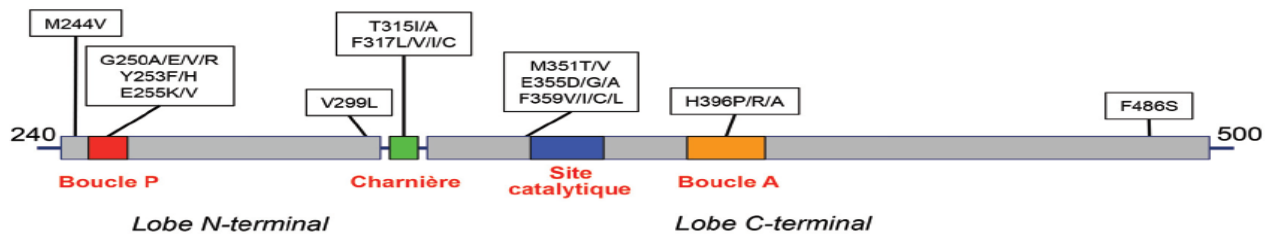


Figure 37 : Mutations du domaine kinase du BCR-ABL, les mutations touchant les acides aminés 250, 253, 255 sont localisées au niveau de la boucle P, les mutations T315I et F317L dans la zone charnière entre les lobes N et C-terminaux, les mutations en 351, 355 et 359 en amont du site catalytique et les substitutions H396P/R dans la boucle A ou boucle d'activation [21]

L'amplification de BCR-ABL constitue également un mécanisme de résistance. En effet, les concentrations croissantes d'imatinib sont à l'origine d'apparition d'une génération des lignées cellulaires résistantes à l'imatinib, ce phénomène concerne 15% des patients qui sont surtout en phase blastique [26].

Parmi les mécanismes BCR-ABL indépendant, on trouve la diminution de la concentration intracellulaire de l'imatinib faisant intervenir l'excès de son métabolisme hépatique par le cytochrome P450 et le cytochrome 3A4 avec une surexpression des protéines d'efflux la glycoprotéine P, codée par le gène MDR1 (*multi drug resistance*) contrastant avec une faible activité de la protéine d'influx *human organic cation transporter 1* (hOCT1) [55], [56].

Enfin, les cellules souches leucémiques quiescentes constituent un défi à l'élaboration d'un traitement efficace. Elles constituent un compartiment de progéniteurs primitifs (CD34+ et Ph+) quiescents insensible à l'imatinib qui ne peut agir que sur les cellules en division. Ces cellules expriment des taux élevés de protéine BCR-ABL et de transcrit des pompes d'efflux d'Imatinib, des taux bas de transcrit des pompes d'influx d'Imatinib (OCT-1), et contiennent un nombre important de mutations BCR-ABL par rapport à des progéniteurs d'aval. Elles peuvent de

la sorte être à l'origine de rechute même en présence d'un taux de transcrit indétectable et surtout lorsque le traitement est suspendu [26].

b. ITK de deuxième génération :

Trois molécules ayant différents niveaux de tolérance et d'efficacité étaient développés ; le nilotinib, le dasatinib et le bosutinib. Leurs indications thérapeutiques étaient initialement restreintes aux cas de résistance à l'imatinib ou lors de la phase blastique de la LMC, leur profil d'efficacité supérieur a permis actuellement leur utilisation en première intention [26].

b.1. Nilotinib (TASIGNA®) :

Il s'agit d'une molécule orale dérivée de la même famille de l'imatinib avec une meilleure spécificité de cible et une efficacité 30 à 50 fois plus élevée in vitro. Son mécanisme d'action repose sur l'inhibition du BCR-ABL en se liant à une conformation inactive du domaine ABL kinase, les modifications structurelles qui lui sont conférées lui permettent de contourner les mutations de site Abl-kinase, agissant ainsi sur BCR-ABL muté et non muté lors des trois phases de la LMC, à l'exception de T315I, E255V/K et Y253H [57].

La posologie préconisée du nilotinib est de 600 mg en deux prises journalières en première ligne, avec une dose de 800 mg en deux prises par jour au-delà de la première ligne. Sa prise est préconisée à jeun [4].

Le nilotinib est associé à un risque accru de survenue des évènements vaso-occlusive et vasospastiques tels que les cardiopathies ischémiques, les accidents vasculaires cérébraux ischémiques et les artériopathies oblitérantes, d'où la nécessité de stratifier le risque cardiovasculaire des patients avant son utilisation avec une contre-indication absolue chez les patients présentant une histoire de coronaropathie, d'AVC ou d'AOMI [4], [58].

b.2. Dasatinib (SPRYCEL®) :

Le dasatinib est environ 300 fois plus puissant in vitro que l'imatinib, son action se porte sur les kinases de la famille Src, c'est un inhibiteur à large spectre il est efficace sur les formes

actives et inactives de l'oncoprotéine BCR-ABL ainsi que sur la plupart des mutations à l'exception de T315I, il reste également très peu efficace contre les mutations dans la région de liaison à l'ATP (V299L, F317L) ou dans le domaine kinase (E255K, L248V, G250E) [26].

La dose préconisée du dasatinib est de 100 mg par jour dans la forme chronique avec une possibilité de réduction de la dose à 50 mg par jour tout en ayant la même réponse et moins des effets secondaires. Pour les formes avancées de la maladie, la dose de 70 mg deux fois par jour est recommandée [4] .

La toxicité de cette molécule est surtout pleuro-pulmonaire, les complications chroniques comportent les pleurésies et rarement l'HTAP. De ce fait, son utilisation est contre-indiquée en cas d'insuffisance respiratoire ou de maladie pulmonaire ou péricardique [4].

b.3. Bosutinib (BOSULIF®):

Le bosutinib est indiqué pour le traitement de toutes les phases de la LMC, lorsque l'imatinib et les autres ITK de 2^{ème} génération ne sont pas appropriés. Il inhibe les cellules portant le réarrangement BCR-ABL y compris les mutants Y253F, E255K et D276G, il est pourtant inefficace contre le mutant T351I [26].

La dose recommandée est de 400 mg une fois par jour en deuxième ligne, son augmentation n'est pas conseillée mais elle peut être diminuée en fonction de la réponse du patient au traitement et des effets indésirables [4].

c. ITK de troisième génération : ponatinib (ICLUSIG®)

Le ponatinib est un ITK de 3^{ème} génération efficace pendant toutes les phases de la LMC et contre les mutations T315I, il est indiqué pour les patients résistant à deux ITK ou plus.

La dose approuvée par l'agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux (FDA) est de 45mg une fois par jour avec un haut profil de toxicité cardiovasculaire dose dépendant, d'où la nécessité de commencer par des doses faibles (30 ou 15mg) chez les patients intolérants ou ayant un profil de résistance faible [4].

3. Suivi des réponses thérapeutiques :

Le suivi reposait longtemps sur l'évaluation des réponses hématologiques avec une surveillance de la normalisation des différents paramètres en début de traitement et des réponses cytogénétiques par caryotype médullaire afin de mesurer le pourcentage des cellules porteuses du chromosome Philadelphie. Avec l'avènement des techniques de biologie moléculaire et l'établissement des équivalents moléculaires (Figure 38), la RQ-PCR est devenue actuellement la méthode de référence pour le suivi des patients atteints de LMC [21][59].

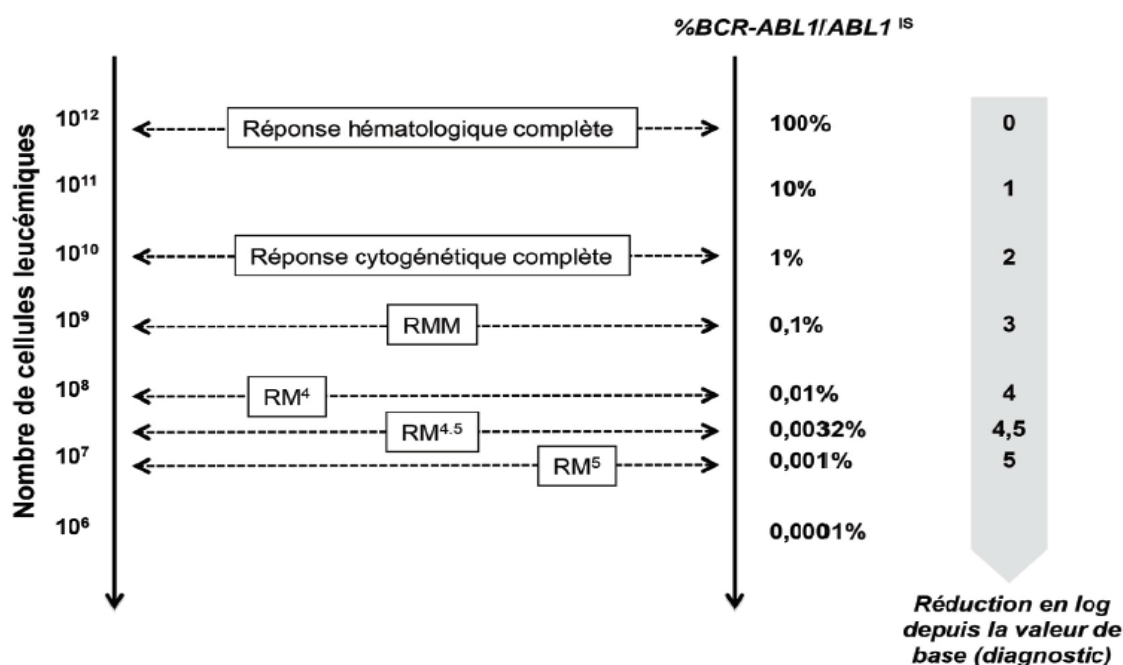


Figure 38 : Types de réponses moléculaires. Tirée de [21] et reproduite avec l'autorisation d'Elsevier Masson

3.1 Principe de la RQ-PCR :

Cette technique était sans cesse améliorée afin d'être actuellement une méthode en grande partie standardisée. Son déroulement se fait comme suit (Figure 39) :

- L'initiation de la transcription inverse (phase RT) se fait par un couple d'amorces externes marquant le 1^{er} tour de PCR (15 cycles),

- Le 2ème tour de PCR comporte 35 cycles et correspond à la PCR en temps réel, il est initié par un couple d'amorces internes,
- L'amplicon niché de 145bp (si b3a2 breakpoint) ou 77bp (b2a2 breakpoint) est ainsi formé en fonction de la translocation de la cible p210,
- La sonde spécifique BCR-ABL s'hybride à l'exon a2 d'ABL à proximité du point de rupture, elle est marquée avec un rapporteur 5' par le fluorophore FAM et par un agent quencher 3' (QSY7),
- La sonde du gène ABL s'hybride avec la jonction a2 et a3 du gène ABL, elle est marquée en 5' par le fluorophore Texas Red (TxRd) et le fluorophore QSY21 (Quencher) en 3',
- L'émission d'un signal de fluorescence par le « reporter », après une excitation par un faisceau laser, se fait à une longueur d'onde spécifique mesurée à la fin de chaque cycle de PCR,
- La sonde reste intacte en absence d'amplification, la fluorescence du « reporter » est inhibée par le fluorochrome « quencher » résultant ainsi en l'émission d'une fluorescence résiduelle,
- En présence d'amplification, chaque sonde s'hybride avec une région d'ADN spécifique amplifiée par une paire d'amorces spécifique, la sonde sera par la suite dégradée suite à l'activité exonucléase 5'-3' de la Taq polymérase libérant ainsi le fluorophore (reporter) et permettant la fluorescence qui n'est plus inhibée par celle du « quencher ». Ainsi, la fluorescence détectée est directement proportionnelle au fluorophore et donc à la quantité d'ADN présente dans le produit de PCR,
- En fonction du rapport de fluorescence Reporter-Quencher, une représentation graphique de l'intensité de fluorescence selon les cycles de PCR est obtenue. Le logiciel va tracer une courbe de calibration avec les Ct en fonction de la quantité permettant de déterminer la quantité de transcrit présent dans le prélèvement [45].

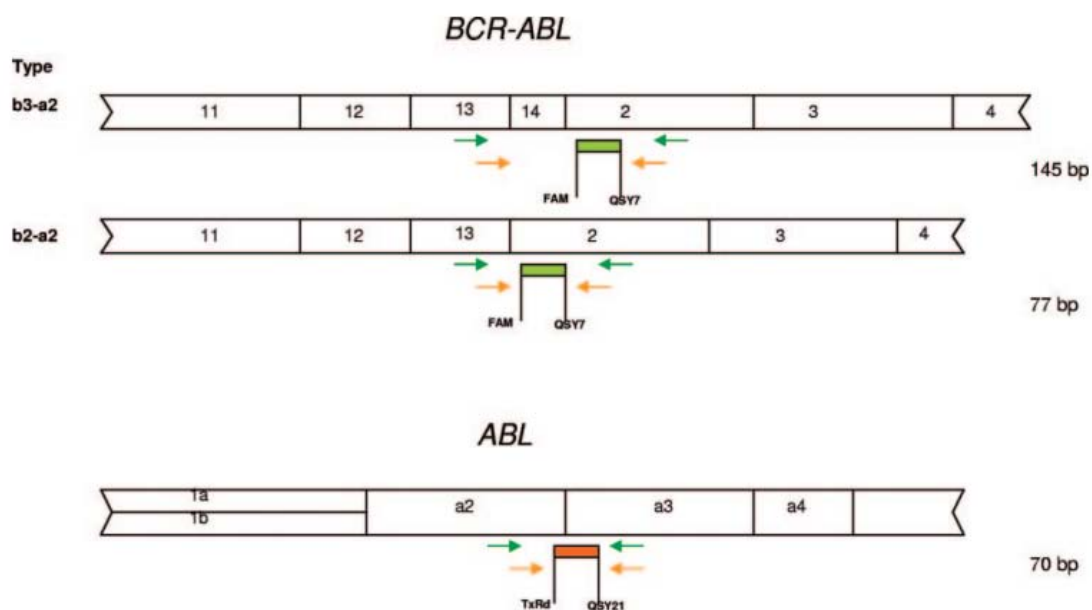


Figure 39 : Les amorces RT-PCR (flèches vertes) et nichées (flèches orange) et les sondes BCR-ABL (en vert) et ABL (en orange). Tirée de [45] et reproduite avec l'autorisation d'Oxford University Press obtenue à travers Copyright Clearance Center, Inc.

Enfin, afin d'obtenir des données comparables d'un laboratoire à l'autre, les résultats sont d'abord normalisés par rapport à un gène de référence permettant un contrôle interne tel que BCR, ABL1 (utilisé en Europe), ou glucuronidase beta (GUSB) et sont ensuite convertis en une IS grâce à des facteurs de conversion (FC) propres à chaque laboratoire. Ces FC sont déterminés par échange d'échantillons biologiques avec le laboratoire de référence national, lui-même étalonné avec les laboratoires de référence internationaux [21], [60].

Le pourcentage de transcrits BCR-ABL1 s'exprime alors par le rapport :

$$\% \text{ BCR-ABL1 / ABL1}^{\text{IS}} = 100 \times \frac{\text{Nombre de copies BCR-ABL1}}{\text{Nombre de copies ABL1}} \times \text{FC}$$

3.2 Critères de réponse et stratégie de suivi :

La RQ-PCR occupe une place importante dans les critères définissant les réponses au traitement par ITK élaborées par l'ELN (Tableau VIII) [4], [61].

**Tableau VIII : Définition des réponses hématologique, cytogénétique et aussi moléculaire selon
les recommandations de l'ELN 2009 [63]**

Réponse hématologique	Réponse cytogénétique	Réponse moléculaire
Un taux de plaquettes inférieur à 450 G/L.	Complète (RCyC) : Ph+ 0 %	RMM \leq 0,10 %
Un taux de leucocytes inférieur à 10 G/L.	Partielle (RCyP :) Ph+ 1-35%	RMP :
La disparition des cellules granuleuses immatures circulantes.	Mineure (RCym) : Ph+ 36-65%	RM4 \leq 0.01%
La réduction de la basophilie à moins de 5 % de la formule sanguine.	Minime Ph+ : 66-95 %	RM4.5 \leq 0.0032%
Cliniquement la disparition de tous les symptômes et signes cliniques, en particulier la splénomégalie.	Aucune Ph+ > :95%	RM 5 \leq 0.001%

Dans ce sens, une stratégie de suivi était mise en place définissant les objectifs thérapeutiques en fonction de la phase du traitement en se basant essentiellement sur les niveaux du transcrit BCR-ABL1 à 3, 6 et à 12 mois (Tableau IX) [4].

Tableau IX : Définition des réponses initiales au traitement par l'imatinib d'après ELN 2020 [4]

	Optimale	Avertissement	Échec
Au diagnostic	-	anomalie cytogénétique additionnelle, haut risque selon ELTS	-
3 mois	≤10%	>10% si non confirmé	>10% si confirmé en 1-3mois
6 mois	≤1%	>1-10%	>10%
12 mois	≤0.1%	>0.1-1%	>1%
Ultérieurement	≤0.1%	>0.1-1%	>1%, mutation de résistance, ACA

Cette stratégie englobe de plus, la réalisation d'un hémogramme chaque deux semaines jusqu'à l'obtention d'une réponse hématologique complète ou de façon plus fréquente en cas de toxicité hématologique liée au traitement. La RQ-PCR doit être réalisé à son tour chaque 3 mois même après l'obtention d'une réponse moléculaire majeure, car une surveillance étroite de la réponse moléculaire est nécessaire pour pouvoir déterminer l'éligibilité du patient pour l'arrêt thérapeutique [4]. Quoique, les recommandations de la NCCN indiquent un espacement possible des surveillances moléculaires après 2 ans avec un intervalle de 6 mois entre chaque test [3].

Chapitre 2 : Discussion des résultats

I. Données épidémiologiques :

1. Sexe :

Dans la littérature (Tableau X), plusieurs études ont démontré une nette prédominance masculine dans la distribution de la LMC avec un sexe ratio (H/F) proche de 2 : entre 1,4 et 2,2 hommes sont touchés pour une femme [2].

Notre étude a montré un sexe ratio homme/femme de 2,3 ; ce chiffre est proche de celui constaté au niveau de la cohorte d'Estonie [62] qui était de 2.8, ainsi que celui trouvé aux études faites à l'Inde [63] et en Autriche [62] qui était respectivement de 1.88 et 1.6.

En outre, des différences de sexe ratio moins significatives mais ayant montré une prédominance masculine ont été constatées en France [64], Algérie [38] et en Tanzanie [65].

Par contre, une étude menée au centre hospitalier universitaire (CHU) Ibn Rochd à Casablanca [66] n'a pas montré de différence de distribution de la LMC selon le sexe dans l'échantillon étudié.

Tableau X : La distribution selon le sexe dans différentes séries

Série	Pays	Sexe ratio (H/F)
Hoffmann et al.[62]	Autriche	1.6
Hoffmann et al.[62]	Estonie	2.8
Defossez et al.[64]	France	1.4
Gorre, et al.[63]	Inde	1.88
Nasser et al.[65]	Tanzanie	1.25
Nachi et al.[38]	Algérie	1.05
Camara et al. [66]	Maroc (Casablanca)	1
Notre série	Maroc (Marrakech)	2.3

2. Âge :

L'âge est un facteur important conditionnant le pronostic et par conséquent, les décisions thérapeutiques [4]. La LMC peut se développer à tout âge, bien que son incidence maximale survienne pendant l'âge adulte [3].

Notre étude a objectivé un âge moyen de diagnostic de 59.2 ans, avec un maximum de fréquence entre 50 et 69 ans.

Ce résultat concorde avec les données des registres de l'EUTOS [62] et SIMPLICITY [67] des populations européennes et américaines chez qui l'âge moyen au diagnostic est de 56 à 57 ans. Néanmoins, il existe une discordance avec les résultats établies chez les populations provenant des pays en voie de développement et sous-développés où la LMC survient surtout chez les sujets jeunes d'âge inférieur à 50 ans (Tableau XI) [68].

Tableau XI : Les résultats de différentes séries concernant l'âge de diagnostic

Série	Pays/Région	Âge moyen
Hoffmann et al.[62]	France	59 ans
Hoffmann et al.[62]	Slovénie	59.5 ans
Malhotra et al. [68]	Moyen-Orient	38 ans
Nachi et al.[38]	Algérie	48 ans
Camara et al. [66]	Maroc	42 ans
Notre série	Maroc	59 ans

3. Couverture sanitaire :

Le recours aux ITK et aux différents outils de biologie moléculaire ont révolutionnés la prise en charge de la LMC. Cependant, plusieurs facteurs dont l'accès aux soins, le coût des médicaments et des moyens de suivi et la présence d'une couverture médicale sanitaire, ont un impact sur la survie globale des patients [69].

En effet, les études menées dans ce sens ont mis en évidence une association significative entre l'obtention des réponses moléculaires majeures et la présence d'une assurance médicale couvrant le coût des ITK et d'un monitoring par PCR pour au moins 3 fois par an [70], ce facteur est particulièrement notable chez les sujets jeunes, chez qui l'absence de couverture médicale a un plus grand impact sur l'adhérence au traitement et sur le suivi [71].

Dans notre étude, la totalité de nos patients avaient une assurance médicale leur permettant ainsi, l'approvisionnement des ITK et le suivi régulier par la technique du GeneXpert.

II. Diagnostic clinique :

1. Antécédents :

Dans la littérature, les personnes exposées au benzène d'une manière chronique ou aux doses élevées des radiations ionisantes ainsi que les patients traités par des agents chimiothérapeutiques ou des immunosuppresseurs, semblent présenter un risque de développer une LMC [72]. Dans notre série aucun facteur étiologique n'a été retrouvé.

Cependant, 50% des patients de notre série présentaient des comorbidités notamment une HTA (20%), une tuberculose multifocale (10%) et un tabagisme chronique (10%). Actuellement, les comorbidités constituent la cause la plus fréquente de morbi-mortalité chez les patients atteints de la LMC, influençant ainsi la cadence du suivi et les choix thérapeutiques [73]. Ceci explique l'incorporation de leur évaluation dans les recommandations de l'ELN et de la NCCN, ainsi que la mise en valeur de l'éducation thérapeutique des patients avec la stipulation d'un suivi rigoureux, qui devrait non seulement concerner les réponses moléculaires mais aussi l'état général du patient est les différents facteurs de risque affectant la survie globale et la qualité de vie [3], [4].

2. Circonstances de découverte et tableau clinique :

Dans la littérature, la découverte de la LMC est souvent fortuite par une NFS de routine. Une symptomatologie faite de pesanteur de l'hypochondre gauche, fièvre, amaigrissement et sueurs nocturnes, est également rapportée et se voit surtout chez les patients à des stades plus avancées de la maladie [74]. Dans notre étude, le syndrome anémique était le motif de consultation le plus fréquent, retrouvé chez 60% des cas, sa présence est en partie liée au retard diagnostique. La pratique non systématique de l'hémogramme dans notre contexte semble être la cause probable de cette différence.

À l'examen clinique la splénomégalie était présente chez 50% de nos patients, ce qui rejoint les résultats de l'étude internationale randomisée de l'interféron (IRIS) [75]. Par contre, aucun de nos patient n'a présenté une hépatomégalie (HPM) ou des adénopathies (ADP) et ceci contrairement aux résultats des séries de Nasser [65], Chikkodi [76] et El Mouhdi [77] (Tableau XII).

Tableau XII : Différentes manifestations cliniques selon les séries

Série	SPM	HPM	ADP
IRIS [75]	50.1%	Non signalée	Non signalées
Hoffmann et al.[62]	46.5%	Non signalée	Non signalées
Nasser et al.[65]	84.2%	17.1%	5.7%
Chikkodi et al. [15]	84.7%	40.5%	6.1%
El Mouhdi. [77]	88.6%	18%	4%
Notre série	50%	0%	0%

III. Diagnostic biologique :

1. Anomalies hématologiques orientant le diagnostic :

1.1. Hémogramme :

L'hémogramme constitue un examen essentiel car il permet d'évoquer le diagnostic. Dans notre série, l'hyperleucocytose est franche chez tous nos patients avec une moyenne de 166,9 G/L et des extrêmes allant de 57,9 à 270 G/L. Ceci concorde avec les séries de la littérature (Tableau XIII).

De plus, la thrombocytose est très fréquente dans notre série ; elle est retrouvée chez 80% des cas avec une moyenne de 482.2 G/L. Cette valeur est proche de celle de la série Ségbéna et al [78] qui est de 491 G/L (Tableau XIII). Cependant, aucun incident thrombotiques n'a été signalé chez nos patients, ce qui concorde avec les données de la littérature [2].

D'autre part, la présence une anémie été notée dans 80% des cas rejoignant ainsi les résultats de Nachi [79] et d'El Mouhidi [77] avec un taux respectivement de 76.38 % et de 87%.

Enfin, la lecture du frottis sanguin a permis de révéler la présence d'une myélémie avec un taux dépassant 30% chez plus de 50% des patients, ce résultat concorde avec les données de la littérature où l'importance de la myélémie augmente avec l'augmentation de la leucocytose [80].

Tableau XIII : Comparatif des données de l'hémogramme dans plusieurs séries

Série	Globules blancs				Plaquettes	
	Valeur moyenne (G/L)	Extrêmes (G/L)	100 000 - 400 000 /mm ³	> 400 000/mm ³	Valeur moyenne (G/L)	Extrêmes (G/L)
Chikkodi et al. [76]	138.3	[4.1-697]	-	-	326	[85 - 1819]
El Mouhdi [77]	239	[27 - 413]	75%	15%	298	[116 -1071]
Lang et al. [81]	95	[9.2 - 598]	-	-	395	[89 - 4800]
Agharbi [82]	-	[20 - 900]	13%	52%	-	[154 - 800]
Notre série	166.9	[57,9- 270]	90%	0%	482.2	[168 - 1607]

1.2. Myélogramme :

Cet examen n'est pas nécessaire au diagnostic, il ne fait que confirmer l'hyperplasie myéloïde. Néanmoins, il est indispensable pour quantifier le pourcentage de blastes et par conséquent, préciser le stade de la maladie. Il permet également de réaliser le caryotype initial [2].

Dans notre série, il a été effectué chez tous les malades objectivant dans tous les cas une moelle riche en cellules granuleuses et mégacaryocytaires, ce qui concorde avec les données de la littérature [2]. Ce myélogramme a permis également de classer les patients selon les phases évolutives de la maladie (Tableau XIV).

Tableau XIV : Les phases de la maladie lors du diagnostic selon les séries

Série	LMC-PC	LMC-PA	LMC-PB
Hoffmann et al. [62]	94.3%	3.5%	2.2%
Smith et al. [83]	97.1%	1.6%	1.3%
Şahin et al. [84]	93.2%	6.8%	0%
Malhotra et al. [68]	91.7%	6.7%	1%
Djouadi et al. [18]	88.8%	9%	3.1%
Notre série	90%	10%	0%

2. Confirmation du diagnostic :

2.1. Diagnostic cytogénétique :

Le caryotype constitue un examen essentiel faisant partie du bilan de base recommandé au moment du diagnostic [3], [4]. Il permet non seulement la détection du chromosome Ph1 mais aussi la mise en évidence des anomalies cytogénétiques additionnelles (duplication du Phi, +8, i(17q), trisomie 19...) influençant le pronostic et permettant de préciser la phase de la maladie [3].

Dans notre série, la totalité des patients ont bénéficié d'un caryotype, il est revenu positif dans 100% des cas avec absence d'ACA chez la totalité des sujets. Néanmoins, la fréquence du caryotype Ph1+ est plus élevée chez nos patients par rapport aux différentes séries, ceci pourrait être expliqué par la taille réduite de notre échantillon (Tableau XV).

Tableau XV : Comparaison des résultats du caryotype selon les différentes séries

Série	t(9;22) isolée	t(9;22) négative	ACA
Hoffmann et al.[62]	86.9%	3.7%	9.4%
Smith et al. [83]	86.4%	8.6%	5.0%
Mukiibi et al. [16]	95%	5%	0%
Djouadi et al. [18]	95.3%	0.9%	3.8%
El Mouhdi. [77]	73.6%	26.4%	2.56%
Notre série	100%	0%	0%

En effet, dans 5% des cas, le caryotype ne permet pas de détecter la présence du chromosome Ph1 suite à la présence d'une translocation variante complexe pouvant impliquer plusieurs chromosomes ou d'une insertion cryptique de matériel chromosomique. Dans ce cas, la LMC est dite Ph1 négative et BCR-ABL positive, seules les techniques FISH et de biologie moléculaire (RT-PCR) permettront respectivement la détection du gène hybride et du transcrite BCR-ABL [41]. Dans une étude menée au sein de la faculté de médecine et de pharmacie de Fès, 12 patients dont le caryotype était négatif ont bénéficié d'une FISH qui a permis l'identification du gène de fusion BCR-ABL [77].

De ce fait, l'hybridation in situ reste réservée aux cas ayant un tableau clinique typique de la LMC avec une négativité du caryotype et de la RT-PCR [41]. Elle peut parfois être un complément utile quand le nombre de cellules (sanguines ou médullaires) en métaphases obtenu est insuffisant, voire absent, ainsi qu'elle permet de rechercher la délétion du chromosome 9 qui constitue un facteur de mauvais pronostic [2].

2.2. Biologie moléculaire :

Dans notre étude, 80% des patients ont bénéficié d'une PCR quantitative au moment du diagnostic réalisée sur l'automate du GeneXpert ; c'est un test de diagnostic in vitro destiné à la détection quantitative des transcrits d'ARNm de translocation chromosomique BCR-ABL1 (types e13a2/b2a2 ou e14a2/b3a2) et les transcrits d'ARNm du contrôle endogène ABL1 dans les échantillons de sang périphérique. Il automatise et intègre toutes les étapes analytiques, des résultats de l'échantillon aux résultats de la RQ-PCR [7], [85], [86].

En effet, l'implantation de cette technique au sein du laboratoire de l'hématologie de l'HMA présente de nombreux avantages ; notamment la rapidité d'exécution permettant d'obtenir les résultats le jour même, la possibilité d'obtenir des résultats exprimés par rapport au standard international et la réduction des biais liés aux réactifs et aux pipettes grâce à une cartouche multichambre jetable où la totalité des réactifs utilisés pour la préparation de l'ARN et les étapes de RT-PCR et de PCR sont lyophilisés.

Dans la littérature, le recours aux méthodes quantitatives au moment du diagnostic reste discuté, les auteurs des recommandations du NCCN préconisent de réaliser d'emblée une RQ-PCR et ne recourir au PCR qualitative qu'en cas de discordance entre les résultats des examens cytogénétiques et de la PCR quantitative [3], ceci est utile dans la mesure où l'étude quantitative des taux du transcrite BCR-ABL permet non seulement la détection des transcrits les plus fréquents (M-BCR) mais aussi d'établir une valeur de base pour l'étude de cinétique de baisse qui influence les décisions thérapeutiques au cours du suivi.

Par ailleurs, certaines études ont rapporté l'association des taux élevés du transcrite au moment du diagnostic avec une moindre probabilité de réponse. Or, les niveaux du transcrite au diagnostic restent controversés comme étant facteur prédictif d'atteinte d'une réponse moléculaire ; des études récentes n'ont montré aucune corrélation avec la réponse et la survie des patients [87].

Toutefois, l'évaluation systématique par RQ-PCR n'est pas jugée importante à ce stade selon les recommandations de l'ELN [4]. En effet, la PCR quantitative et particulièrement la technique de GeneXpert présente plusieurs limitations ; outre le coût élevé des cartouches, elle ne permet que la détection des transcrits b2a2 et b3a2, ce test n'est ainsi pas adapté pour le screening des patients au diagnostic [86].

En conséquence, il est actuellement recommandé de réaliser dès le diagnostic une PCR qualitative notamment de type multiplexe capable d'amplifier et d'identifier plusieurs transcrits simultanément dans une seule réaction de PCR. Son intérêt ne se limite pas seulement à la détection du transcrite de fusion BCR-ABL mais aussi à la précision du type de transcrite qui s'avère nécessaire pour le choix des amorces d'ADN utilisées lors du suivi de la maladie résiduelle [4].

En effet, 2 à 5% des patients présentent des transcrits atypiques e13a3 ou e14a3 variantes de la protéine p210 ou des transcrits codant pour p230, ceci est à l'origine des faux négatives en cas d'utilisation des amorces typiques (e13a2 ou e14a2), l'absence de détection de

ces transcrits au moment du diagnostic induit donc en erreur lors du suivi en donnant une impression d'avoir une réponse moléculaire complète chez ces patients [3], [4], [88]. Effectivement, une étude menée au sein du CHU Oran, a permis de mettre en valeur l'importance de la PCR multiplexe dans la pratique : suite à une transformation aigue, une évaluation moléculaire a été demandée chez un patient suivi comme ayant un transcrit majeur, le recours à la PCR multiplexe a permis d'identifier un transcrit rare de type micro e19a2, si le type du transcrit avait été identifié au diagnostic ce patient aurait pu avoir une meilleure chance de survie [38].

Dans notre série, seulement 20% des patients ont eu accès à la RT-PCR multiplexe, elle a objectivé la co-expression des deux types du transcrit e13a2 et e14a2 (b2a2 et b3a2) dans la totalité des échantillons analysés, cette co-expression est expliquée par le processus de l'épissage alternatif [89]. Dans une étude internationale menée par Baccarani et al, le transcrit b3a2 était le plus fréquent, sa proportion globale était de 54.5%, l'expression simultanée des transcrits e13a2 et e14a2 ne constituait que 7.6% des variantes détectées, avec une répartition prédominante en Australie (18.7%) et moins fréquente en Asie (2.4%) [90]. La variabilité des incidences de différents transcrits selon les régions est également observée dans plusieurs études (Tableau XVI), la différence des profils génétiques, les facteurs environnementaux ainsi que la sensibilité de détection des différentes méthodes employées peuvent en être la cause.

**Tableau XVI : Fréquences des différents variant du transcrit BCR-ABL1 retrouvées dans
différentes études**

Série	Pays	b3a2	b2a2	e19a2	e1a2	b3a2 + b2a2	Autres
Baccarani et al. [90]	Internationale	54.5%	37.9%	0.31%	0.21%	7.6%	1.17%
Goh et al. [46]	Corée	67.6%	32.34%	0.72%	0.18%	0.36%	0.2%
Fausto et al. [91]	Italie	52%	37%	0.6%	0.4%	11%	0%
Hanfstein et al. [92]	Allemagne	45%	41%	0.0054%	0.0027	14%	-
Arana-Trejo et al. [93]	Mexique	35%	48%	2%	-	7%	-
Bennour et al. [94]	Tunisie	63.6%	36.36	-	-	-	-
Nachi et al. [95]	Algérie	60.94%	35.93%	3.12%	-	-	-
Notre série	Maroc	-	-	-	-	20%	-

IV. Evaluation pronostique au moment du diagnostic :

Dans notre étude, l'évaluation initiale du pronostic reposait sur le score de l'ELTS et ceci conformément aux recommandations de l'ELN [4] qui considèrent ce score comme le meilleur indicateur de survie globale spécifique à la LMC.

En effet, l'introduction des ITK a permis de réduire de façon significative les décès imputables à la LMC, l'âge n'a plus le même impact péjoratif sur la survie par rapport à l'ère de chimiothérapie conventionnelle qui faisait appel au score de Sokal au cours de l'évaluation pronostique [4]. Dans ce sens, une étude du groupe italien GIMEMA (le groupe italien des maladies hématologique des adultes) a permis de mettre en évidence la surestimation de nombre de patients classés de haut risque surtout chez les patients âgés par le score de Sokal, cédant ainsi place au score de l'ELTS qui reste le seul prédictif du taux de décès imputables à la LMC [52].

Chez les patients de notre série, le score ELTS a permis de classer 60% des patients dans les groupes à risque intermédiaire et haut ce qui est plus important par rapport à la littérature, le retard diagnostique peut expliquer ce résultat (Tableau XVII).

Tableau XVII : Résultat de l'évaluation pronostique par le score ELTS dans différentes séries

Série	Lieu	Faible risque	Risque intermédiaire	Haut risque
Zhang et al. [96]	Chine	66%	25%	9%
Pfirschmann et al. [49]	Europe	61%	27%	12%
Geelen et al. [97]	Suède - Pays-bas	47%	36%	17%
Sato et al. [98]	Japon	74%	21%	5%
Notre série	Maroc	40%	30%	30%

V. Stratégie thérapeutique :

1. Traitement de première ligne :

Actuellement, les ITK constituent le traitement de première ligne recommandé en première intention. Cependant, le recours à une courte cure de chimiothérapie par hydroxyurée est possible en attendant la confirmation diagnostique [4]. Conformément à ces recommandations, 80% des patients dans notre série ont bénéficié d'une chimiothérapie en préphase.

En effet, 4 ITK ont été approuvés pour l'utilisation en première ligne par la FDA et par l'agence européenne des médicaments (EMA), il s'agit de l'imatinib, dasatinib, nilotinib et bosutinib. La totalité de ces molécules sont efficaces sur la LMC en phase chronique nouvellement diagnostiquée, le choix dépend du score de risque, le profil de toxicité, l'âge, la tolérance et les comorbidités [3].

Le recours aux ITK de deuxième génération peut être préférable chez le sujet jeune particulièrement de sexe féminin suite à la rapidité d'obtention des réponses moléculaires profondes par rapport à l'imatinib permettant ainsi une éventuelle interruption thérapeutique en

cas de projet de grossesse. L'imatinib par contre, est préféré chez les sujets âgés et/ou ayant des comorbidités surtout cardiovasculaires [3]. Les deux options restent possibles chez les patients quelque soit leur niveau de risque, néanmoins, l'utilisation des ITK de 2^{ème} génération est privilégiée [3].

Dans notre étude, la totalité des malades ont été mis sous imatinib. L'âge des patients, la disponibilité de ce médicament, son coût ainsi que les conditions de prise en charge mises en place par les organismes de couverture sanitaire, expliquent le recours à cette molécule lors du traitement de première ligne. Ce résultat se rapproche à celui observé dans des études menées en Côte d'Ivoire [99], l'Inde [76] et la Tunisie [100], où l'imatinib constitue la molécule prescrite en première intention, ceci pourrait s'expliquer par le niveau de développement du pays et la prédominance de bas niveau socio-économique restreignant l'accès aux ITK de deuxième génération (Tableau XVIII).

D'autre part, l'allogreffe n'est plus recommandée en première ligne chez les patients en phase chronique de la LMC, elle est considérée pour les cas n'ayant pas de réponse à deux ITK ou plus [88]

Tableau XVIII : Traitement de première ligne selon les différentes séries

Séries	Pays	Traitement de 1 ^{ère} ligne		
		Imatinib	ITK de deuxième génération	Allogreffe
Molica et al. [101]	Italie	81.2%	Dasatinib (6%) Nilotinib (13%)	0%
Sato et al. [98]	Japon	50%	Dasatinib (27%) Nilotinib (23%)	0%
Lang et al. [81]	France	94%	Nilotinib (6%)	0%
Silué et al. [99]	Côte d'Ivoire	100%	0%	0%
Chikkodi et al.[76]	Inde	100%	0%	0%
Bahri et al. [100]	Tunisie	100%	0%	0%
Notre étude	Maroc	100%	0%	0%

2. Traitement de deuxième ligne :

En fonction des réponses moléculaires obtenues, le passage à une deuxième ligne thérapeutique pourrait être indiqué, les patients ayant des taux de transcrit > 10% à 6 et à 12 mois sont considérés comme étant résistants au traitement par ITK, une évaluation pour éventuelle allogreffe doit être alors discutée, chez ceux ayant une augmentation de 1-log du taux de transcrit BCR-ABL avec perte de RMM la recherche de mutation du domaine kinase doit être de mise [4].

Néanmoins, l'augmentation du taux de transcrit à elle seule ne peut motiver une recherche de mutation, les niveaux du transcrits exacts pour lesquels cela est indiqué restent controversés et dépendent des performances de la technique du RQ-PCR utilisée par les différents laboratoires. Par conséquent, Il faudra prendre en considération le contexte clinique du patient avant de procéder à un changement drastique de la stratégie thérapeutique [3].

De plus, le passage au traitement de deuxième ligne ne devra se faire qu'après vérification de l'observance thérapeutique, la recherche de mutation du transcrit et la réalisation du caryotype médullaire afin de détecter d'éventuels ACA. En cas de mutation, la détermination de son type dicte le choix de la molécule (Tableau XIX). En absence de mutations, le choix de la molécule dépend des facteurs sus-jacents. La définition de la réponse est la même que les traitements de première ligne [4].

Tableau XIX : L'inhibiteur de tyrosine kinase recommandé selon le type de mutation selon ELN

2020 [4]

T351I	Ponatinib
F317L/V/I/C, T315A	Nilotinib, bosutinib, ou ponatinib
V229L	Nilotinib ou ponatinib
Y253H, E255V/K, F359V/I/C	Dasatinib, bosutinib, ou ponatinib

Dans notre série, 40% des patients ont bénéficié d'un traitement de deuxième ligne à base de nilotinib en raison d'un échec thérapeutique chez 3 patients et suite à une toxidermie médicamenteuse chez un patient. À noter que conformément aux recommandations de l'ELN [4], la détection des ACA par caryotype médullaire a été effectuée se révélant négative. Par contre, à ce stade, la recherche des mutations n'a été de mise que chez un seul patient et ne concernait qu'un seul type de mutation (T315I), ceci pourrait s'expliquer par l'absence d'accessibilité aux moyens de biologie moléculaire permettant cette analyse au niveau de notre structure hospitalière, sa réalisation se fait donc à l'étranger et reste conditionnée par la présence des moyens économiques et logistiques chez les patients.

3. Traitement de troisième ligne :

Les lignes thérapeutiques au-delà de la deuxième ligne ne sont pas aussi codifiées, généralement un taux de BCR-ABL >1% à ce stade n'est pas suffisant pour pouvoir assurer une survie optimale. Le choix de l'ITK doit être guidé par le profil mutationnel du transcrit BCR-ABL et l'allogreffe doit être également considérée [4].

Dans notre étude, 2 patients ont été mis sous traitement de troisième ligne à base de dasatinib suite à un échec thérapeutique. Aucune ACA n'a été retrouvée au caryotype médullaire, quant à la recherche de mutation, un seul patient en a bénéficié et la mutation T315I n'a pas été détectée.

4. Le profil de toxicité des ITK :

Le recul acquis avec l'utilisation des ITK, permet aujourd'hui d'avoir une connaissance assez précise de leurs effets indésirables et des complications qui en résultent. Ils sont considérés comme des thérapies ciblées avec globalement une bonne tolérance [4].

Il faut distinguer d'emblée, entre les effets secondaires hématologiques (neutropénie, thrombopénie, anémie) qui surviennent généralement au début de traitement, ils sont rarement responsables d'un changement thérapeutique et sont souvent jugulés par des adaptations

posologiques, ces effets sont communs entre les différents ITK. Les effets secondaires non hématologiques par contre, peuvent soit altérer la qualité de vie des patients (30%) ou être responsables des complications (15%) aboutissant à une modification de traitement [4].

Dans notre étude, 50% des patients mis sous imatinib avaient présenté des effets indésirables faits de crampes musculaires (10%) bénéficiant d'un traitement symptomatique, œdème des paupières spontanément résolutifs (10%), neutropénie fébrile avec myocardite (10%) responsables d'un arrêt temporaire de traitement pendant un mois, et une toxidermie médicamenteuse chez 2 patients motivant la substitution de traitement par le nilotinib chez un seul patient. Ces effets ne sont pas plus marqués que ceux observés dans l'étude IRIS [75] où les œdèmes superficiels étaient présents chez 55.5% des patients, avec survenue de neutropénie chez 60.8% des patients.

Par ailleurs, le dasatinib était responsable chez une patiente d'un épanchement pleural à 25 mois résultant en un arrêt de traitement et une ré-introduction du nilotinib. Cet effet a été rapporté dans la littérature avec une incidence de 37%, il peut survenir jusqu'à un an après l'instauration du traitement [102]. La toxicité au nilotinib n'a été par contre rapportée chez aucun patient dans notre série, dans littérature cette molécule est responsable d'une toxicité cardiovasculaire dans 20% des cas, d'où la nécessité de dépister les facteurs de risque cardiovasculaires avant sa mise en route [103][4].

5. Arrêt de traitement :

Le développement des techniques de surveillance moléculaire a permis l'introduction de la notion d'arrêt thérapeutique, son instauration est possible chez les patients atteints de LMC répondant à un ensemble de conditions dont le but est d'assurer le maintien d'une rémission sans traitement (Tableau XX).

Tableau XX : Conditions d'éligibilité à l'arrêt du traitement selon ELN 2020 [4]

Conditions obligatoires	Minime	Optimal
<ul style="list-style-type: none"> • LMC en phase chronique • Patient motivé et informé • Accès à une PCR quantitative de haute qualité utilisant l'IS • Consentement du patient pour un suivi étroit après l'arrêt du traitement, mensuellement pour les 6 premiers mois, bimensuellement entre 6-12mois puis chaque 3 mois 	<ul style="list-style-type: none"> • Traitement de première ou deuxième ligne si la seule cause était la mauvaise tolérance • Transcrits typiques e13a2 ou e14a2 • Durée de traitement > 5ans (>4ans si 2GITK) • Durée de réponse moléculaire profonde > 2ans • Pas d'antécédent d'échec thérapeutique 	<ul style="list-style-type: none"> • Durée de traitement > 5ans • Durée de réponse moléculaire profonde > 3ans si MR4 et >2ans si MR4.5

En effet, des facteurs pronostiques de succès de la rémission sans traitement étaient reportés, notamment un traitement antérieur par INF- α et surtout la durée de réponse moléculaire profonde qui constitue le facteur le plus important, expliquant ainsi son intégration dans les conditions d'éligibilité [52], [104].

Par ailleurs, des études ont rapportés que la probabilité de rechute après 2 ans est quasi nulle chez les patients à 8 ans après l'arrêt et même en cas de rechute, la reprise thérapeutique est possible sans perte de sensibilité du patient au traitement avec une possibilité de second arrêt [4].

Dans notre étude, aucun patient n'a bénéficié d'une interruption de traitement. Ceci pourrait être expliqué par plusieurs facteurs dont l'impossibilité d'instaurer un suivi fiable par le test GeneXpert suite au manque d'information concernant le type de transcrit, la difficulté

d'assurer une adhérence des patients à un suivi rapproché, et enfin, l'anxiété induite par l'arrêt de traitement émanant de la stigmatisation des leucémies.

VI. Suivi moléculaire :

Actuellement, la biologie moléculaire constitue le moyen de référence pour le suivi des réponses thérapeutiques. En effet, suite à leur sensibilité insuffisante pour l'étude des réponses l'indication des méthodes cytogénétiques reste restreinte aux patients ayant des translocations atypiques, des transcrits BCR-ABL rares ou atypiques, aux résistances ou échecs thérapeutiques et lors de la progression de la maladie vers une phase accélérée ou blastique [4].

1. Moyens :

1.1. Suivi des réponses moléculaires : GeneXpert :

Le monitoring de la LMC est traditionnellement assuré par une RQ-PCR classique en mode manuel, impliquant donc une méthodologie et une rigueur analytique extrêmes. Effectivement, la RQ-PCR est une méthode lourde et coûteuse en réactifs et en main-d'œuvre, la précision de ses résultats dépend de plusieurs variables, notamment la qualité du prélèvement, son siège (sur sang ou sur moelle), les méthodes de préparation, le choix des enzymes et des amorces ainsi que les méthodes de calibration et de standardisation [86].

Afin de pallier à ces inconvénients, l'automatisation était introduite comme alternative robuste et reproductible permettant de mesurer efficacement les niveaux de transcrit BCR-ABL1 dans les échantillons sanguins de patients atteints d'une LMC traités par ITK. L'un des nombreux contributeurs dans ce domaine est la société américaine Cepheid qui a présenté l'Xpert BCR-ABL Ultra en 2015, réalisé sur les systèmes GeneXpert [7], [85], [86].

Dans notre étude, le suivi des réponses thérapeutiques reposait sur la technique de GeneXpert, sa sensibilité et sa rapidité d'exécution permettaient la prise de décisions cliniques dans des délais convenables. En effet, cette méthode permet une détection reproductible de

faibles niveaux de transcrits avec une limite de détection (L.O.D) et de quantification (L.O.Q) prouvées de 4,5 log (<0,0032%). La possibilité de standardisation inter-laboratoire avec l'absence de recours à une droite d'étalonnage font également partie de ses avantages [7], [100], [105].

Cependant, cette technique n'est pas dépourvue des inconvénients, elle ne permet que le suivi des patients ayant des transcrits typiques (b2a2 et b3a2). De surcroît, elle est développée uniquement pour les échantillons sanguins et non adaptée aux grandes hyperleucocytoses [7], [100], [105].

De plus, le contrôle ABL1 utilisé au cours du test GeneXpert s'est avéré inadéquat pour les échantillons avec un ration théorique BCR-ABL1/ABL1 de 15-20%, ceci est suite à l'amplification concomitante du BCR-ABL1 et de l'ABL1 par les amorces utilisées pour la quantification ABL1 induisant ainsi une sous-estimation du rapport BCR-ABL1 lorsque la quantité d'ARNm BCR-ABL1 est importante, l'utilisation d'autres gènes de contrôles tel que GUSB peut être utile dans ce contexte, néanmoins, le recours à un seul gène de contrôle est à l'origine des erreurs [6], [21].

De ce fait, des méthodes plus sensibles par rapport au test GeneXpert sont au cours d'évaluation, notamment la PCR sur ADN et la RT-PCR digitale (ddPCR). En effet, la PCR sur ADN constitue la seule méthode qui relie directement le résultat à une quantité de cellules leucémiques lui conférant ainsi une limite de détection plus basse et une précision plus importante par rapport au test GeneXpert dans la zone de réponse moléculaire profonde. Cette technique a permis de démontrer la persistance de cellules leucémiques chez des patients en rémission moléculaire profonde avec RQ-PCR négative [21]. Elle permet également la réduction des erreurs liées à la manipulation et au transport des prélèvements ainsi qu'elle ne nécessite pas le recours à un gène de contrôle et permet un suivi personnalisé et une approche thérapeutique plus flexible des patients atteints de la LMC [106]. Cependant, elle reste plus coûteuse et laborieuse pour être appliquée en pratique [105].

La ddPCR à son tour a été appliquée avec succès pour le suivi moléculaire de la LMC. Elle semble être une méthode robuste, capable de quantifier de faibles quantités de transcrits BCR-ABL1 permettant ainsi d'augmenter la limite de détection de 1 à 2 log [107]. Cependant, en pratique, la plupart des systèmes de PCR digitale auraient une limite de détection à peine meilleure que celle obtenue par RQ-PCR [21], [108].

Enfin, ces méthodes quoique prometteuses, restent d'indication très limitée suite à leur accessibilité restreinte, le manque de standardisation et l'absence du recul suffisant permettant leur application dans la pratique quotidienne [21]. Par conséquent, le test GeneXpert reste le plus adapté dans notre contexte pour évaluer les patients et suivre l'évolution des réponses thérapeutiques.

1.2. Détection des mutations du transcrit :

En dépit des apports multiples du test GeneXpert, il reste à lui seul incapable d'assurer un suivi complet notamment chez les patients qui se trouvent en échec et qui nécessitent, en plus de la quantification du transcrit BCR-ABL, des explorations plus approfondies dont la recherche des mutations du transcrit qui fait appel à son tour à des techniques de biologie moléculaire.

Dans notre série, parmi les 3 patients qui étaient en échec, 2 patients ont pu bénéficier de la recherche de mutation T315I à l'étranger par séquençage direct double brin par la méthode de Sanger. Cette technique, était longtemps considérée la méthode de référence pour l'analyse mutationnelle du domaine kinase de BCR-ABL [109]. Elle estime de façon approximative l'abondance des clones avec mutations mais présente de nombreuses limitations techniques ; elle ne permet pas de distinguer les mutations composées (sur la même cellule, « *compound mutations* ») et les mutations polyclonales (appartenant à différents transcrits) [105] ainsi qu'elle présente une faible sensibilité (de l'ordre de 20%) [21].

De ce fait, le séquençage direct n'est plus recommandé par l'ELN, cédant ainsi place au NGS qui constitue actuellement la méthode de référence pour la détection des mutations chez

les patients ne répondant pas au traitement par ITK [4]. Il s'agit d'une méthode hautement sensible avec une limite de détection de l'ordre de 1 % permettant de caractériser les mutations dites mineures qui ne sont pas détectables par la méthode de type Sanger, de suivre la dynamique des mutations résistantes au fil du temps et de reconstruire l'architecture clonale des populations mutées (dans le cas de mutations multiples présentes dans le même amplicon) [105].

Néanmoins, la distinction entre mutations polyclonales et mutations composées peut être difficile du fait de la petite taille des fragments séquencés (*short-read lengths*). Cette distinction est importante pour adapter au mieux le traitement car chaque clone muté possède sa sensibilité propre aux ITK mais les mutations composées confèrent une plus grande résistance au traitement, même au ponatinib. De ce fait, des technologies de NGS longue distance (*long-range NGS*) peuvent à la fois assurer une sensibilité élevée, donc la détection de mutations minoritaires, et la caractérisation de mutations composées [21], [53].

Enfin, Il est important de noter que les données ne sont pas encore suffisantes pour déterminer la pertinence clinique des mutations détectées avec ces techniques. Des études rétrospectives ont été menées dans ce sens suggérant que les mutations retrouvées dans des rares cellules Ph⁺ ne sont pas nécessairement exprimées, en conséquence, leur détection n'indique pas toujours la présence d'un échec thérapeutique puisqu'il est encore impossible de prédire si ces cellules sont capables de survivre et de se multiplier à long terme [106], [109], [110]

2. Evaluation des réponses moléculaires :

2.1. Evaluation quantitative :

Dix (10) patients ont bénéficié d'un suivi moléculaire conformément aux recommandations de l'ELN [4]. Ce suivi nous a permis de stratifier ces patients en fonction des définitions de réponse au traitement et de déceler ceux résistants au traitement initial.

Les dosages en série effectués au cours du suivi moléculaire, ont objectivé des réductions importantes du niveau d'expression du transcrite BCR-ABL1 dans le temps. Sous imatinib, la médiane du ratio BCR-ABL a commencé par une réduction rapide à trois mois où le taux de transcrite a chuté plus de 50% par rapport au taux initial pour aboutir à une réduction de 3 log₁₀ au bout de 15 mois, elle s'est poursuivie ensuite par des réductions progressives jusqu'à atteindre une médiane de 0.02 à 18 mois, ce résultat se rapproche des données de la série de Nachi et al où des réductions significatives de la médiane du ratio BCR-ABL ont été rapportés chez 82% des patients au bout de 3 mois du début traitement atteignant par la suite une médiane de 0.02 au bout de 24 mois [79].

Cependant, les cinétiques de réduction sous nilotinib et sous dasatinib objectivent une décroissance moins rapide du transcrite par rapport aux patients sous imatinib, ce résultat ne concorde pas avec les données de la littérature, où des réponses moléculaires plus profondes et plus rapides ont été rapportés chez les patients mis sous ITK de deuxième génération [111], [112]. Cette discordance pourrait s'expliquer par le nombre restreint des patients bénéficiant du traitement de 2^{ème} et de 3^{ème} ligne dans notre série ne permettant pas ainsi d'aboutir à des résultats conclusifs.

Par ailleurs, une évaluation des réponses moléculaires a pu être effectuée pour chaque patient permettant ainsi d'établir la fréquence des RMM et des RMP au cours du traitement par imatinib. En effet, la fréquence des patients ayant obtenu une RMM a augmenté atteignant des taux de 20%, 30% et 60% respectivement à 6 mois, à 12 mois et à 18 mois avec un délai médian de 9 mois. La comparaison de ces résultats à ceux de la littérature (Tableau XXI) nous a permis de déceler des similarités avec une étude égyptienne [113] portant sur 95 patients chez qui la RMM a été obtenue à une fréquence de 71% et 88% respectivement à 12 mois et 18 mois avec un délai médian de survenue de 12 mois, nos résultats étaient également proches de ceux d'une série italienne [114] portant sur 559 patients chez qui le délai médian d'obtention de RMM était de 8 mois avec 66% des patients en RMM au bout de 12 mois.

Tableau XXI : Le taux de RMM rapporté dans différentes séries

Série	Nombre de patients	Délai médian (mois)	RMM		
			12M	18M	24M
Castagnetti et al. [114]	559	8	66%	-	-
Branford et al. [115]	53	-	50%	64%	72%
Mahmoud et al. [113]	95	12	71%	88%	-
Etienne et al. [116]	705	-	68%	78.5%	-
Notre série	10	9	30%	60%	-

Les résultats de notre étude ont également permis de mettre en valeur l'implication des réponses thérapeutiques observées à 3 mois, à 6 mois et à 12 mois dans l'obtention des réponses moléculaires profondes. En effet, la totalité des patients qui étaient en réponse moléculaire précoce à 3 mois ou à 6 mois ou avaient un taux de transcrit $\leq 0.1\%$ à 12 mois ont eu des RMP, ces résultats sont en concordance avec d'autres études [4], [58], [117] notamment celle de Branford et al qui a établie une association significative entre l'obtention des réponse moléculaire profondes et la survenue d'une RMM à 12 mois [118]. D'autres études menées dans ce sens ont également démontré que les RMP ont un impact sur la survie globale et la survie sans progression, surtout en cas de délai court d'obtention. En effet, l'espérance de vie des patients ayant obtenu un taux de BCR-ABL $\leq 0,01\%$ (RM4 ou plus) rejoint celle de la population générale du même âge, permettant ainsi de considérer l'arrêt du traitement chez cette catégorie des patients [119],[120].

En revanche, un seul patient a eu une RMM sous traitement par ITK de deuxième génération à base de nilotinib, le reste des patients (30%) ont eu des échecs thérapeutiques, les données des études DASISION [111] et ENESTnd [103], comparant les réponses sous imatanib avec celles obtenues sous ITK de deuxième génération rapportent des résultats discordants avec notre série. La taille de notre échantillon ainsi que le problème d'observance thérapeutique lié à la difficulté d'approvisionnement des ITK de deuxième génération, peuvent expliquer ces résultats.

Enfin, l'évaluation des cinétiques de décroissance chez les patients ayant une RMM a permis de mettre en évidence l'existence de deux pentes qui étaient également décrites dans la littérature [121] ; une représentant une cinétique rapide qui témoigne d'une évolution optimale, elle consiste en deux phases : la première dure en moyenne 12 mois au cours desquelles les cellules leucémiques matures sont détruites, puis la deuxième phase qui démarre dès l'obtention d'une RM4 et correspond à la destruction des progéniteurs leucémiques. La deuxième pente à son tour, représente une décroissance plus lente, elle est due à une destruction lente des cellules leucémiques survenant généralement au bout de 18 mois. Une autre pente a été décrite également mais n'a pas été objectivée dans notre série, représente une réponse moléculaire stable témoignant de l'épuisement à long terme des cellules souches leucémiques [121].

Néanmoins, l'hétérogénéité de l'expression de la maladie fait que les cinétiques de décroissance des transcrit BCR-ABL varient d'un patient à l'autre en fonction de sa réponse au traitement. Effectivement tous les patients ne répondent pas de la même manière à l'imatinib, ceci faisait partie des résultats rapportés par l'étude IRIS avec environ 45% de la cohorte initiale qui ont interrompu de manière définitive le traitement pour des raisons d'inefficacité ou d'intolérance [75]. La réponse au traitement n'est donc pas uniforme, suggérant ainsi l'existence d'autres facteurs intrinsèques incriminés dans cette variabilité.

2.2. Evaluation qualitative :

Les recommandations de l'ELN [4] ont permis d'établir 3 niveaux des réponses qui doivent être considérés lors de la prise des décisions thérapeutiques ; la réponse optimale est associée à un bon résultat à long terme et indique le maintien du traitement actuel, l'échec signifie la nécessité de changer le traitement afin d'éviter la progression de la maladie, quant à l'avertissement il indique la nécessité d'une surveillance rapprochée pour permettre les changements adéquats en cas de survenue d'échec [4].

Dans notre étude, 10 patients ont été initialement mis sous imatinib, la surveillance des réponses reposait sur la quantification trimestrielle du transcrit BCR-ABL par la technique de

GeneXpert. Globalement, les réponses obtenues étaient caractérisées par un taux de réponses optimales variant de 60% à 3 mois à 33.3% à 12 mois, 30% des échecs sont survenus et une situation d'alerte a été rapportée chez 4 patients à 3 mois et chez 3 patients à 12 mois. Une comparaison des réponses obtenues au cours des différents points de surveillance avec les résultats rapportés dans la littérature a été effectuée (Tableau XXII).

Tableau XXII : Comparaison des taux de réponse sous imatinib dans les différentes séries

Série	Réponse	Durée				
		3 mois	6 mois	12 mois	18 mois	24 mois
Alvarado et al. [122]	Optimale	100%	83%	70%	45%	-
	Avertissement	-	11%	17%	32%	-
	Échec	-	6%	13%	23%	-
IRIS [75]	Optimale	-	68%	50%	50%	-
	Avertissement	-	17	30	-	-
	Échec	-	15	21	-	-
Yu et al. [123]	Optimale	67.7%	61.3%	29%	-	-
	Avertissement	22.6%	22.6%	17.9%	-	-
	Échec	9.7%	16.1%	14.3%	-	-
Notre série	Optimale	60%	66.7%	33.3%	83.3%	75%
	Avertissement	10%	0%	33.3%	17%	25%
	Échec	30%	33.3%	33.3%	0%	0%

Par ailleurs, les réponses à la deuxième ligne thérapeutique (nilotinib) étaient marquées par la présence de l'échec thérapeutique chez la majorité des patients (75%), la réponse optimale n'a été obtenue que chez un seul patient. Les patients présentant l'échec ont été mis par la suite sous dasatinib sans qu'il y ait d'amélioration des réponses thérapeutiques, en effet, aucune réponse optimale n'a été enregistrée. Ces constats contrastent avec les résultats des différentes séries évaluant le nilotinib et le dasatinib au cours du traitement de deuxième et de troisième

ligne, ces molécules ont été décrites comme ayant un bon profil d'efficacité et de tolérance constituant ainsi une bonne alternative thérapeutique chez les patients résistants ou intolérants à une ou deux lignes thérapeutiques [124], [125].

3. Déterminants des réponses moléculaires majeures :

En dépit de l'amélioration significative de la survie et la prise en charge des patients sous ITK, une évaluation précoce du pronostic s'avère nécessaire afin d'envisager un éventuel changement thérapeutique et assurer une évolution favorable de la maladie.

Dans notre travail, nous avons étudié le profil des patients ayant obtenu une RMM en se basant sur les facteurs suivants : le sexe, l'âge, le score pronostique ELTS et les niveaux d'expression du transcrit BCR-ABL1 à 3 et à 6 mois. Dans la littérature, d'autres facteurs ont été également étudiés, notamment le type du transcrit et la dynamique du baisse du transcrit BCR-ABL1.

3.1. Sexe :

L'une des constatations de notre étude était que les hommes ont un taux de RMM plus élevé que les femmes (sexe ratio H/F = 2.5), ce résultat est cependant contesté dans la littérature où des études rapportent un taux significativement plus élevé de la RMM chez les femmes par rapport aux hommes [119], [126], [127].

Décidemment, Brandford et al rapportent sur une série incluant 423 patients que le sexe féminin était l'un des facteurs impliqués dans l'obtention d'une RMM [126]. Une autre étude sur un échantillon de 166 patients menée par Lin et al [127] a également mis en évidence un taux de RMM significativement plus faible chez les hommes que les femmes (63,3% contre 81,6%; $P = 0,006$) ainsi qu'ils ont rapporté un temps plus court de rechutes chez les hommes (médiane 354 contre 675 jours, $P = 0,049$).

Cette différence de distribution de la RMM selon le sexe a été expliquée par une meilleure observance du traitement par les femmes par rapport aux hommes [128], [129]. La différence de

quantité des cellules leucémiques entre les deux sexes [130], l'impact du statut hormonal sur la progression de la maladie [127] ainsi que les facteurs génétiques, constituent des explications possibles à cette variabilité des réponses. En effet, une différence de la pharmacocinétique de l'imatinib a été décrite ; les femmes qui étaient en RMM avaient des concentrations jusqu'à 30% plus élevées d'imatinib que les hommes [131], [132], ceci pourrait être aussi expliqué par la différence de poids corporel ; un poids inférieur à celui des hommes, signifie une dose en milligramme par kilogramme supérieure par rapport aux hommes et donc une plus forte concentration plasmatique [126].

3.2. Âge :

Le rôle de l'âge dans l'obtention des RMM reste controversé dans la littérature, ceci est du principalement à l'intrication de plusieurs facteurs notamment la différence de la pharmacocinétique, l'adhérence au traitement et la variabilité de tolérance des ITK selon l'âge. Dans ce sens, Marin et al [128] ont mis en évidence chez une série de 87 patients que les sujets âgés ont a un taux d'adhérence au traitement plus élevé par rapport aux sujets jeunes, ceci pourrait expliquer la fréquence plus élevée des RMM chez les sujets âgés de plus de 45 ans par rapport aux sujets ayant un âge \leq 45 ans (80.2% contre 66.4%), rejoignant ainsi les résultats de notre étude où la survenue de la RMM concernait la tranche d'âge de 46 ans à 74 ans.

Par contre, une étude tchèque incluant 103 patients a démontré une toxicité hématologique plus élevée chez les sujets âgés appartenant à une tranche d'âge de 61 ans à 86 ans avec en parallèle une fréquence moins importante de RMM à 18 mois par rapport aux sujets classés dans la tranche d'âge entre 19 ans à 60 ans (63% contre 79%) [133].

Enfin, une autre étude menée par Lin et al [127] a rapporté une fréquence plus élevée de RMM chez les patients âgés de 61 ans à 71 ans avec moins de rechutes (7.1%). Cependant, ce résultat n'a pas été statistiquement significative, permettant ainsi de conclure que l'âge n'a presque aucun effet sur la probabilité d'obtenir une RMM.

3.3. Score pronostique ELTS :

Des études récentes ont tenté de confirmer la supériorité du score ELTS par rapport au Sokal dans la prédiction des réponses thérapeutiques. Geelen et al [97] ont mené l'une des premières études permettant d'attribuer une valeur pronostique au score de l'ELTS dans la prédiction des RMM, ce score a eu une meilleure performance par rapport au Sokal, Hasford et l'*European Treatment Outcome Study* (EUTOS) permettant ainsi d'identifier un groupe à faible risque avec une incidence cumulative de RMM significativement plus élevée.

Ce résultat a été par la suite confirmé par une autre étude menée par Sato et al [98], ce score a permis non seulement de prédire la probabilité d'avoir une RMM mais aussi de déterminer la probabilité de l'obtenir au bout de 12 mois de traitement et ceci contrairement aux scores de Sokal et de l'EUTOS. Cette étude a permis aussi de mettre en évidence que le score ELTS est le seul capable de prédire la probabilité d'obtenir des RMP expliquant ainsi son intégration dans les nouvelles recommandations de l'ELN [4].

En se basant sur ces données, nous avons opté pour ce score dans notre étude afin d'établir son rôle dans la prédiction des RMM. En effet, la totalité des patients classés en faible risque par ce score ont eu des RMM, alors qu'aucune RMM n'a été enregistrée chez 50% des patients classés en risque intermédiaire ou élevé. Cependant, suite à la taille réduite de notre échantillon, l'analyse statistique ne permet pas de déterminer le degré de signification de ce résultat.

3.4. Réponses moléculaires précoces :

La détermination des niveaux de transcrit BCR-ABL par le test GeneXpert après l'instauration d'un traitement par ITK a un impact à long terme. En effet, la détection d'une réponse moléculaire précoce (taux de BCR-ABL $\leq 10\%$ à 3 ou/et $\leq 1\%$ à 6 mois de traitement) constitue un bon facteur prédictif de réponse au traitement avec une meilleure survie globale, survie sans progression ainsi qu'une incidence plus élevée de réponse moléculaire majeure [115], [134]–[140]. Ceci explique l'incorporation de taux du BCR-ABL à 3, 6 mois et à 12 mois

dans les recommandations concernant le suivi des réponses thérapeutiques mises en place par l'ELN et la NCCN [3], [4].

Dans notre étude, nous avons également étudié la valeur pronostique des niveaux d'expression des transcrits BCR-ABL à 3 et 6 mois sur la RMM à 12 et 18 mois. Conformément aux études sus citées, les patients qui étaient en réponse optimale à 3 mois avaient obtenu des RMM de 66,6% et 83.3% respectivement à 12 et 18 mois. Les patients qui étaient en réponse optimale à 6 mois avaient une RMM à 12 et 18 mois pour respectivement 57.1 et 85.7%. La probabilité d'une RMM a été par contre nulle chez la totalité des patients qui n'ont pas eu de RMP_r à 6 mois.

Notre résultat rejoint celui publié dans l'étude IRIS [75] où la totalité des patients qui ont eu des RMP_r à 3 mois ont pu obtenir une RMM à 24 mois sans qu'ils développent une résistance au traitement après 30 mois de traitement. Le même constat a été rapporté par Branford et al dans une étude incluant 55 patients traités par imatinib, les patients ayant eu une RMP_r à 3 mois avaient un taux de RMM nettement meilleur à 24 mois par rapport à ceux qui avaient une réduction $\leq 2 \log_{10}$ à 3 mois (100 contre 54%, $p < 0.001$) [115].

L'étude ENESTnd menée chez 846 patients a mis en évidence à son tour une association significative entre la RMP_r à trois mois et l'obtention de la RMM dans 2 ans et de la RMP (RM4.5) dans 4 ans. Chez les patients traités par imatinib, 67% des patients avaient une RMP_r à 3 mois dont 38.2% avaient une probabilité d'obtenir une RMM à 2 ans significativement plus élevée que ceux avec un taux $> 10\%$ (58 vs 20%; $P = 0.0001$) [103]. Des résultats identiques ont été observés pour la réponse précoce à 6 mois [103].

La valeur prédictive de la réponse moléculaire précoce pour différents ITK a alors été bien établie. Néanmoins, le choix entre les deux repères (3 mois et 6 mois) pour décider d'un éventuel changement thérapeutique reste controversé ; certaines études suggèrent que la réponse à 3 mois a un impact prédictif supérieur et stipulent le changement thérapeutique à ce stade [138], [141], [142], d'autres études par contre adoptent une approche plus prudente où la

cinétique de décroissance est plus importante que l'évaluation à un seul point un changement thérapeutique n'est ainsi recommandé qu'au 6^{ème} mois [3].

3.5. Type du transcrit :

La détermination du type du transcrit BCR-ABL lors du diagnostic a une valeur pronostique, la présence du transcrit e1a2 codant pour la protéine p190 a été corrélée à un risque important de progression de la maladie avec des réponses moléculaires et cytogénétiques faibles au traitement par ITK, le transcrit e19a2 codant pour la protéine p230 est aussi associé à un impact péjoratif sur la survie et la réponse aux ITK [3]. Par contre, une meilleure survie sans progression avec une atteinte plus rapide de RMM a été rapportée chez les patients ayant le transcrit b3a2 (e14a2) par rapport aux patients ayant le transcrit b2a2 (e13a2) [91].

En effet, plusieurs études suggèrent que les patients exprimant le type b3a2 répondent plus favorablement et plus rapidement au traitement que ceux exprimant le type b2a2. Hanfstein et al (German CML study group), ont procédé à l'analyse des réponses moléculaires selon le type du transcrit chez une cohorte de 1105 patients mis sous imatinib, ils ont constaté par la suite que la probabilité cumulée d'atteindre la RMM et la RM 4.0 à 5 ans était significativement plus élevée chez les patients de type b3a2 (85 contre 81% ; P =0,002) et pour la RM4 (76 contre 58%; P <0,001). De même que pour le délai médian d'obtention de la RMM et de la RM 4.0 qui était aussi plus court chez les patients de type b3a2 avec respectivement (14,2 contre 18,4 mois) et (32,4 contre 55,2 mois) [92]. De plus, une étude italienne (GIMEMA) incluant une cohorte de 559 patients traités par imatinib a rapporté un résultat similaire, les patients exprimant le type b3a2 (52%) avaient une meilleure probabilité d'obtenir une RMM à 18 mois (67% contre 52%, p =0,001), et une RM4 à 36 mois (30% contre 20%, p = 0,013), ainsi qu'un délai médian d'obtention significativement plus court comparativement aux patients de type b2a2 (37%) (6 contre 12 mois pour RMM) et (41 contre 61 mois pour RM4.0). Enfin, l'étude de Jain et al qui a concerné 481 patients atteints de LMC retrouve également les mêmes résultats, les patients exprimant le type b3a2 (41%) ou ayant des co-expressions des deux types (18%) avaient

significativement une meilleure probabilité d'obtenir une RMM et une RM4.5 par rapport aux patients exprimant le transcrite b3a2 quel que soit le type de l'ITK utilisé [143].

Dans notre série, seulement deux patients ont pu bénéficier d'une PCR multiplexe objectivant la présence d'une co-expression des transcrits b3a2 et b2a2, chez un patient l'évolution a été marquée par l'obtention rapide d'une RMM au bout de 6 mois puis des RMP au bout de 9 mois (RM4 à 9 mois, une RM4,5 à 12 mois et une RM5 à 15 mois) se maintenant jusqu'à 18 mois du traitement par imatinib ce résultat rejoint ainsi les données de la littérature qui rapportent des réponses moléculaires plus profondes, plus rapides et plus durables chez les patients ayant des expressions simultanées des transcrits b3a2 et b2a2 [91], [143]-[145].

Différentes explications ont été fournies afin d'éclaircir le mécanisme de la variabilité de réponse selon le type du transcrite, elle a été essentiellement attribuée à une activité tyrosine kinase plus élevée chez les patients exprimant le type b2a2 induisant par conséquent une résistance plus importante au traitement. En effet, dans une série de 78 patients traités par l'imatinib, Lucas et al comparent d'une part l'activité tyrosine kinase des transcrits b2a2 et b3a2, en déterminant son marqueur : le rapport pCrKL/CrKL, et d'autre part le niveau d'expression de l'hOCT1 qui est une protéine responsable de l'absorption de l'imatinib. Aucun rapport n'a été établie entre le type de transcrite et le niveau d'expression de la protéine hOCT1. En revanche, les patients exprimant le transcrite b2a2 avaient un rapport pCrKL / CrKL significativement plus élevé que ceux exprimant le type b3a2 et donc une activité tyrosine kinase plus élevée [146].

Enfin, la différence de structure de la protéine BCR-ABL1 pourrait à son tour constituer une explication ; la protéine tyrosine kinase b3a2 diffère de b2a2 par une insertion juste avant l'alanine en position 904 de 25 acides aminés qui sont codés par l'exon b3 dans la région BCR [2], l'insertion de ces 25 résidus pourrait être responsable de la différence observée au niveau de leurs structures secondaires (hélice α et feuillet β) notamment dans les domaines SRC (SH3, SH2, SH1) et le domaine de liaison à l'ADN modifiant ainsi les propriétés physico-

chimiques de la protéine de fusion BCR-ABL1 et aboutissant par conséquence à la réduction de l'activité kinase de la protéine b3a2 [147].

3.6. Dynamique de baisse du transcrit :

Quoique ce paramètre n'ait pas été exploré dans notre série, son étude pourrait s'avérer importante. En effet, une réduction du taux de BCR-ABL à moitié par rapport à la valeur de base atteinte au bout de ≤ 22 jours (halving time) a été définie par Zhang et al comme un facteur prédictif d'atteinte de RMM [87]. Une autre étude a défini ce temps en ≤ 17 jours chez les patients avec BCR-ABL $\leq 10\%$ quel que soit l'ITK utilisé [58], l'étude allemande (German CML IV study) à son tour, a associé l'absence d'une réduction logarithmique à moitié de taux de transcrit BCR-ABL à un haut risque de progression de la maladie chez les patients traités par l'imatinib [148]. De plus, l'évaluation de 52 patients mis sous dasatinib par Iriyama et al, a mis en évidence qu'un halving time de 14 jours a un impact significativement prédictif sur l'obtention des RMM au bout de 12 mois et des RMP au bout de 18 mois de traitement [141].

Enfin, des études ont même démontré que des patients avec une réponse moléculaire précoce avec un halving time long avaient une survie globale avec survie sans événements moins importante que ceux sans réponse moléculaire précoce et ayant un halving time court [119], justifiant ainsi les recommandations de la NCCN [3] concernant l'intégration de la dynamique du baisse du transcrit BCR-ABL dans les paramètres à considérer lors de la prise des décisions thérapeutiques. Il serait donc intéressant d'intégrer le suivi de la dynamique du baisse du transcrit par le test GeneXpert dans notre contexte afin de pouvoir mieux déceler les patients à risque de progression ou d'échec.

4. Déterminants des échecs et des survies :

Dans notre série, 3 patients ont présenté une résistance primaire avec des cinétiques de décroissance particulières montrant une courbe en plateau et une baisse très lente du transcrit BCR-ABL1. 66.6% des sujets présentant un échec étaient de sexe masculin, un patient était en

phase d'accélération au moment du diagnostic et la totalité des patients étaient classés dans les catégories à risque intermédiaire ou élevé par le score de l'ELTS. Nos résultats concordent avec les données de la littérature, les hommes ont généralement une probabilité plus élevée d'échec par rapport aux femmes [126]-[128], plusieurs études ont également rapporté une corrélation statistiquement significative entre les scores pronostiques et la survenue de l'échec [142], [149], avec une meilleure valeur prédictive du score ELTS par rapport au score de Sokal [96], [150],

En revanche, dans notre étude, aucun échec n'a été observé chez les patients ayant eu une RMP_r à 3 ou à 6 mois et ceci conformément aux résultats des différentes études rapportant la valeur de la réponse moléculaire à 3 mois et à 6 mois dans la caractérisation des patients à risque élevé d'échec ou de rechute et ceux ayant une meilleure probabilité de SSP [142], [149].

Les anomalies chromosomiques additionnelles ont également un impact majeur sur la survie au cours de la LMC, elles peuvent être de bon pronostic tel que la trisomie 8 (+8), la perte du chromosome Y (-Y) ou la duplication du chromosome Ph1 ou de pronostic péjoratif, d'autant plus lors de la présence de plus d'une anomalie, tels que l'isochromosome 17q (i(17) (q10)), la délétion complète ou partielle du chromosome 7 (7/del7q), ou les réarrangements 3q26.2 [37]. Dans notre série, aucun patient n'a présenté des ACA.

Par ailleurs, la recherche de la mutation T315I, s'est révélée négative chez la totalité des patients chez qui l'analyse a été effectuée. Dans la littérature, les mutations ponctuelles du domaine kinase de BCR-ABL constituent une cause majeure de résistance au traitement et peuvent être identifiées dans plus de 50% des cas [151], la mutation T315I constitue l'une des plus fréquentes et des plus graves, cette constatation a été rapportée par Liu et al ; chez une cohorte de 162 patients 8% des sujets ont présenté cette mutation, ces patients ont eu par la suite des mauvaises réponses thérapeutiques avec une évolution fatale chez 6 patients reflétant ainsi l'impact péjoratif de la mutation T315I sur la survie globale [152]. Une autre étude menée par Nicolini et al a mis en évidence, l'impact péjoratif du recours aux ITK de deuxième génération sur la survie sans progression chez les patients porteurs de la mutation T315I, ces

molécules favorisent par leur action sur les clones non mutés la sélection et la progression des clones mutés, résultant ainsi en une survenue plus rapide des échecs. Ce résultat met en valeur l'importance du recours les ITK de 3^{ème} génération et notamment le ponatinib chez les patients résistants au traitement de première et de deuxième ligne surtout en cas de présence de mutation T315I [153].

De ce fait, il semble évident que chez les patients de notre étude une analyse mutationnelle recherchant non seulement la mutation T315I mais aussi les autres mutations du domaine tyrosine kinase par les techniques de biologie moléculaire, notamment un NGS, aurait été souhaitable afin de bien orienter le choix thérapeutique et établir une cause précise de la résistance. De plus, chez les patients résistants à l'imatinib et au nilotinib, le ponatinib aurait probablement constitué une meilleure option thérapeutique pour le traitement de troisième ligne, cette molécule reste cependant non disponible au Maroc, ce qui aurait créé par la suite des problèmes d'adhérence au traitement.

En effet, l'adhérence au traitement pourrait être parmi les facteurs impliqués dans la survenue des échecs dans notre série, au cours du traitement de deuxième et de troisième ligne, nous avons observé une mauvaise observance chez un patient sous nilotinib et chez la totalité des patients traités par dasatinib émanant principalement de la difficulté d'approvisionnement des ITK de deuxième génération.

Effectivement, une réponse insuffisante ou une résistance au traitement peut être tout simplement liée à un problème de compliance aboutissant à des taux circulants inefficaces des ITK. Dans une étude menée par Noens et al, une bonne observance de l'imatinib n'a été retrouvée que chez 14% des patients, une association significative a été établie par la suite entre l'obtention des échecs et la mauvaise observance thérapeutique, Ils estiment qu'en moyenne, les patients qui n'obtiennent pas de réponse optimale ont pris entre 74 et 77% de la dose prescrite contre 90 à 93% pour les patients qui obtiennent une réponse optimale [129]. Une analyse concernant 276 patients traités par dasatinib et nilotinib a également mis en évidence que la

réduction de la dose ainsi que l'interruption de traitement sont corrélés à un risque plus élevé des échecs et de progression de la maladie [154]. Ces données expliquent les recommandations de l'ELN et la NCCN qui stipulent la vérification de l'observance thérapeutique en premier lieu avant de procéder à un changement drastique de la stratégie thérapeutique [3], [4].

Enfin, il est important de noter que l'interprétation des échecs doit nécessairement prendre en considération non seulement la qualité des réponses moléculaires mais aussi le profil du patient, son évolution sur le plan clinique ainsi que son contexte socio-économique. Ces facteurs définissent l'objectif du traitement et permettent d'avoir une approche plus réaliste et plus individualisée dans la prise en charge des patients, ils trouvent leur place surtout dans les situations ambiguës où une vision globale s'avère nécessaire pour éviter la progression de la maladie et assurer la survie du patient [3].



RECOMMANDATIONS



Les données fournies par notre étude ont mis en valeur l'impact de la technique du GeneXpert sur la prise en charge des patients atteints de la LMC : à l'étape diagnostique, elle a permis non seulement d'assurer la détection des patients porteurs des transcrits majeurs (M-BCR) mais aussi d'établir une valeur de base pour l'étude de cinétique de baisse lors du suivi. Afin d'améliorer l'apport de cette technique et pallier à ses limitations, nous avons élaboré des recommandations.

Tout d'abord, il faut mettre l'accent sur la nécessité de l'instauration de la technique de la RT-PCR multiplexe pour connaître le profil moléculaire des patients dès le diagnostic, et proposer ensuite un suivi moléculaire adéquat. La détermination de l'iso-forme moléculaire permet également d'étudier l'expression phénotypique de la maladie en fonction du type de transcrit de fusion.

Ensuite, l'amélioration du plateau technique par la mise en fonction des séquenceurs capillaires ou de nouvelle génération s'avère également utile dans la mesure où ils permettent de rechercher les différentes mutations de résistance orientant ainsi le choix de thérapeutique au-delà de la première ligne.

Par ailleurs, nous proposons d'instaurer un arrêt du traitement chez les patients qui en sont éligibles tout en bénéficiant de la disponibilité du test GeneXpert dans notre structure hospitalière pour assurer un suivi moléculaire renforcé.

De plus, une facilité d'accès aux ITK de deuxième génération et une amélioration de la prise en charge par les organismes d'assurance médicale sanitaire est souhaitable afin d'assurer une gestion optimale de la maladie dès la première ligne du traitement et dans des délais convenables.

Enfin, le niveau d'adhérence est un facteur fondamental pour une meilleure efficacité thérapeutique des ITK. Une stratégie d'accompagnement et d'éducation thérapeutique du patient doit également être mise en place afin qu'il puisse adhérer pleinement à son traitement et participer activement dans la prise en charge de sa maladie.



CONCLUSION



La LMC constitue un modèle en onco-hématologie, elle représente la première affection maligne dont l'anomalie chromosomique a été décrite. Sa leucémogénèse a été particulièrement bien élucidée permettant ainsi des avancées thérapeutiques majeures ; c'est la première maladie où la thérapie moléculaire ciblée a été utilisée avec succès.

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

Sur la base des résultats de notre étude, nous concluons que la technique du GeneXpert par sa sensibilité, sa standardisation et son automatisation nous apporte un puissant outil pour assurer le diagnostic chez les patients porteurs des transcrits majeurs et évaluer par la suite la réponse moléculaire, permettant ainsi d'identifier plus rapidement les patients en échec ou à risque élevé d'échec et de mieux appréhender le pronostic pour établir une stratégie thérapeutique optimale.

Cependant, le test GeneXpert à lui seul reste insuffisant pour pouvoir étudier le profil moléculaire complet du patient et assurer une approche thérapeutique ciblée et individualisée. D'où la nécessité d'instaurer la technique de la RT-PCR multiplexe au diagnostic, permettant la détection de tous les réarrangements moléculaires BCR-ABL1 connus pour proposer ensuite un suivi moléculaire adéquat. La mise en place d'un séquençage haut débit serait également souhaitable afin de caractériser le profil mutationnel de la maladie et orienter par la suite le choix du traitement.



RESUMES



Résumé

L'avènement des inhibiteurs de la tyrosine kinase et l'évolution des techniques de biologie moléculaire ont bouleversé la prise en charge et le devenir des patients atteints de la leucémie myéloïde chronique, elle est considérée actuellement comme un modèle de cancérogénèse et de thérapie ciblée réussie.

Notre étude était rétrospective, descriptive et observationnelle au sein du laboratoire d'hématologie de l'Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech, s'étalant sur une période de 6 ans et concernant dix patients suivis dans le service de l'hématologie clinique. L'objectif de ce travail était de mettre en valeur l'impact de la biologie moléculaire, notamment la technique de GeneXpert sur le diagnostic et le suivi de la LMC et de discuter par la suite les différentes techniques et leur apport.

En ce qui concerne l'étape du diagnostic, la totalité de nos patients ont bénéficié d'un hémogramme, d'un myélogramme et d'un caryotype médullaire. L'hémogramme a objectivé une hyperleucocytose dans 100% des cas, une thrombocytose et une anémie dans 80% des cas. Le myélogramme a mis en évidence un taux de blastes médullaires <10% chez 90% des cas les classant ainsi en phase chronique. Au caryotype, tous les patients avaient la translocation t(9 ; 22).

Quant à la biologie moléculaire, une quantification du transcrite BCR-ABL par la technique du GeneXpert a été effectuée chez 60% des patients, seulement 20% des cas ont bénéficié de l'étude quantitative par GeneXpert et l'étude qualitative par la PCR multiplexe, cette dernière a permis de mettre en évidence l'expression simultanée des deux types du transcrite e13a2 et e14a2 (b2a2 et b3a2) dans la totalité des échantillons analysés.

Sur le plan thérapeutique, 80% de nos patients ont été mis sous hydroxyurée en attente de la confirmation du diagnostic. Par la suite, tous nos patients ont été mis sous imatinib en première ligne dont 3 (soit 30%) ont eu un échec thérapeutique nécessitant le recours au

traitement de deuxième ligne par nilotinib. Parmi ces derniers, 2 ont été mis sous dasatinib comme traitement de troisième ligne.

Le suivi a été assuré par le test GeneXpert, une réponse moléculaire majeure a été obtenue chez 70% des cas avec un délai moyen de 9 mois. La totalité des patients en réponse moléculaire majeure ont par la suite eu des réponses moléculaires profondes dans un délai moyen de 15 mois. L'étude du profil des patients ayant obtenu une réponse moléculaire majeure a mis en évidence une prédominance masculine (sexe ratio H/F : 2.5) avec une médiane d'âge de 55 ans. La totalité des patients classés à faible risque par le score de l'ELTS et ceux ayant eu des réponses moléculaires précoces à 3 ou à 6 mois ont également eu par la suite des réponses moléculaires majeures. Concernant les 3 patients qui étaient en échec, le type du transcrit était identifié chez une seule patiente (b2a2 et b3a2), deux autres patients ont bénéficié de la recherche de mutation T315I à l'étranger par la technique de séquençage direct se révélant par la suite négative, l'analyse de caryotype n'a pas identifiée des anomalies cytogénétiques additionnelles chez la totalité des patients qui étaient en échec. Par contre, une mauvaise observance thérapeutique a été relevée chez un patient mis sous nilotinib et chez la totalité des patients traités par le dasatinib.

Sur la base des résultats de notre étude, nous concluons que le test GeneXpert par sa sensibilité, sa standardisation et son automatisation nous apporte un puissant outil pour assurer le diagnostic chez les patients porteurs des transcrits majeurs et évaluer par la suite la réponse moléculaire, permettant ainsi d'identifier plus rapidement les patients en échec ou à risque élevé d'échec et de mieux appréhender le pronostic pour établir une stratégie thérapeutique optimale. Cependant, chaque laboratoire doit avoir conscience de la nécessité l'instauration de la technique de la RT-PCR multiplexe au diagnostic, pour pouvoir détecter tous les réarrangements moléculaires BCR-ABL connus, et proposer ensuite un suivi moléculaire adéquat. La mise en place d'un séquençage haut débit serait également souhaitable afin d'orienter le choix du traitement à travers la caractérisation du profil mutationnel de la maladie.

Abstract

The advent of tyrosine kinase inhibitors and the evolution of molecular biology techniques have revolutionized the management and outcome of patients with chronic myeloid leukemia, it is currently considered a model of carcinogenesis and successful targeted therapy.

Our study was retrospective, descriptive and observational, carried out within the hematology laboratory of the Avicenna Military Hospital in Marrakech, spread over a period of 6 years and included a total of 10 patients from the department of clinical hematology. The aim of our study was to highlight the impact of molecular biology, in particular the GeneXpert technique, on the diagnosis and monitoring of CML, and to discuss afterwards the different techniques as well as their contribution.

Regarding the diagnostic data; all of our patients underwent a complete blood count, myelogram, and bone marrow karyotype. The complete blood count showed leukocytosis in 100% of cases, thrombocytosis and anemia in 80% of cases. The myelogram showed a medullary blastosis with a rate <10% in 90% of the cases, thus classifying them in the chronic phase. At karyotype, all patients had the translocation (9; 22).

Concerning molecular biology, quantification of the BCR-ABL transcript by GeneXpert was performed in 60% of patients, only 20% of cases benefited from both the quantitative study by GeneXpert and the qualitative study by multiplex PCR, the latter made demonstrated the simultaneous expression of the two types of the transcript e13a2 and e14a2 (b2a2 and b3a2) in all of the analyzed samples.

During treatment, 80% of our patients were put on hydroxyurea pending confirmation of the diagnosis. Later on, all of our patients were treated with first-line imatinib, of which 3 (30%) had treatment failure requiring to be put on second-line nilotinib. Of these, 2 were treated with third-line dasatinib.

GeneXpert was used for follow-up, a major molecular response (MMR) was achieved in 70% of the cases with an average delay of 9 months. All of the MMR patients eventually obtained a deep molecular response within an average of 15 months. The profiling of patients who obtained an MMR showed a male predominance (sex ratio M/F: 2.5) with a median age of 55 years and an occurrence especially in patients classified at low risk by the ELTS score as well as in patients with an early molecular response at 3 or 6 months. As for the 3 patients who failed to respond to TKI treatment, the type of transcript was identified in a single patient (b2a2 and b3a2), two other patients benefited from the search for the T315I mutation by direct sequencing which subsequently turned out to be negative, karyotype analysis did not identify additional cytogenetic abnormalities in all patients who failed to respond to treatment. On the other hand, poor treatment adherence was observed in one patient on nilotinib and in all of the patients treated with dasatinib.

Based on the results of our study, we conclude that the sensitivity, standardization and automation of GeneXpert, provides us with a powerful tool to ensure the diagnosis of patients carrying major transcripts and subsequently assess the molecular response in order to identify more quickly patients in failure or at high risk of failure, thus allowing a better understanding of the prognosis and establishing an efficient therapeutic strategy. However, each laboratory must be aware of the necessity of multiplex RT-PCR technique during diagnosis, in order to be able to detect all the known BCR-ABL1 molecular rearrangements, and then enable an adequate molecular follow-up. The implementation of next generation sequencing (NGS) is also desirable in order to guide the choice of treatment through characterizing the mutational profile of the disease.

ملخص

أحدث ظهور مثبطات التيروسين كيناز وتطور تقنيات البيولوجيا الجزيئية ثورة في تدبير ومستقبل مرضى ابيضاض الدم النقوي المزمن، إذ يعتبر حاليًا نموذجًا للسرطان والعلاج المستهدف الناجح.

دراستنا استباقية و وصفية بمختبر أمراض الدم بالمستشفى العسكري مراكش، امتدت لست سنوات وتعلقت ب10 حالات يتم تتبعها في قسم أمراض الدم السريرية. الهدف من هذا العمل هو تسليط الضوء على دور البيولوجيا الجزيئية، لا سيما تقنية GeneXpert، في تشخيص ومتابعة ابيضاض الدم النقوي المزمن وكذا مناقشة التقنيات الأخرى وإسهاماتها.

فيما يتعلق بمرحلة التشخيص، استفاد جميع مرضانا من فحص للصيغة الدموية، وصف للنخاع، وخريطة صبغية. كشفت الصيغة الدموية عن تكاثر الكريات البيضاء بنسبة % 100 من الحالات، كثرة الصفيحات وفقر الدم في % 80 من الحالات. أظهر التصوير النخاعي وجود ورم نخاعي بنسبة أقل من % 10 في % 90 من الحالات، وبذلك تم تصنيفهم في الطور المزمن. على مستوى الخريطة الصبغية، كان لدى جميع المرضى الإزفاء ما بين الصبغيين 9 و 22.

بالنسبة للبيولوجيا الجزيئية، تم إجراء القياس الكمي لمنتسخات BCR-ABL بواسطة تقنية GeneXpert لدى % 60 من الحالات، في حين لم يستفد سوى % 20 من المرضى من الدراستين، الكمية بواسطة تقنية GeneXpert والنوعية بواسطة تفاعل سلسلة البوليميراز المتعدد، مكنت هذه الأخيرة من الكشف عن التعبير المتزامن لأنماط المنتسخات e13a2 و e14a2 في جل العينات التي تمت دراستها.

في المرحلة العلاجية، تلقى % 80 من مرضانا علاجاً بدواء "hydroxyurée" ريثما يتم تأكيد التشخيص. بعد التشخيص، تلقى جميع مرضانا "imatinib" كعلاج الخط الأول، 3 (30%) منهم تطلبوا استخدام علاج الخط الثاني ب" nilotinib". من بين المرضى الثلاث، تمت معالجة مريضين ب" dasatinib" كعلاج الخط الثالث.

تم تتبع استجابة المرضى للعلاج بتقنية GeneXpert، سُجِّل الحصول على استجابة جزيئية كبيرة في 70 % من الحالات في متوسط يناهز 9 أشهر. جميع المرضى الذين حصلوا على استجابة جزيئية كبيرة بلغوا بعد ذلك استجابة جزيئية عميقة في غضون 15 شهرًا في المتوسط. لوحظت الاستجابة الجزيئية الكبيرة بنسبة أكبر لدى الذكور (نسبة الجنس 2.5) بمتوسط 55 سنة. جميع الحالات ذات خطورة منخفضة حسب التصنيف التوقعي "ELTS" وكذا الحالات التي حققت استجابات جزيئية مبكرة في 3 أو 6 أشهر تمكنت بدورها من بلوغ استجابات جزيئية كبيرة. فيما يتعلق بالمرضى الثلاث الذين لوحظ لديهم غياب الاستجابة للعلاج، لم تسجل أي شذوذات صبغية إضافية على مستوى الخريطة الصبغية، تم تحديد أنماط منتسختات BCR-ABL لدى مريض واحد (b2a2 و b3a2) واستفاد مريضان آخران من البحث عن طفرة T315I في مختبر أجنبي باستخدام تقنية تسلسل سانجر المباشر دون أن يتم العثور على أية طفرة. من ناحية أخرى، لوحظ غياب المداومة على تلقي العلاج لدى مريض واحد عولج "nilotinib" ولدى جميع المرضى الذين عولجوا بـ "dasatinib".

بناءً على نتائج دراستنا، نستنتج أن تقنية GeneXpert تشكل أداة فعالة لتشخيص ورصد مرضى ابيضاض الدم النقوي المزمن الحاملين للمنتسختات (b2a2 و b3a2) وذلك بفضل حساسيتها الكبيرة وتوحيدها القياسي، لتمكن بذلك التعرف بسرعة أكبر على المرضى غير المستجيبين للعلاج أو في طور عدم الاستجابة مما يُمكن التنبؤ بشكل أدق بسير المرض ووضع استراتيجية علاجية فعالة. بالرغم من ذلك، يجب التأكيد على ضرورة أن يكون كل مختبر على دراية بأهمية التوفر على تفاعل سلسلة البوليميراز المتعدد واستعماله أثناء التشخيص للكشف عن مختلف أنماط منتسختات BCR-ABL، ليُمكن بذلك من القيام بمتابعة جزيئية مناسبة. تجدر أيضا الإشارة إلى أن التوفر على تقنية الجيل التالي لتحديد التسلسل مهم، إذ يمكن من توجيه القرارات العلاجية عبر البحث عن مختلف الطفرات.



ANNEXES



2- Examen clinique :

- Syndrome d'insuffisance médullaire :
 - Syndrome anémique : Oui Non
 - Syndrome infectieux : Oui Non
 - Syndrome hémorragique : Oui Non
- Syndrome tumoral :
 - Adénopathies : Oui Non
 - Splénomégalie : Oui Non
 - Si oui : taille en cm :
 - Hépatomégalie : Oui Non
 - Hypertrophie gingivale : Oui Non
 - Hypertrophie testiculaire : Oui Non
 - Atteinte méningée : Oui Non
 - Nodules cutanés : Oui Non
 - Epanchement pleural : Oui Non

C-Bilan:

1- NFS:

GB	PNN	PNE	PNB	Monocytes	Lympho	Myélémie	Blastes	Hg/VGM/CCMH	PLQ

2- Frottis sanguin :

3- Myélogramme :

- Richesse :
- Pourcentage de blastes :

4- Cytogénétique :

- Translocation t (9 ; 22) : Oui Non
- % Chromosome Ph :
- Anomalies cytogénétiques additionnelles : Oui Non
 - Si oui, lesquelles :

5- Biologie moléculaire :

- Positive Négative

**Apport de la biologie moléculaire dans le diagnostic et le suivi de la leucémie myéloïde chronique :
expérience du laboratoire d'hématologie**

- Typage du transcrit BCR-ABL :
- Quantification BCR-ABL :
- Recherche de mutation : Oui Non
 - Si oui, résultat :

D- Phase d'évolution au moment du diagnostic :

- Chronique
- Accélérée
- Blastique
 - LAM
 - LAL

E- Score de ELTS :

- Faible risque
- Risque intermédiaire
- Haut risque

F- Traitement :

- Symptomatique :
 - Hyperhydratation : Oui Non
 - Antalgique : Oui Non
 - Antibiotique : Oui Non
 - Transfusion : Oui Non
 - Thrombophylaxie : Oui Non
 - Hydroxyurée :
 - Dose :
 - Durée :
 - Autres :
- Allogreffe : Oui Non

G- Suivi :

- Durée de suivi :
- Décès : Oui Non
 - Cause :
 - Chronologie :
- Traitement de 1^{ère} ligne :

**Apport de la biologie moléculaire dans le diagnostic et le suivi de la leucémie myéloïde chronique :
expérience du laboratoire d'hématologie**

- Date : Molécule : Dose :
- Réponse :

	Réponse hématologique					Réponse moléculaire	
	SPM	GB	Myélémie	PNB	PLQ	IS	Cp ABL1

- Si échec :
 - Recherche de mutation T315I : Oui Non
 - Positive Négative
 - Recherche ACA : Oui Non
 - Positive Négative
 - Attitude thérapeutique :
- Intolérance : Oui Non
 - Type :
 - Conduite :
- Complication : Oui Non
 - Type :
 - Conduite :
- Autres:
- Traitement de 2^{ème} ligne :
 - Indication :
 - Date : Molécule : Dose :
 - Réponse :

	Réponse hématologique					Réponse moléculaire	
	SPM	GB	Myélémie	PNB	PLQ	IS	Cp ABL1

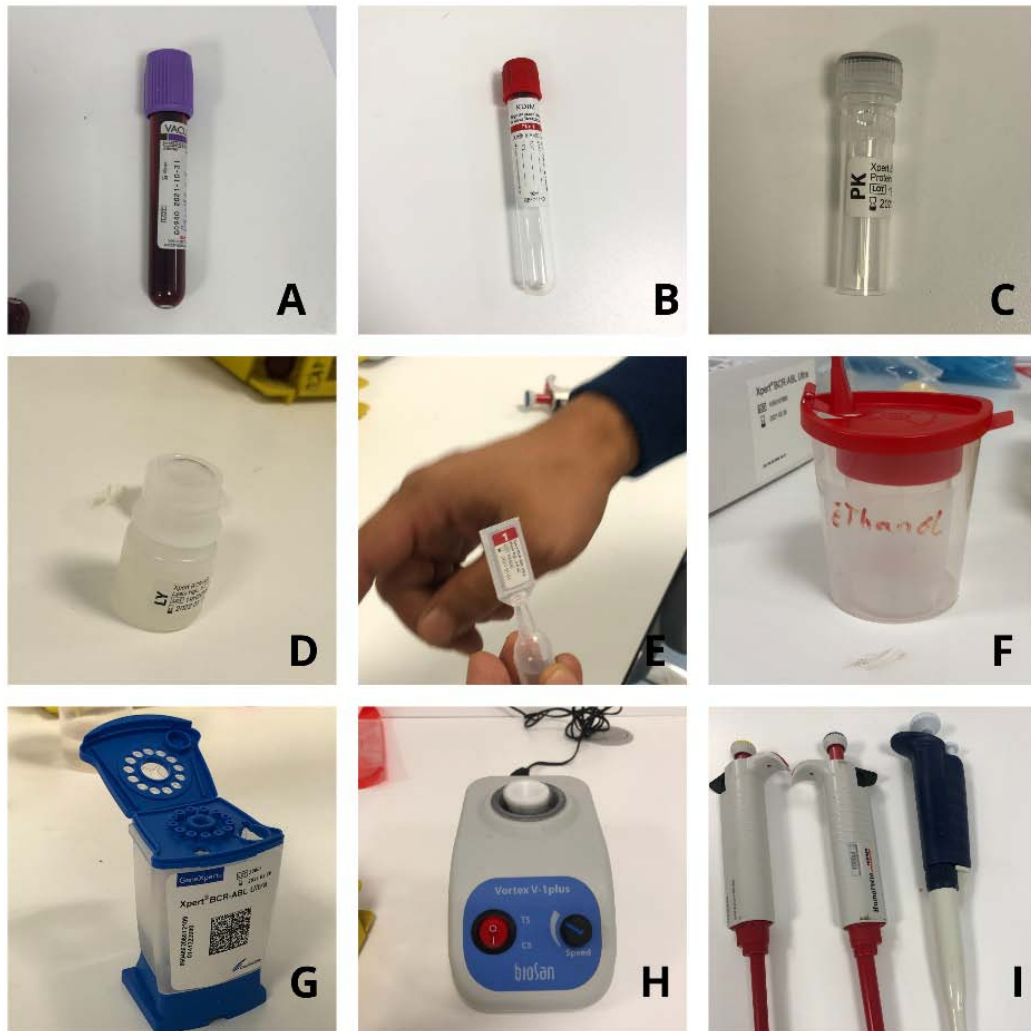
- Si échec :
 - Recherche de mutation T315I : Oui Non

**Apport de la biologie moléculaire dans le diagnostic et le suivi de la leucémie myéloïde chronique :
expérience du laboratoire d'hématologie**

- Positive
 - Négative
 - Recherche ACA :
 - Positive
 - Négative
 - Attitude thérapeutique :
- Intolérance :
 - Type :
 - Conduite :
- Complication :
 - Type :
 - Conduite :
- Autres:
- Traitement de 3^{ème} ligne :
 - Date : Molécule : Dose :
 - Réponse :

	Réponse hématologique					Réponse moléculaire	
	SPM	GB	Myélémie	PNB	PLQ	IS	Cp ABL1

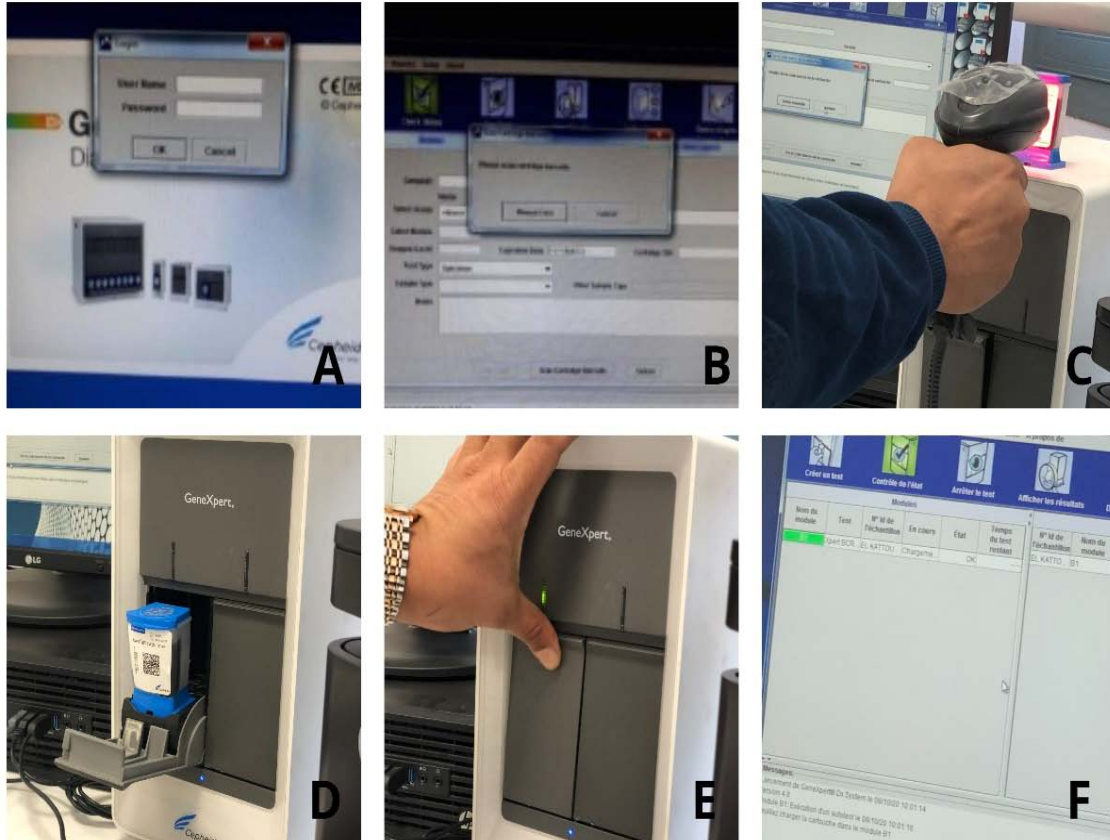
- Si échec :
 - Recherche de mutation T315I :
 - Positive
 - Négative
 - Recherche ACA :
 - Positive
 - Négative
 - Attitude thérapeutique :
- Intolérance :
 - Type :
 - Conduite :
- Complication :
 - Type :
 - Conduite :
- Autres:



Annexe 2 : Réactifs et équipements utilisés lors du test

A : Prélèvement sanguin sur tube EDTA. **B** : Tube conique vide de 50ml. **C** : Protéinase K (PK). **D** : Réactif de lyse (LY). **E** : Réactif de lavage. **F** : Éthanol absolu. **G** : Cartouche du test Xpert BCR-ABL Ultra **H** : Mélangeur vortex. **I** : Pipettes.

**Apport de la biologie moléculaire dans le diagnostic et le suivi de la leucémie myéloïde chronique :
expérience du laboratoire d'hématologie**



Annexe 3 : Phase analytique du test Xpert BCR-ABL Ultra

A : Saisie du mot de passe et du nom de l'utilisateur. **B** : Fenêtre Créer un test. **C** : Lecture de code-barres. **D** : Chargement de la cartouche au niveau de la porte ouverte de l'instrument. **E** : Fermeture de la porte. **F** : Démarrage du test **H** : Mélangeur vortex. **I** : Pipettes.



BIBLIOGRAPHIE



1. **Arber D.A., Orazi A., Hasserjian R., Thiele J., Borowitz M.J. , Le Beau M.M., et al.**
« The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia »,
Blood, vol. 127, no 20, p. 2391-2405, mai 2016.
2. **Leguay T. et Mahon F.-X.**
« Leucémie myéloïde chronique »,
EMC – Hématologie, vol. 2, no 3, p. 187-205, sept. 2005.
3. **Deininger M. W., Shah N. P., Altman J. K., Berman E., Bhatia R., Bhatnagar B. et al.**
« Chronic Myeloid Leukemia, Version 2.2021, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology »
Journal of the National Comprehensive Cancer Network, vol. 18, no 10, p. 1385-1415, oct. 2020.
4. **Hochhaus A., Baccarani M., Silver R.T., Schiffer C., Apperley J. F., Cervantes F. et al.**
« European LeukemiaNet 2020 recommendations for treating chronic myeloid leukemia»,
Leukemia, vol. 34, no 4, p. 966-984, avr. 2020.
5. **Hughes T. et Branford S.**
« Molecular monitoring of BCR–ABL as a guide to clinical management in chronic myeloid leukaemia »,
Blood Rev, vol. 20, no 1, p. 29-41, janv. 2006.
6. **Cross N. C. P.**
« Standardisation of molecular monitoring for chronic myeloid leukaemia »,
Best Pract Res Clin Haematol, vol. 22, no 3, p. 355-365, sept. 2009.
7. « Xpert BCR–ABL Ultra Assay ». Cepheid, 2018.
8. **American Cancer Society's Cancer Statistics Center.**
« Key Statistics for Chronic Myeloid Leukemia »,
janv. 2021.

9. **Registre national suédois du cancer 2018.**
[En ligne]. Disponible sur : https://sdb.socialstyrelsen.se/if_can/val_eng.aspx.
10. **Finnish Cancer Registry 2018.**
[En ligne]. Disponible sur : <https://cancerregistry.fi/statistics/cancer-statistics/>.
11. **Société française d'hématologie.**
« LEUCEMIE MYELOÏDE CHRONIQUE (LMC) »,
[En ligne]. Disponible sur : https://onconormandie.fr/wp-content/uploads/2017/10/leucemie_myeloide_chronique_lmc
12. **Djouadi K., Abdennebi N., Ahmed Nacer R., Hamladji RM., Ouchenane Z., Sidi Mansour N., et al.**
« Etude Epidémiologique de la Leucémie Myéloïde Chronique en Algérie, incidence et prévalence en 2018 »,
Revue finale congrès maghrébin d'hématologie, 2019.
13. **Benider A., Harif M., Karkouri M., Quessar A., Sahraoui S., Sqalli S.**
« Registre des Cancers de la Région du Grand Casablanca 2008–2012 »,
[En ligne]. Disponible sur : <http://www.contrelecancer.ma/fr/documents/registre-des-cancers-de-la-region-du-grand-casab-3/>
14. **Benjaafar N., TAZI M.A., ER-RAKI A.**
« Registre des cancers de Rabat 2009–2012 ».
15. **Deininger M. W. N., Bose S., Gora-Tybor J., Yan X.H., Goldman J. M., Melo J. V.**
« Selective induction of leukemia-associated fusion genes by high-dose ionizing radiation »,
Cancer research, vol. 58, no 3, p. 421-5, 1998.
16. **Heyssel R., Brill A.B., Woodbury L.A., Nishimura E.T., Ghose T., Hoshino T., et al.**
« Leukemia in Hiroshima atomic bomb survivors »,
Blood, vol. 15, p. 313-331, mars 1960.

17. **Van Maele-Fabry G., Duhayon S., Mertens C., Lison D.**
« Risk of leukaemia among pesticide manufacturing workers: a review and meta-analysis of cohort studies »,
Environ Res, vol. 106, no 1, p. 121-137, janv. 2008.
18. **Sillaber C., Mayerhofer M., Agis H., Sagaster V., Mannhalter C., Sperr W.R.**
« Chronic myeloid leukemia: Pathophysiology, diagnostic parameters, and current treatment concepts »,
Wien Klin Wochenschr, vol. 115, no 13-14, p. 485-504, août 2003.
19. **Yu S., Cui M., He X., Jing R., Wang H.**
« A review of the challenge in measuring and standardizing BCR-ABL1 »,
Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM), vol. 55, no 10, janv. 2017.
20. **Haute Autorité de Santé**
« Évaluation de l'acte de recherche ou de quantification du gène de fusion BCR-ABL par RT-PCR dans le diagnostic et le suivi thérapeutique des leucémies myéloïdes chroniques et des leucémies lymphoblastiques aiguës »
Article, p.50, 2017.
21. **Chomel J.C..**
« Biologie moléculaire de la leucémie myéloïde chronique : dernières avancées »,
Revue Francophone des Laboratoires, vol. 2017, n° 492, p. 33-40, mai 2017.
22. **Zhou T., Medeiros L. J., Hu S.**
« Chronic Myeloid Leukemia: Beyond BCR-ABL1 »,
Curr Hematol Malig Rep, vol. 13, n° 6, p. 435-445, déc. 2018.
23. **Panigrahi S.**
« Apoptin and its derivatives as molecular clues towards the development of novel tyrosine kinase inhibitors »,
Thèse Doctorat Physiologie, Winnipeg, 2008.
24. **Chardin P.**
« Domaines SH2 et SH3: un nouveau paradigme pour la transmission du signal. »,
Med Sci (Paris), vol. 10, n° 6-7, p. 709, 1994.

25. **Turhan A.**
« Biologie de la protéine de fusion BCR-ABL : progrès récents »,
Hématologie, vol. 8, no 1, p. 35-45, mars 2002.
26. **Joha M.S.**
« Mécanismes de résistance aux inhibiteurs de tyrosine kinase sur le modèle de leucémie myéloïde chronique. »,
Thèse doctorat de l'université du droit et de la santé, Lille, 2009.
27. **Drullion C.**
« Réponse et résistance aux inhibiteurs de tyrosine kinases dans le modèle de la LMC :
identification et régulation des morts cellulaires »,
Thèse Doctorat Biologie Cellulaire, Bordeaux, 2011.
28. **[Wang J. Y.**
« Regulation of cell death by the Abl tyrosine kinase »,
Oncogene, vol. 19, no 49, p. 5643-5650, nov. 2000.
29. **Deininger M. W., Goldman J. M., Melo J. V.**
« The molecular biology of chronic myeloid leukemia »,
Blood, vol. 96, no 10, p. 3343-3356, nov. 2000.
30. **Izzo B., Gottardi E. M., Errichiello S., Daraio F., Baratè C., Galimberti S.**
« Monitoring Chronic Myeloid Leukemia: How Molecular Tools May Drive Therapeutic
Approaches »,
Front. Oncol., vol. 9, p. 833, sept. 2019.
31. **Weerkamp F., Dekking E., Ng YY., Velden VHJ., Wai H., Bottcher S.**
« Flow cytometric immunobead assay for the detection of BCR-ABL fusion proteins in
leukemia patients »,
Leukemia, vol. 23, no 6, Art. no 6, juin 2009.
32. **Faderl S., Talpaz M., Estrov Z., O'Brien S., Kurzrock R., Kantarjian H. M.**
« The Biology of Chronic Myeloid Leukemia »,
N Engl J Med, vol. 341, no 3, p. 164-172, juill. 1999.

33. **Bartram CR., Raghavachar A., Anger B., Stain C., Bettelheim P.**
« T lymphocytes lack rearrangement of the bcr gene in Philadelphia chromosome-positive chronic myelocytic leukemia », *Blood*, vol. 69, no 6, p. 1682-5, 1987.
34. **Oda T., Heaney C., Hagopian J. R., Okuda K., Griffin J. D., Druker B. J.**
« Crkl is the major tyrosine-phosphorylated protein in neutrophils from patients with chronic myelogenous leukemia »,
J Biol Chem, vol. 269, no 37, p. 22925-22928, sept. 1994.
35. **Pelicci G., Lanfrancone L., Salcini A.E., Romano A., Mele S., Grazia Borrello M. et al.**
« Constitutive phosphorylation of Shc proteins in human tumors »,
Oncogene, vol. 11, no 5, p. 899-907, sept. 1995.
36. **Skorski T., Bellacosa A., Nieborowska-Skorska M., Majewski M., Martinez R. et al.**
« Transformation of hematopoietic cells by BCR/ABL requires activation of a PI-3k/Akt-dependent pathway. »,
EMBO J, vol. 16, no 20, p. 6151-6161, oct. 1997.
37. **Chomel JC., Guilhot F., Tanzer J., Kitzis, A.**
« Dérégulation cellulaire relayée par Bcr-Abl dans la leucémie myéloïde chronique. »,
Med Sci (Paris), vol. 11, no 12, p. 1669-78, 1995.
38. **Nachi M., Guella D., Dali-Ali A., Abed A., Moussaoui R., Boukhatmi Y., et al.**
« Apport de la biologie moléculaire dans la prise en charge de la leucémie myéloïde chronique : expérience du service de biochimie de l'EHU d'Oran-Algérie »
Journal d'Épidémiologie et de Santé Publique, JESP N°20, Décembre 2018
39. **Anonyme.**
"Laboratoire MCL Duedingen"
Disponible sur : « <http://www.embryology.ch/francais/kchromaber/popupchromaber/02abweichende/mfphilahistory/01.html> »
40. **Eclache V. et Lejeune F.**
« Détection du chromosome Philadelphie chez les patients atteints de leucémie myéloïde chronique »,
Revue Française Des Laboratoires, vol. 339, p. 27-31, 2002.

41. **Wang Y. L., Bagg A., Pear W., Nowell P. C., Hess J. L.**
« Chronic myelogenous leukemia: Laboratory diagnosis and monitoring »,
Genes Chromosom. Cancer, vol. 32, no 2, p. 97-111, oct. 2001.
42. **Maly E., Nowak J., Januszkiewicz-Lewandowska D.**
« Cytogenetics in Hematooncology »,
Recent Trends in Cytogenetic Studies – Methodologies and Applications, 2012
43. **Pignon J. M.**
« bcr-abl translocation: diagnostic procedure and clinical interest »,
Annales de Biologie Clinique, vol. 56, no 1, p. 57-63, janv. 1998.
44. **Poitras E. et Houde A.**
« La PCR en temps réel: principes et applications »,
vol. 2, no 2, p. 11, Décembre 2002.
45. **Winn-Deen E. S., Helton B., Van Atta R., Wong W., Peralta J., Wanget J., et al.**
« Development of an Integrated Assay for Detection of BCR-ABL RNA »,
Clinical Chemistry, vol. 53, no 9, p. 1593-1600, 2007.
46. **Goh H.-G., Hwang J.-Y., Kim S.-H., Lee Y.-H., Kim Y.-L., Kim D.-W.**
« Comprehensive analysis of BCR-ABL transcript types in Korean CML patients using a
newly developed multiplex RT-PCR »,
Translational Research, vol. 148, no 5, p. 249-256, nov. 2006.
47. **Jamal Eddine A.**
« Les inhibiteurs de la tyrosine kinase dans la leucémie myéloïde chronique, un modèle
réussi de thérapie ciblée »,
Thèse, Faculté de médecine et de pharmacie de Marrakech, 2018.
48. **Sokal JE., Cox EB., Baccarani M., Tura S., Gomez GA., Robertson JE., et al**
« Prognostic discrimination in "good-risk" chronic granulocytic leukemia »,
Blood, vol. 63, no 4, p. 789-99, 1984.

49. **Pfirschmann M., Baccarani M., Saussele S., Guilhot J., Cervantes F., et al.**
« Prognosis of long-term survival considering disease-specific death in patients with chronic myeloid leukemia »,
Leukemia, vol. 30, no 1, p. 48-56, 2016.
50. **Hasford J., Pfirschmann M., Hehlmann R., Allan NC., Baccarani M., et al.**
« A new prognostic score for survival of patients with chronic myeloid leukemia treated with interferon alfa. Writing Committee for the Collaborative CML Prognostic Factors Project Group »,
J Natl Cancer Inst, vol. 90, no 11, p. 850-8, 1998.
51. **Roche-Lestienne C., Mahon F.-X., Preudhomme C.**
« Origines de la résistance au traitement par imatinib mésylate : un exemple riche d'enseignements »,
Med Sci (Paris), vol. 20, no 12, p. 1125-1130, déc. 2004.
52. **Specchia G., Pregno P., Nicolosi M., Castagnetti F., Martino B., Breccia M., et al.**
« Chronic Myeloid Leukemia Italian Multicenter Observational Study (CML-IT-MOS): Clinical Characteristics of Chronic Myeloid Leukemia (CML) Patients Treated in Real-Life between 2012 and 2016 in 66 Italian Hematology Centers of the Gimema Study Group »,
Blood, vol. 132, no 1, p. 45-45, 2018.
53. **Mozziconacci M.-J.**
« Recherche de mutations dans la LMC »,
Horizons Hémato, vol. 5, no 1, p. 2, 2015.
54. **Nicolini FE., Ducastelle S., Corm S.**
« Résistances à l'imatinib mésylate par mutation BCR-ABL au cours de la leucémie myéloïde chronique. Quelle stratégie adopter ? »,
Hématologie, vol. 13, no 6, p. 457-64, 2007.
55. **Mahon F.-X., Belloc F., Lagarde V., Chollet C., Moreau-Gaudry F., et al.**
« MDR1 gene overexpression confers resistance to imatinib mesylate in leukemia cell line models »,
Blood, vol. 101, no 6, p. 2368-2373, mars 2003.
-

56. **White D. L., Saunders VA., Dang P., Engler J., Zannettino A., Cambareri A., et al.**
« OCT-1-mediated influx is a key determinant of the intracellular uptake of imatinib but not nilotinib (AMN107): reduced OCT-1 activity is the cause of low in vitro sensitivity to imatinib »,
Blood, vol. 108, no 2, p. 697-704, juill. 2006.
57. **Hochhaus A., Saussele S., Rosti G., Mahon F.-X., Janssen J. J. W. M., et al.**
« Chronic myeloid leukaemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up »,
Annals of Oncology, vol. 28, p. iv41-iv51, juill. 2017.
58. **C. Fava et al.,**
« Early BCR-ABL1 Reduction Is Predictive of Better Event-free Survival in Patients With Newly Diagnosed Chronic Myeloid Leukemia Treated With Any Tyrosine Kinase Inhibitor»,
Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia, vol. 16, p. S96-S100, août 2016.
59. **Lauseker M., Hanfstein B., Haferlach C., Schnittger S., Pffirmann M., et al.**
« Equivalence of BCR-ABL transcript levels with complete cytogenetic remission in patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase »,
J Cancer Res Clin Oncol, vol. 140, no 11, p. 1965-1969, nov. 2014.
60. **Arora R. et. Press R. D.**
« Measurement of BCR-ABL1 transcripts on the International Scale in the United States: current status and best practices »,
Leuk Lymphoma, vol. 58, no 1, p. 8-16, janv. 2017.
61. **Baccarani M., Deininger M.W., Rosti G., Hochhaus A., Soverini S., Jane F., et al.**
« European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013 »,
Blood, vol. 122, no 6, p. 872-884, août 2013.
62. **Hoffmann V. S., Baccarani M., Hasford J., Lindoerfer D., Burgstaller S., et al.**
« The EUTOS population-based registry: incidence and clinical characteristics of 2904 CML patients in 20 European Countries »,
Leukemia, vol. 29, no 6, p. 1336-1343, juin 2015.

63. **Gorre M., Sashidhar R., Annamaneni S., Digumarti R., Satti V.**
« Demographic and Clinical Characteristics of Chronic Myeloid Leukemia Patients: A Study on Confined Populations of Southern India »,
Indian Journal of Medical and Paediatric Oncology, vol. 40, p. 570-576, juill. 2019.
64. **Defossez G., Le Guyader-Peyrou S., Dantony E., Uhry Z., Grosclaude P.**
« Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine entre 1990 et 2018 »,
Disponible sur: <https://www.oncorif.fr/>
65. **Nasser A., Hussein A., Chamba C., Yonazi M., Mushi R., Schuh A., Luzzatto L.**
« Molecular response to imatinib in patients with chronic myeloid leukemia in Tanzania »,
Blood Advances, vol. 5, no 5, p. 1403-1411, mars 2021.
66. **Camara M., Qachouh M., Zoukal S., Lamchahab M., Cherkaoui M.**
« Profil épidémiologique, clinique, thérapeutique et évolutif des patients suivis pour Leucémie Myéloïde Chronique au service d'hématologie clinique et oncologie pédiatrique de Casablanca. »
Revue Algérienne d'Hématologie, 2019
67. **Hehlmann, R., Cortes, J. E., Zyczynski, T., Gambacorti-Passerini, C., et al**
« Tyrosine kinase inhibitor interruptions, discontinuations and switching in patients with chronic-phase chronic myeloid leukemia in routine clinical practice: SIMPLICITY »,
Am J Hematol, vol. 94, no 1, p. 46-54, janv. 2019.
68. **Malhotra H., Radich J., Garcia-Gonzalez P.**
« Meeting the needs of CML patients in resource-poor countries »,
Hematology Am Soc Hematol Educ Program, vol. 2019, no 1, p. 433-442, déc. 2019.
69. **Jabbour E. J., Siegartel L. R., Lin J., Lingohr-Smith M., Menges B., Makenbaeva D.**
« Economic value of regular monitoring of response to treatment among US patients with chronic myeloid leukemia based on an economic model », *Journal of Medical Economics*,
vol. 21, no 10, p. 1036-1040, oct. 2018.

70. **Sheng G., Chen S., Zhang R., Miao M., Wu D., Chuen S., et al.**
« The impact of medical insurance coverage and molecular monitoring frequency on outcomes in chronic myeloid leukemia: real-world evidence in China », *Journal of Medical Economics*, vol. 20, no 4, p. 382-387, avr. 2017.
71. **Perry A.M., Brunner A.M., Zou T., McGregor K.L., Amrein P.C., Hobbs G. S., et al.**
« Association Between Insurance Status at Diagnosis and Overall Survival in Chronic Myeloid Leukemia: A Population-Based Study », *Cancer*, vol. 123, no 13, p. 2561-2569, juill. 2017.
72. **Rohrbacher M. et Hasford J.**
« Epidemiology and Etiology of Chronic Myeloid Leukemia », *Neoplastic Diseases of the Blood*, P. H. Wiernik et al Éd. Cham: Springer International Publishing, 2018.
73. **Cortes J.**
« How to manage CML patients with comorbidities », *Blood*, vol. 136, no 22, p. 2507-2512, nov. 2020.
74. **Thompson P. A., Kantarjian H., Cortes J. E.**
« Diagnosis and Treatment of Chronic Myeloid Leukemia (CML) in 2015 », *Mayo Clin Proc*, vol. 90, no 10, p. 1440-1454, oct. 2015.
75. **O'Brien S. G., Guilhot F., Larson R., Gathmann I., Baccarani, M., et al.**
« Imatinib Compared with Interferon and Low-Dose Cytarabine for Newly Diagnosed Chronic-Phase Chronic Myeloid Leukemia », *N Engl J Med*, vol. 348, no 11, p. 994-1004, mars 2003.
76. **Chikkodi S. V., Malhotra P., Naseem S., Khadwal A., Prakash G., et al.**
« Factors Affecting Early Molecular Response in Chronic Myeloid Leukemia », *Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia*, vol. 15, p. S114-S119, juin 2015.
77. **Mouhdi G. El.**
« Les aspects cliniques et cytogénétiques de la leucémie myéloïde chronique », *Thèse, Faculté de médecine et de pharmacie Fès*, 2015.

- 78. Ségbéna A., Kueviakoe I.M.D., Agbetiafa K., Padaro E., Layibo Y., et al.**
« Chronic myeloid leukemia and imatinib: Experience at the Lome Campus teaching hospital (Togo) »,
Medecine et sante tropicales, vol. 22, nov. 2012.
- 79. M. NACHI.**
« Le transcrite de fusion BCR-ABL : intérêt de la quantification par la qRT-PCR dans le diagnostic et le suivi moléculaire de la maladie résiduelle chez les patients atteints de leucémie myéloïde chronique traités par imatinib mesylate »,
Thèse, Faculté de Médecine d'Oran, 2017.
- 80. Anonyme.**
« Leucémie Myéloïde Chronique »,
Disponible sur : <https://www.hematocell.fr/>
- 81. Lang A.-S., Mounier M., Roques M., Chretien M. L., Boulin M.**
« A retrospective study of the prescribing and outcomes of tyrosine kinase inhibitors in chronic myeloid leukaemia over a period of more than 10 years »,
Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics, vol. 40, no 4, p. 391-397, 2015.
- 82. Agharbi F.-Z.**
« La leucémie myéloïde chronique, avancées diagnostiques et thérapeutiques (à propos de 23 cas) »,
Thèse, Faculté de médecine Fès, 2008.
- 83. Smith A. G., Painter D., Howell DA., Evans P., Smith G., Patmore R., et al.**
« Determinants of survival in patients with chronic myeloid leukaemia treated in the new era of oral therapy: findings from a UK population-based patient cohort »,
BMJ Open, vol. 4, no 1, p. e004266, janv. 2014.
- 84. Şahin F., Saydam G., Cömert M., Uz B., Yavuz AS., Turan E., et al.**
« Turkish Chronic Myeloid Leukemia Study: Retrospective Sectional Analysis of CML Patients »,
Turk J Haematol, vol. 30, no 4, p. 351-358, déc. 2013.

85. **Dufresne S. D., Belloni D. R., Levy N. B., Tsongalis G. J.**
« Quantitative assessment of the BCR–ABL transcript using the Cepheid Xpert BCR–ABL Monitor assay »,
Arch Pathol Lab Med, vol. 131, no 6, p. 947-950, juin 2007.
86. **Jobbagy Z., van Atta R., Murphy K. M., Eshleman J. R., Gocke C. D.**
« Evaluation of the Cepheid GeneXpert BCR–ABL assay »,
J Mol Diagn, vol. 9, no 2, p. 220-227, avr. 2007.
87. **Zhang J., Wang Y., Wang J., Hu J., Chen S., Jin J.**
« Early BCR–ABL1 decline in imatinib–treated patients with chronic myeloid leukemia: results from a multicenter study of the Chinese CML alliance »,
Blood Cancer Journal, vol. 8, no 7, p. 61, juill. 2018.
88. **Hehlmann R.**
« Chronic Myeloid Leukemia in 2020 »,
Hemasphere, vol. 4, no 5, sept. 2020.
89. **Victor Baunin**
«La leucémie myéloïde chronique de l'enfant et de l'adolescent : réarrangements moléculaires BCR–ABL1 au diagnostic».
Disponible sur : <http://petille.univ-poitiers.fr/notice/view/33362>.
90. **Baccarani, M., Castagnetti, F., Gugliotta, G., Rosti G., Soverini S., et al.**
« The proportion of different BCR–ABL1 transcript types in chronic myeloid leukemia. An international overview »,
Leukemia, vol. 33, no 5, p. 1173-1183, mai 2019.
91. **Castagnetti F., Gugliotta G., Breccia M., Iurlo A., Levato L., Albano F., et al.**
« The BCR–ABL1 transcript type influences response and outcome in Philadelphia chromosome–positive chronic myeloid leukemia patients treated frontline with imatinib»,
American journal of hematology, vol. 92, no 8, août 2017.

92. **Hanfstein B., Lauseker M., Hehlmann R., Saussele S., Erben P., Dietz C., et al.**
« Distinct characteristics of e13a2 versus e14a2 BCR-ABL1 driven chronic myeloid leukemia under first-line therapy with imatinib »,
Haematologica, vol. 99, no 9, Art. no 9, sept. 2014.
93. **Arana-Trejo R.M., Ruíz Sánchez E., Ignacio-Ibarra G., Báez De La Fuente E., et al.**
« BCR/ABL p210, p190 and p230 fusion genes in 250 Mexican patients with chronic myeloid leukaemia (CML) »,
Clinical & Laboratory Haematology, vol. 24, no 3, p. 145-150, 2002.
94. **Bennour A., Ouahchi I., Achour B., Zaier M., Ben Youssef Y., Khelif A., et al.**
« Analysis of the clinico-hematological relevance of the breakpoint location within M-BCR in chronic myeloid leukemia »,
Med Oncol, vol. 30, no 1, p. 348, mars 2013.
95. **Nachi M., Guelaa D., Bensoltane B., Belmir I., Bekadja MA., Abaou O.**
« Recherche des différents transcrits de fusion BCR-ABL1 par RT-PCR Qualitative Multiplexe : Intérêts diagnostiques et de suivi chez les patients atteints de Leucémie Myéloïde Chronique »,
Revue Algérienne d'Hématologie, N° 13-14, Décembre 2017
96. **Zhang X.-S., Gale R. P., Huang X.-J., Jiang Q.**
« Is the Sokal or EUTOS long-term survival (ELTS) score a better predictor of responses and outcomes in persons with chronic myeloid leukemia receiving tyrosine-kinase inhibitors? »,
Leukemia, p. 1-10, août 2021.
97. **Geelen IGP., Sandin F., Thielen N., Janssen JJWM., Hoogendoorn M., et al.**
« Validation of the EUTOS long-term survival score in a recent independent cohort of "real world" CML patients »,
Leukemia, vol. 32, no 10, p. 2299-2303, oct. 2018.
98. **Sato E., Iriyama N., Tokuhira M., Takaku T., Ishikawa M., Nakazato T., et al.**
« The EUTOS long-term survival score predicts disease-specific mortality and molecular responses among patients with chronic myeloid leukemia in a practice-based cohort »,
Cancer Medicine, vol. 9, no 23, p. 8931-8939, 2020.

99. **Silué DA., Kouakou B., Nanho CD., Kamara I., Djoko S., Sowhe T., et al.**
« Caractéristiques préthérapeutiques et évolutives des patients atteints de la leucémie myéloïde chronique à Abidjan Côte d'Ivoire »,
Bulletin du Cancer, vol. 106, no 6, p. 550-559, juin 2019.
100. **Bahri D., Borgi W.El., Kefi S., Ben Lakhal F., Fekih Salem S., et al.**
« Monitoring of BCR-ABL transcript in LMC by CepheidXpert Monitor Assay™ »,
J.I. M. Sfax, N°35; Juin 2020 ; 38 - 44.
101. **Molica M., Canichella M., Alunni Fegatelli D., Colafigli G., Massaro F., et al.**
« The Eutos long-term survival score accurately predicts the risk of death in chronic myeloid leukaemia patients treated outside of clinical trials »,
Am J Hematol, vol. 92, no 12, p. E661-E664, déc. 2017.
102. **Hughes TP., Laneuville P., Rousselot P., Snyder DS., Rea D., Shah NP., et al.**
« Incidence, outcomes, and risk factors of pleural effusion in patients receiving dasatinib therapy for Philadelphia chromosome-positive leukemia »,
Haematologica, vol. 104, no 1, p. 93-101, janv. 2019.
103. **Hochhaus A., Saglio G., Hughes TP., Larson RA., Kim DW., Issaragrisil S., et al.**
« Long-term benefits and risks of frontline nilotinib vs imatinib for chronic myeloid leukemia in chronic phase: 5-year update of the randomized ENESTnd trial »,
Leukemia, vol. 30, no 5, p. 1044-1054, mai 2016.
104. **Michallet M. et Sobh M.**
« La Leucémie Myéloïde Chronique en 2017 : Modèle de la thérapie ciblée en Onco-Hématologie par les inhibiteurs de tyrosine kinase »,
Revue finale congrès maghrébin d'hématologie, 2017.
105. **Soverini S., Rosti G., Bacarani M., Martinelli G.**
« Molecular monitoring »,
Curr Hematol Malig Rep, vol. 9, no 1, p. 1-8, mars 2014.

106. **Alikian M., Gale R. P., Apperley J. F., Foroni L.**
« Molecular techniques for the personalised management of patients with chronic myeloid leukaemia »,
Biomolecular Detection and Quantification, vol. 11, p. 4-20, mars 2017.
107. **Yeung C. C. S., Egan D., Radich J. P.**
« Molecular monitoring of chronic myeloid leukemia: present and future »,
Expert Rev Mol Diagn, vol. 16, no 10, p. 1083-1091, oct. 2016.
108. **Caen O., Nizard P., Garrigou S., Perez-Toralla K., Zonta E., et al.**
« PCR digitale en micro-compartiments – II. Apport pour la détection quantitative d'ADN tumoral circulant »,
Med Sci (Paris), vol. 31, no 2, Art. no 2, févr. 2015.
109. **Soverini S., Hochhaus A., Nicolini FE., Gruber F., Lange T., Saglio G., et al.**
« BCR-ABL kinase domain mutation analysis in chronic myeloid leukemia patients treated with tyrosine kinase inhibitors: recommendations from an expert panel on behalf of European LeukemiaNet »,
Blood, vol. 118, no 5, p. 1208-1215, août 2011.
110. **Traulsen A., Pacheco J. M., Luzzatto L., Dingli D.**
« Somatic mutations and the hierarchy of hematopoiesis »,
Bioessays, vol. 32, no 11, p. 1003-1008, nov. 2010.
111. **Cortes JE., Saglio G., Kantarjian HM., Baccarani M., Mayer J., Boqué C., et al.**
« Final 5-Year Study Results of DASISION: The Dasatinib Versus Imatinib Study in Treatment-Naïve Chronic Myeloid Leukemia Patients Trial »,
J Clin Oncol, vol. 34, no 20, p. 2333-2340, juill. 2016.
112. **Saglio G., Kim DW., Issaragrisil S., le Coutre P., Etienne G., Lobo C., et al.**
« Nilotinib versus Imatinib for Newly Diagnosed Chronic Myeloid Leukemia »,
New England Journal of Medicine, vol. 362, no 24, p. 2251-2259.
113. **Mahmoud H. K., Nahas Y. El, Abdel Moaty M., Abdel Fattah R., et al.**
« Kinetics of BCR-ABL Transcripts in Imatinib Mesylate treated Chronic Phase CML (CPCML), A Predictor of Response and Progression Free Survival »,
Int J Biomed Sci, vol. 5, no 3, p. 223-228, sept. 2009.

114. **Castagnetti F., Gugliotta G., Breccia M., Stagno F., Iurlo A., Albano F., et al.**
«Long-term outcome of chronic myeloid leukemia patients treated frontline with imatinib»
Leukemia, vol. 29, no 9, p. 1823-1831, sept. 2015.
115. **Branford S., Rudzki Z., Harper A., Grigg A., Taylor K., Durrant S., Arthur C., et al.**
« Imatinib produces significantly superior molecular responses compared to interferon alfa plus cytarabine in patients with newly diagnosed chronic myeloid leukemia in chronic phase »,
Leukemia, vol. 17, no 12, p. 2401-2409, déc. 2003.
116. **Etienne G., Huguet F., Guerci-Bresler A., Nicolini F., Maloisel F., et al.**
« Impact of ELN recommendations in the management of first-line treated chronic myeloid leukaemia patients: A French cross-sectional study »,
British journal of haematology, vol. 174, avr. 2016.
117. **Marin D., Bazeos A., Mahon FX., Eliasson L., Milojkovic D., Bua M., et al.**
« Assessment of BCR-ABL1 Transcript Levels at 3 Months Is the Only Requirement for Predicting Outcome for Patients With Chronic Myeloid Leukemia Treated With Tyrosine Kinase Inhibitors »,
JCO, vol. 30, no 3, p. 232-238, janv. 2012.
118. **Branford S., Seymour JF., Grigg A., Arthur C., Rudzki Z., Lynch K., Hughes T.**
« BCR-ABL messenger RNA levels continue to decline in patients with chronic phase chronic myeloid leukemia treated with imatinib for more than 5 years and approximately half of all first-line treated patients have stable undetectable BCR-ABL using strict sensitivity criteria »,
Clin Cancer Res, vol. 13, no 23, p. 7080-7085, déc. 2007.
119. **Mahon F.-X. et Etienne G.**
« Deep Molecular Response in Chronic Myeloid Leukemia: The New Goal of Therapy? »,
Clinical Cancer Research, vol. 20, no 2, p. 310-22, 2014.

120. **Kaygusuz Atagunduz I., Toptas T., Deniz R., Kara O., Eser A., Sezgin A., et al.**
« Effects of Deeper Molecular Responses on Outcomes in Chronic Myeloid Leukemia Patients in Chronic Phase Treated With Imatinib Mesylate », *Clinical Lymphoma, Myeloma and Leukemia*, vol. 17, no 2, p. 120-125, févr. 2017.
121. **Tang M., Gonen M., Quintas-Cardama A., Cortes J., Kantarjian H., Field C., et al.**
« Dynamics of chronic myeloid leukemia response to long-term targeted therapy reveal treatment effects on leukemic stem cells », *Blood*, vol. 118, no 6, p. 1622-1631, août 2011.
122. **Alvarado Y., Kantarjian H., O'Brien S., Faderl S., Borthakur G., Burger J., et al.**
« Significance of Suboptimal Response to Imatinib, as Defined by the European LeukemiaNet, in the Long-Term Outcome of Patients With Early Chronic Myeloid Leukemia in Chronic Phase », *Cancer*, vol. 115, no 16, p. 3709-3718, août 2009.
123. **Yu L., Wang H., Milijkovic D., Huang X., Jiang Q.**
« Achieving optimal response at 12 months is associated with a better health-related quality of life in patients with chronic myeloid leukemia: a prospective, longitudinal, single center study », *BMC Cancer*, vol. 18, p. 782, août 2018.
124. **Kantarjian HM., Giles F., Gattermann N., Bhalla K., Alimena G., Palandri F., et al.**
« Nilotinib (formerly AMN107), a highly selective BCR-ABL tyrosine kinase inhibitor, is effective in patients with Philadelphia chromosome-positive chronic myelogenous leukemia in chronic phase following imatinib resistance and intolerance », *Blood*, vol. 110, no 10, p. 3540-3546, nov. 2007.
125. **Yuan T., Lai YY., Qin YZ., Shi HX., Huang XJ., Hou Y., Jiang Q.**
« Analysis of the efficacy and influencing factors of nilotinib or dasatinib as second- or third-line treatment in patients with chronic myeloid leukemia in the chronic phase and accelerated phase », *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi*, vol. 41, no 2, p. 93-99, févr. 2020.

126. **Branford S., Yeung DT., Ross DM., Prime JA., Field CR., Altamura HK., et al.**
« Early molecular response and female sex strongly predict stable undetectable BCR-ABL1, the criteria for imatinib discontinuation in patients with CML », *Blood*, vol. 121, no 19, p. 3818-3824, mai 2013.
127. **Lin HX., Sjaarda J., Dyck J., Stringer R., Hillis C., Harvey M., Carter R., et al.**
« Gender and BCR-ABL transcript type are correlated with molecular response to imatinib treatment in patients with chronic myeloid leukemia », *Eur J Haematol*, vol. 96, no 4, p. 360-366, avr. 2016.
128. **Marin D., Bazeos A., Mahon FX., Eliasson L., Milojkovic D., Bua M., et al.**
« Adherence is the critical factor for achieving molecular responses in patients with chronic myeloid leukemia who achieve complete cytogenetic responses on imatinib », *J Clin Oncol*, vol. 28, no 14, p. 2381-2388, mai 2010.
129. **Noens L., van Lierde MA., De Bock R., Verhoef G., Zachée P., et al.**
« Prevalence, determinants, and outcomes of nonadherence to imatinib therapy in patients with chronic myeloid leukemia: the ADAGIO study », *Blood*, vol. 113, no 22, p. 5401-5411, mai 2009.
130. **Radivoyevitch T., Jankovic G. M., Tiu R. V., Sauntharajah Y., et al.**
« Sex differences in the incidence of chronic myeloid leukemia », *Radiat Environ Biophys*, vol. 53, no 1, p. 55-63, mars 2014.
131. **Guilhot F., Hughes TP., Cortes J., Druker BJ., Baccarani M., Gathmann I., et al.**
« Plasma exposure of imatinib and its correlation with clinical response in the Tyrosine Kinase Inhibitor Optimization and Selectivity Trial », *Haematologica*, vol. 97, no 5, p. 731-738, mai 2012.
132. **Larson RA., Druker BJ., Guilhot F., O'Brien SG., Riviere GJ., Krahnke T., et al.**
« Imatinib pharmacokinetics and its correlation with response and safety in chronic-phase chronic myeloid leukemia: a subanalysis of the IRIS study », *Blood*, vol. 111, no 8, p. 4022-4028, avr. 2008.

- 133. Bělohávková P., Voglová J., Radocha J., Žák P.**
« Impact of age on the clinical response of patients with CML treated with imatinib », *Vnitr Lek, vol. 61, no 9, p. 785-786, 788-791, sept. 2015.*
- 134. Deininger M. W.**
« Molecular monitoring in CML and the prospects for treatment-free remissions », *Hematology Am Soc Hematol Educ Program, vol. 2015, p. 257-263, 2015.*
- 135. Hughes TP., Hochhaus A., Branford S., Müller MC., Kaeda JS., Feroni L., et al.**
« Long-term prognostic significance of early molecular response to imatinib in newly diagnosed chronic myeloid leukemia: an analysis from the International Randomized Study of Interferon and STI571 (IRIS) », *Blood, vol. 116, no 19, p. 3758-3765, nov. 2010.*
- 136. Hughes TP., Saglio G., Kantarjian HM., Guilhot F., Niederwieser D., Rosti G., et al.**
« Early molecular response predicts outcomes in patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase treated with frontline nilotinib or imatinib », *Blood, vol. 123, no 9, p. 1353-1360, févr. 2014.*
- 137. Hanfstein B., Müller MC., Hehlmann R., Erben P., Lauseker M., Fabarius A., et al.**
« Early molecular and cytogenetic response is predictive for long-term progression-free and overall survival in chronic myeloid leukemia (CML) », *Leukemia, vol. 26, no 9, p. 2096-2102, sept. 2012.*
- 138. Hanfstein B., Lauseker M., Hehlmann R., Saussele S., Erben P., Dietz C., et al.**
« Velocity of early BCR-ABL transcript elimination as an optimized predictor of outcome in chronic myeloid leukemia (CML) patients in chronic phase on treatment with imatinib », *Leukemia, vol. 28, no 10, Art. no 10, oct. 2014.*
- 139. Wang R., Cong Y., Li C., Zhang C., Lin H.**
« Predictive value of early molecular response for deep molecular response in chronic phase of chronic myeloid leukemia », *Medicine, vol. 98, no 15, p. e15222, avr. 2019.*

140. **Breccia M., Molica M., Colafigli G., Massaro F., Alimena G.**
« Early molecular response in chronic myeloid leukemia and halving time: Latest evidences »,
Leukemia Research, vol. 48, p. 20-25, sept. 2016.
141. **Iriyama N., Fujisawa S., Yoshida C., Wakita H., Chiba S., Okamoto S., et al.**
« Shorter halving time of BCR-ABL1 transcripts is a novel predictor for achievement of molecular responses in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia treated with dasatinib: Results of the D-first study of Kanto CML study group: Significance of BCR-ABL1 Decline in Prognosis of CML-CP »,
Am. J. Hematol., vol. 90, no 4, p. 282-287, avr. 2015.
142. **Branford S., Yeung DT., Parker WT., Roberts ND., Purins L., Braley JA., et al.**
« Prognosis for patients with CML and >10% BCR-ABL1 after 3 months of imatinib depends on the rate of BCR-ABL1 decline »,
Blood, vol. 124, no 4, p. 511-518, juill. 2014.
143. **Jain P., Kantarjian H., Patel K. P., Gonzalez G. N., Luthra R., et al.**
« Impact of BCR-ABL transcript type on outcome in patients with chronic-phase CML treated with tyrosine kinase inhibitors »,
Blood, vol. 127, no 10, p. 1269-1275, mars 2016.
144. **Molica M., Abruzzese E., Breccia M.**
« Prognostic Significance of Transcript-Type BCR - ABL1 in Chronic Myeloid Leukemia »,
Mediterr J Hematol Infect Dis, vol. 12, no 1, p. e2020062, sept. 2020.
145. **Pagnano KBB., Miranda EC., Delamain MT., Duarte GO., de Paula EV., et al.**
« Influence of BCR-ABL Transcript Type on Outcome in Patients With Chronic-Phase Chronic Myeloid Leukemia Treated With Imatinib »,
Clin Lymphoma Myeloma Leuk, vol. 17, no 11, p. 728-733, nov. 2017.
146. **Lucas CM., Harris RJ., Giannoudis A., Davies A., Knight K., Watmough SJ., et al.**
« Chronic myeloid leukemia patients with the e13a2 BCR-ABL fusion transcript have inferior responses to imatinib compared to patients with the e14a2 transcript »,
Haematologica, vol. 94, no 10, p. 1362-1367, oct. 2009.

147. Hai A., Kizilbash N. A., Zaidi S. H. H., Alruwaili J., Shahzad K.
« Differences in structural elements of Bcr–Abl oncoprotein isoforms in Chronic Myelogenous Leukemia », *Bioinformation*, vol. 10, no 3, p. 108-114, mars 2014.
148. Hehlmann R., Lauseker M., Sauße S., Pfirrmann M., Krause S., Kolb H. J., et al.
« Assessment of imatinib as first–line treatment of chronic myeloid leukemia: 10–year survival results of the randomized CML study IV and impact of non–CML determinants », *Leukemia*, vol. 31, no 11, p. 2398-2406, nov. 2017.
149. Kim D. D. H., Hamad N., Lee H. G., Kamel–Reid S., Lipton J. H.
« BCR/ABL level at 6 months identifies good risk CML subgroup after failing early molecular response at 3 months following imatinib therapy for CML in chronic phase », *Am J Hematol*, vol. 89, no 6, p. 626-632, juin 2014.
150. Pfirrmann M., Clark RE., Prejzner W., Lauseker M., Baccarani M., Saussele S., et al.
« The EUTOS long–term survival (ELTS) score is superior to the Sokal score for predicting survival in chronic myeloid leukemia », *Leukemia*, vol. 34, no 8, p. 2138-2149, août 2020.
151. Mathisen M. S., Kantarjian H. M., Cortes J., Jabbour E.
« Mutant BCR–ABL clones in chronic myeloid leukemia », *Haematologica*, vol. 96, no 3, p. 347-349, mars 2011.
152. Liu J., Yang H., Xu X., Yi S., Meng L.
« Mutations in the BCR-ABL1 kinase domain in patients with chronic myeloid leukaemia treated with TKIs or at diagnosis », *Oncology Letters*, vol. 20, no 2, p. 1071-1076, août 2020.
153. Nicolini F. E., Ibrahim A. R., Soverini S., Martinelli G., Müller M. C., et al.
« The BCR–ABL T315I mutation compromises survival in chronic phase chronic myelogenous leukemia patients resistant to tyrosine kinase inhibitors, in a matched pair analysis », *Haematologica*, vol. 98, no 10, p. 1510-1516, oct. 2013.

154. Santos FP., Kantarjian H., Fava C., O'Brien S., Garcia-Manero G., Ravandi F., et al.
« Clinical impact of dose reductions and interruptions of second-generation tyrosine
kinase inhibitors in patients with chronic myeloid leukaemia »,
Br J Haematol, vol. 150, no 3, p. 303-312, août 2010.

قسم الطبيب

أقسم بالله العظيم

أن أراقب الله في مهنتي.

وأن أصون حياة الإنسان في كافة أطوارها في كل الظروف

والأحوال باذلة وسعي في إنقاذها من الهلاك والمرض

والألم والقلق.

وأن أحفظ للناس كرامتهم، وأستر عورتهم، وأكتم سرهم.

وأن أكون على الدوام من وسائل رحمة الله، باذلة رعايتي الطبية للقريب

والبعيد، للصالح والطالح، والصديق والعدو.

وأن أثابر على طلب العلم، وأسخره لنفع الإنسان لا لأذاه.

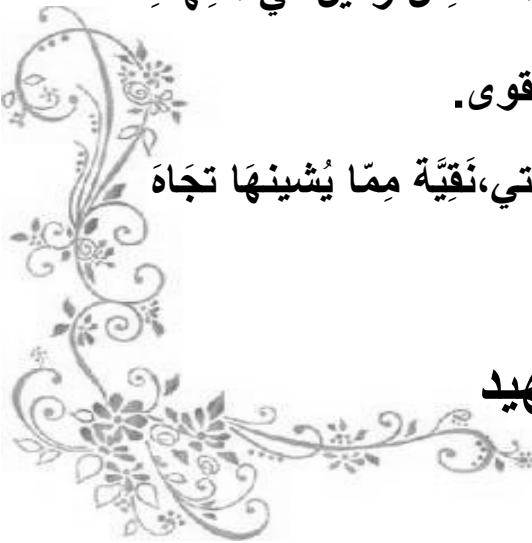
وأن أوقر من علمني، وأعلم من يصغرني، وأكون أختاً لكل زميل في المهنة

الطبية متعاونين على البر والتقوى.

وأن تكون حياتي مصداق إيماني في سرّي وعلانيتي، نقيّة مما يُشِينها تجاه

الله ورسوله والمؤمنين.

والله على ما أقول شهيد



أطروحة رقم 002

سنة 2022

دور تقنيات البيولوجيا الجزيئية في تشخيص ورصد ابيضاض الدم النقوي المزمن

الأطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم 2022/01/17

من طرف

الآنسة سارة رضاد

المزداة في 02 ماي 1996 بإنزكان

لنيل شهادة الدكتوراه في الطب

الكلمات الأساسية :

ابيضاض الدم النقوي المزمن - BCR-ABL

البيولوجيا الجزيئية - GeneXpert

اللجنة

الرئيس

المشرف

الحكم

السيدة ص. شلاق

أستاذة في علم الكيمياء الحيوية

السيد م. شكور

أستاذ في طب أمراض الدم

السيد م. أيت عمرو

أستاذ في طب أمراض الدم

